

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE
ESENCIAL DE HOJAS DE *Chenopodium ambrosioides* (L.)
(PAICO) SOBRE *Staphylococcus aureus***

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORA

Bach. LEZAMA PAREDES, MIRELY JOHANNY

ASESOR

Mgtr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

TRUJILLO – PERÚ

2019

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Docente Tutor Investigador

AGRADECIMIENTO

A Dios, quien puso un sueño en mi corazón y me dio las fuerzas para lograrlo, me ha dirigido por el camino correcto, el que en todo momento está conmigo y siempre me levanta de mis tropiezos, ayudándome a aprender de mis errores para no volverlos a cometer. Dios es quién guía el destino de mi vida.

A mis padres y hermano por su apoyo incondicional, quienes me dieron las fuerzas necesarias para poder lograr mi meta profesional.

A la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote quién me ha permitido realizar mis estudios para lograr mi meta trazada.

DEDICATORIA

A mis padres Luis y Moire quienes me guiaron, me incentivaron a no darme por vencida ante cualquier circunstancia de la vida que se me presente, ellos fueron mi fuerza que necesitaba para lograr mi superación.

A mi hermano Joao quien me motiva constantemente, me da ánimos para superarme y luchar siempre para cumplir mis metas y por los consejos en el día a día.

A mis maestros que me transmitieron sus conocimientos en el transcurso de mi carrera universitaria.

RESUMEN

Esta investigación fue de tipo experimental, transversal, de nivel explicativo y enfoque cuantitativo, se realizó con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) sobre *Staphylococcus aureus*. Se trabajó con 20 placas divididas en 4 grupos las cuales contenían el cultivo de la cepa, se colocó 4 discos por cada placa y sobre estos 25 µl del aceite esencial a las concentraciones de 25% y 75%, grupo control positivo (tetraciclina 30ug/disco) y grupo control negativo DMSO al 10%. El efecto antibacteriano se evaluó mediante el método de Kirby-Bauer. Los diámetros de los halos de inhibición para las concentraciones de 25%, 75%, control positivo y control negativo fue 19.6 ± 1.79 mm; 25.2 ± 1.94 mm; 28.9 ± 1.95 mm; y 6 mm respectivamente, difiriendo significativamente entre ellos a través de la prueba ANOVA. Al comparar a través de la prueba T de Student se observó que la concentración al 75% tuvo un efecto antibacteriano significativamente mayor sobre *S. aureus* en comparación con el 25% ($P < 0,05$), en tanto que el efecto antibacteriano a ambas concentraciones fue menor en comparación a tetraciclina ($P < 0,05$). Se concluye que el aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) presenta efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: Aceite esencial, *Chenopodium ambrosioides*, efecto antibacteriano, halos de inhibición, *Staphylococcus aureus*,

ABSTRACT

This research was of an experimental, transversal, explanatory level and quantitative approach, was conducted with the aim of evaluating the in vitro antibacterial effect of the essential oil of leaves of *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) on *Staphylococcus aureus*. We worked with 20 plates divided into 4 groups which contained the culture of the strain, placed 4 discs per plate and on these 25 μ l of the essential oil at concentrations of 25% and 75%, positive control group (tetracycline 30ug / disc) and 10% DMSO negative control group. The antibacterial effect was evaluated by the Kirby-Bauer method. The diameters of the inhibition halos for the concentrations of 25%, 75%, positive control and negative control was 19.6 ± 1.79 mm; 25.2 ± 1.94 mm; 28.9 ± 1.95 mm; and 6 mm respectively, differing significantly from each other through the ANOVA test. When comparing through the Student's T test, it was observed that the 75% concentration had a significantly higher antibacterial effect on *S. aureus* compared to 25% ($P < 0.05$), while the antibacterial effect on both concentrations were lower compared to tetracycline ($P < 0.05$). It is concluded that the essential oil of leaves of *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) presents antibacterial effect in vitro on *Staphylococcus aureus*.

Key words: Essential oil, *Chenopodium ambrosioides*, antibacterial effect, halos of inhibition, *Staphylococcus aureus*.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	8
2.1. Antecedentes:	8
2.2. Bases teóricas	11
III. HIPÓTESIS	22
IV. METODOLOGÍA	23
4.1. Diseño de la investigación	23
4.2. Población y muestra	24
4.3. Definición y operacionalización de las variables.....	27
4.4. Técnicas e instrumentos	28
4.5. Plan de análisis.....	31
4.6. Matriz de consistencia.....	32
4.7. Principios éticos	33
V. RESULTADOS	34
5.1. Resultados	34
5.2. Análisis de resultados.....	36
VI. CONCLUSIONES	39
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS	40
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXOS	48

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Efecto antibacteriano in vitro a las concentraciones de 25% y 75% del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico), control negativo y control positivo sobre *Staphylococcus aureus*, expresados en mm de diámetro de inhibición.....34

Tabla 2: Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) a las concentraciones de 25% y 75% con el control positivo sobre *Staphylococcus aureus*.....35

I. INTRODUCCIÓN

El empleo de las plantas en distintas culturas ha determinado y conformado principios de nuestra identidad. Nos curan y lo más importante, es que contribuye con el oxígeno para la conservación de nuestra especie y la vida en el mundo. Hay pruebas empíricas y científicas que respaldan los beneficios de la variedad de plantas medicinales en diversas enfermedades crónicas o leves. La medicación con plantas terapéuticas, son la forma más común de la medicina tradicional, predominando a lo largo del tiempo (OMS, 2008) ⁽¹⁾.

Si hablamos de las plantas con uso medicinal, percibimos que tiene una riqueza muy extensa y abarca más de 4 400 especies utilizadas por las poblaciones rurales, de las cuales la mayoría se presenta en la región andina. Se conoce que el vínculo entre medio ambiente y salud es un asunto primordial, ya que implica la calidad de vida del ser humano como de la planta. Por tal motivo, en estos últimos años ha acontecido una pérdida significativa del conocimiento tradicional sobre la utilización de estas plantas y asimismo, su disponibilidad se ha visto disminuida por la degradación de estas mismas. Exponiéndose la salud y calidad de vida del hombre ⁽²⁾.

Los productos de naturaleza vegetal es materia muy empleada por la sociedad con finalidad de tratamientos, realizando una explotación para crear nuevos productos tentadores y eficientes para su uso, estos métodos sin embargo se mantienen en la noción real y en lo experimental de los pueblos. La medicina tradicional se realiza notablemente por comunidades de sectores rurales ⁽³⁾.

Las plantas medicinales poseen múltiples aplicaciones terapéuticas en la medicina tradicional. La piel representa casi 1/6 del peso corporal, realizando diversas funciones,

como la producción de vitamina D, defensa frente a los ataques externos, impermeabilización, absorción de radiaciones ultravioleta, termorregulación, protección contra los microbios patógenos, la piel actúa en defensa inmunológica del microorganismo, localización de estímulos sensoriales, sostiene el balance hídrico del organismo ⁽⁴⁾.

El aceite esencial (AE) es un componente aromático de base lipídica que se halla en innumerables plantas, el cual se localiza en las diferentes partes de la planta como en hojas, raíces, frutos, flores y tallos. El AE es una sustancia variada de ésteres, terpenos, fenoles, ácidos, lactonas, sesquiterpenos, que se obtiene por métodos de extracción físicos o químicos, tales como centrifugación, destilación, entre otros. Los aceites esenciales realizan una función principal sobre la defensa de las plantas, actuando como agentes antifúngicos, antibacterianos, insecticidas, antivirales ⁽⁵⁾.

El *Staphylococcus aureus* ocasiona infecciones graves, al principio se enfocaron asociadas a enfermedades intrahospitalarias, pero se siguen produciendo desde el periodo de los 90, cada vez más casos en todo el planeta de afección invasiva por este microorganismo, y estos casos son obtenidos en la comunidad, incrementando las alarmas a nivel mundial ⁽⁶⁾.

El individuo es portador de este microorganismo, un 30% es portadora permanente a nivel de la piel y el tracto digestivo, y un 20-50% en cavidad nasal. La afección se desarrolla en el momento que el *Staphylococcus aureus* invade los mecanismos de defensa del hospedador llegando a los tejidos más profundos, estas enfermedades pueden ser desde leves en la dermis como forunculosis y foliculitis, inclusive infecciones graves invasivas tales como neumonía necrosante, endocarditis, osteomielitis y bacteremias ⁽⁶⁾.

El Perú goza de una gran diversidad de plantas medicinales con investigación etnomedicinal para la cura de enfermedades. Como es el caso de *Chenopodium Ambrosioides* L, conocido como paico, es una planta correspondiente a la familia *Chenopodiaceae* ⁽⁷⁾.

El *Chenopodium ambrosioides* (paico) es una planta medicinal muy aromática, su hábitat es en las diferentes regiones del Perú, inclusive a 4 000 msnm, crece de forma rústica, en las tierras húmedas, en los campos, jardines, cementeras de alfalfa, alrededor de las acequias, en los bordes de las chacras. El *Chenopodium ambrosioides* (Paico) es cultivado con sencillez en ambientes templados, subtropicales, tropicales, y en terrenos con bastante materia orgánica. El paico es reconocido por el aceite de quenopodio que se extrae después de realizar destilaciones, las partes más empleadas son raíz, hojas, frutos y tallos que poseen un aroma agradable ⁽⁸⁾.

En los componentes que se extrae de las diferentes partes del *Chenopodium ambrosioides* (paico) en sus principios activos tiene 1.5 % de quenopodio, 64.5% de ascaridol. El ascaridol es el componente responsable de la esencia de la planta, además de sus propiedades parasiticidas y también de su efecto tóxico en dosis inadecuadas ⁽⁸⁾.

Se utiliza como antihelmíntica (debido al ascaridol), contra dolores de estómago, insecticida, antipirética, tónica diurética, antitusígena, antiséptico, antidiabética, astringente. En la región andina, sus hojas son utilizadas como aderezo y en la preparación de “caldo verde”. Está contraindicado en lactantes y niños menores de tres años, mujeres embarazadas, pacientes débiles con enfermedades hepáticas ⁽⁷⁾.

Es evidente entonces que las infecciones nosocomiales (IN) o intrahospitalarias (IIH) son una de las preocupaciones más primordiales en la salud con mayor consecuencia social y económica, por lo que se necesita saber el impacto que posee en el paciente y la epidemiología. Asimismo, es un enorme reto para los centros hospitalarios y personal sanitario encargado de su vigilancia en las áreas en el que pueden presentarse, son de interés clínico y epidemiológico porque se presentan numerosas tasas de morbimortalidad, también de tener gran aumento en los días de hospitalización. Las IN son aquellas que se manifiesta durante la estadía hospitalaria. Estas IN en algunos casos son causa de ingreso en la unidad de cuidados intensivos (UCI) y en ocasiones son resultado de la estancia en éstas ⁽⁹⁾.

En la actualidad se ha evidenciado un importante incremento de la resistencia a diversos antibióticos, siendo el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina beneficiado primordialmente por el uso inadecuado de antibióticos. Provocando la propagación de cepas de *Staphylococcus aureus* en los centros de salud de todo el mundo, lo que implica uno de los mayores desafíos terapéuticos en los últimos años para la medicina. *Staphylococcus aureus* es un microorganismo que se aísla con gran constancia en las IIH y comunitarias, asimismo es el género nosocomial más virulento, causante de una gran diversidad de infecciones en personas y animales, tal como meningitis, endocarditis, bacteriemias, septicemias, neumonías, forunculitis o foliculitis ⁽⁹⁾.

A partir del descubrimiento de la penicilina, *Staphylococcus aureus* logró prontamente resistencia a este antibiótico debido a la elaboración de betalactamasas, por tal motivo se inventaron nuevas penicilinas (semisintéticas), predominando la meticilina a la cual

Staphylococcus aureus con el pasar del tiempo igualmente desarrolló resistencia. Los primeros aislamientos de este microorganismo resistente a meticilina se manifestaron en la década de los 60, asociados a IN. En la actualidad se ha reflejado un aumento de infecciones originadas por esta bacteria y adquiridas en la sociedad en pacientes con diferentes manifestaciones clínicas primordialmente en piel y tejidos blandos, con riesgo sistémico, durabilidad en la infección, gran patogenicidad e incrementada morbimortalidad ⁽¹⁰⁾.

Después de las consideraciones anteriores se plantea el siguiente enunciado ¿El aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) tendrá efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*?

La presente investigación se justifica, en que el empleo de medicamentos sintéticos y la resistencia antimicrobiana que muestran determinados agentes patógenos a éstos se ha convertido en un gran problema de salud, que surge como consecuencia de cambios en su genoma y también se da la resistencia a un antibiótico por su uso inadecuado, esto está incitando que la medicina herbaria tenga más importancia. Dentro de la alternativa de la medicina herbaria se encuentran los AE, tal como se evidencia en las investigaciones que los AE, tienen actividad antibacteriana, antitóxica, antiviral, antifúngica e insecticida; actualmente se sigue investigando acerca de las plantas medicinales y sus principales principios activos; los cuales serían una alternativa para el tratamiento y la prevención de las enfermedades que perjudican al ser humano ⁽¹¹⁾.

En estas investigaciones que se realizan para resolver las enfermedades infecciosas de la manera más natural, se basa en el empleo terapéutico de los productos herbarios como

sustitutas de los medicamentos, en las cuales ha percibido importancia la utilización de las plantas aromáticas y en particular los AE, que hoy en día se están empleando en las terapias designadas a los tratamientos o a afecciones, además su accesibilidad, su bajo costo y por los escasos índices de toxicidad en comparación con los medicamentos sintéticos convierten a la medicina herbaria en la alternativa principal para la atención primaria de la salud ⁽¹²⁾.

La preferencia en la actualidad de regresar a lo natural para tener una vida más saludable, impulsa a los científicos de la tecnología farmacéutica a desarrollar e investigar formulaciones innovadoras que permitan la utilización de productos de origen vegetal para que puedan ser una alternativa complementaria o efectiva en el tratamiento de infecciones bacterianas causadas por microorganismos patógenos ⁽¹³⁾.

Los microorganismos muestran resistencia a antibióticos comerciales por lo tanto se sugiere demostrar el efecto bactericida del AE de las plantas medicinales en la solución a la resistencia bacteriana a los medicamentos ⁽¹¹⁾.

Por lo antes expuesto esta investigación se presenta como una nueva alternativa para solucionar los múltiples problemas en el tratamiento de las afecciones provocadas por agentes patógenos bacterianos, y así contribuir al uso del producto herbario como agente antibacteriano, tal como el *Chenopodium ambrosioides* (paico) y saber si su AE es útil para enfrentar a los *Staphylococcus aureus* reduciendo el costo beneficio de los tratamientos, ser accesible a la comunidad de bajos recursos económicos, de esta manera poder contribuir a futuras investigaciones que se realicen con los principios activos de esta planta medicinal.

Objetivo General:

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) sobre *Staphylococcus aureus*.

Objetivos Específicos:

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro a las concentraciones de 25% y 75% del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico), control negativo y control positivo sobre *Staphylococcus aureus*.
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) a las concentraciones de 25% y 75% con el control positivo sobre *Staphylococcus aureus*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes:

Sánchez S, Curitima E, en el año (2015) en Iquitos, en su investigación se plantearon como objetivo determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (paico), por el método de macrodilución. Ellos reportan como resultados que para la concentración mínima inhibitoria del extracto hidroalcohólico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* fue 8 Mg/ml para *Escherichia coli* y 4 Mg/ml para *Staphylococcus aureus*, llegando a la conclusión que consideran como inactivo y poco activo con respecto a estas bacterias ⁽¹⁴⁾.

Rojas N, Del Castillo C, en el año (2016) en Iquitos, en su estudio se plantearon como objetivo determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* (paico), frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, mediante los métodos de difusión en agar y macrodilución. Los resultados que ellos reportan obtenidos mediante el método de difusión en agar a concentraciones de 12mg y 6mg; no evidenciaron actividad antibacteriana en los extractos acuoso y etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* frente a dichas cepas bacterianas ⁽¹⁵⁾.

De los planteamientos anteriores por el método de macrodilución demostró concentración mínima inhibitoria (CMI) tanto para el extracto acuoso y etanólico en 32mg/ml para *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, una CMI de 8mg/ml para *Staphylococcus aureus* con el extracto etanólico, mientras que para Concentración Mínima Bactericida no

se obtuvieron evidencia alguna. Llegando a la conclusión que a través de estos resultados mostraron ser inactivo y poco activo de acción antibacteriana de los extractos contra los microorganismos empleados en el estudio ⁽¹⁵⁾.

Aquino E, en el año (2017) en Puno, en su estudio buscó determinar la actividad antimicrobiana de cuatro dosis del aceite esencial de las plantas paico (*Chenopodium ambrosioides*), ajeno (*Artemisia absinthium*), Ortiga (*Caiophora cirsiifolia*) en el crecimiento in vitro de las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. y *Shigella* sp. La metodología utilizada de los aceites esenciales de las plantas a concentraciones de 5µl, 10µl, 20µl y 1ml, fue el método de difusión en agar. Obteniendo como resultados de los aceites esenciales de las plantas, *Chenopodium ambrosioides* L. presento mayor actividad sobre *Staphylococcus aureus* a 20µl con un porcentaje de inhibición diferente del control positivo que presento 16mm donde (F = 28.96; GL = 4; P = 0.0001) se determinó que es alta mente significativo ⁽¹¹⁾.

Con referencia a lo anterior concluyó que los aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides* L., presento mejor actividad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* con 13.6mm siendo diferente a comparación del antibiótico control (16 mm) con respecto al porcentaje de acción inhibitoria para la concentración de 20µl donde F=28.96; GL=4; P=0.0001 ⁽¹¹⁾.

Chambi D, Pacheco K, en el año (2017) en Arequipa, en su investigación se plantearon como objetivo principal la evaluación del efecto antimicrobiano in vitro del extracto y del aceite esencial de las hojas de *Chenopodium Ambrosioides* L. “Paico” sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Cándida albicans*. La metodología que aplicaron para la obtención del extracto etéreo se utilizó como método la extracción con Soxhlet; Por su parte la obtención del aceite esencial de *Chenopodium Ambrosioides* L. “Paico” se realizó por el método de destilación por arrastre de vapor de agua ⁽¹⁶⁾.

De los anteriores planteamientos obtuvieron como resultados finales de la CMI y CBM para el extracto etéreo de *Chenopodium ambrosioides* L. “Paico” fue de 150 mg/mL sobre *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* y de 75mg/mL para *Cándida albicans*. Los valores para el aceite esencial fueron de 25 μ L/mL para *Staphylococcus aureus*, 20 μ L/mL para *Staphylococcus epidermidis*, 35 μ L/mL para *Escherichia coli* y 30 μ L/mL para *Cándida albicans* ⁽¹⁶⁾ llegando a la conclusión que en el caso de las bacterias Gram positivas como *S.aureus* y *S. epidermidis*, el aceite esencial si presento efecto antimicrobiano ⁽¹⁶⁾.

2.2. Bases teóricas

Fitoterapia

Rama de la ciencia que estudia el tratamiento complementario que emplea al producto vegetal o sus partes en que la experiencia de la medicina natural se transforma en fundamento científico ⁽¹⁷⁾.

Plantas medicinales

Plantas que tienen en uno o más de sus órganos principios activos, que, al ser utilizados en una dosificación adecuada, originan una acción farmacológica en las afecciones de la humanidad. Se promedia que de las 260.000 variedades de plantas que se conocen en el presente el 10 % se estima como medicinal, es decir, están reunidas en tratados médicos de fitoterapia, actuales y antiguos por tener algún uso ⁽¹⁾.

Droga vegetal

Parte de los productos de origen vegetal con propiedades medicinales de los cuales se extraen los principios activos para ser utilizados como medicación para las enfermedades ⁽¹⁸⁾.

Principio activo

Principal componente de las plantas medicinales químicamente puro responsable de la actividad farmacológica que posee una droga, para ser empleados en la fabricación de diversos medicamentos ⁽¹⁸⁾.

Extracto vegetal

Componentes adquiridos de la obtención de principios biológicamente activos localizados en los tejidos de las plantas, por el empleo de un solvente (solvente selectivo, agua, alcohol, mezcla de estos) y un procedimiento de extracción apropiado. El extracto suele tener una importante tolerancia, actividad y estabilidad, careciendo de efectos adversos o de producción de residuos ⁽¹⁹⁾.

Aceite esencial

Los AE son una combinación de compuestos volátiles de base lipídica, olorosos que se localizan en las diversas partes de la planta como son frutos, raíces, flores, hojas, tallos. Los AE son elementos heterogéneos de ácidos, lactonas, terpenos, fenoles, sesquiterpenos, ésteres; extraídos por procedimientos físicos o químicos tales como centrifugación, destilación, entre otros. Los AE realizan una función principal en las plantas, actúan como agentes antifúngicos, antibacterianos, insecticidas, antivirales ⁽⁵⁾.

Chenopodium ambrosioides

El *Chenopodium abrosioides* es una planta anual perenne y aromática, de un tamaño de 40 cm de altura, pero puede llegar a medir 1 m; tiene hojas pecioladas oblongo lanceoladas, su inflorescencia es verdosa ubicadas en un racimo piramidal. Su composición química de su AE está compuesta por ascaridol el cual es el elemento que le da el olor característico a la planta, asimismo posee felandreno, α y β -pineno, mirceno, p-

cimeno, aritasona, α -terpineno, α -terpineol, safrole, alcanfor, dimetilsulfóxido, limoneno
(11).

Hábitat

Crece espontáneamente en las cercanías de chacras, potreros, terrenos de cultivo, bordes de los jardines, parques, acequias, orillas de caminos, cementeras de alfalfa. El género *Chenopodium* consta de unas 250 variedades extensa distribución en todo el planeta ⁽¹⁶⁾.

Se desarrolla de manera silvestre y cultivada en las tres regiones naturales del Perú, hasta los 4 000 msnm, es sembrado con gran facilidad en climas, templados, tropicales, subtropicales y en suelos de distintos tipos con bastante materia orgánica. Se extiende por semillas, esquejes ⁽⁸⁾.

Descripción botánica

Planta herbácea perenne y anual, erguida o ascendente, con un fuerte olor, de 40 cm que puede llegar a medir hasta 1 m. Tiene el tallo simple o ramificado. Hojas pecioladas, oblongo lanceoladas, de 3 a 10 cm de largo por 1 a 5 cm de ancho. Inflorescencia en forma de espigas con numerosas flores ubicadas en panículo piramidal, con o sin hojas interpuestas. Semilla vertical u horizontal, de color negro brillante lisa de 0.7 mm de diámetro ⁽¹⁴⁾.

Composición química

La planta en su composición es rica en AE, el mayor contenido del aceite se ubica en las semillas, en sus componentes se encuentran ascaridol el cual es el

responsable de producir el efecto antiparasitario, antihelmíntico y antibacteriano de esta especie vegetal, además contiene alcanfor, aritasona, N-hentriacontano, N-octacosano, N-docosano, N-heptacosano, pineno, mirceno, p-cimeno, limoneno, safrole, methadieno, geraniol, dimetilsulfóxido, methadieno, metilsalicilato, ácidos como terpinilo, tartárico, vainillico, butírico, salicilato de metilo, y ferulico. Cuenta con una cantidad de ascaridol (41,8%), isoascaridol (18,1%), p-cimeno (16,2%), α -terpineno (9,7%) y limoneno (3,8%) ⁽¹⁵⁾.

Propiedades terapéuticas

El *Chenopodium ambrosioides* tiene propiedades para calmar el dolor de estómago, curar empacho en los niños, agilizar la memoria, utilizado en caso de calambres al estómago, nerviosidades, contra la gastritis, artritis, hinchazón, resfriado, curar enfermedades de la piel, abscesos dentales, antitusígeno, anti diarréico, antihelmíntico, purgante, pediátrico ⁽¹⁴⁾.

Las investigaciones farmacológicas reportan su uso como cardiaco depresor, hipotensor, antiulceroso, antifúngico, antipalúdico, relajante muscular y antibacteriano ⁽⁸⁾.

Clasificación taxonómica ⁽¹⁴⁾

- Reino: Plantae
- División: Trachebionta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Caryophyllales

- Familia: Chenopodiaceae
- Sub familia: Chenopodioideae
- Género: Chenopodium
- Especie: Ambrosioides

Toxicidad

Su AE en dosis elevadas ha evidenciado tener gran toxicidad por acumulación, manifestándose como síntomas más comunes depresión del SNC, náuseas, lesiones hepáticas y renales, vómitos, trastornos visuales, sordera, convulsiones e insuficiencia cardiorrespiratorio ⁽¹⁴⁾.

Staphylococcus aureus

Es un microorganismo Gram positivo esférico (cocos) de 1 a 1,3 micras de diámetro, se manifiesta en forma de racimos o cadenas cortas, inmóvil, no forman esporas, anaerobios facultativos. Se hallan en seres humanos y animales. Los daños que ocasiona la bacteria en su hospedador proviene de su propia característica estructural ésta le proporciona la elaboración de una isoenzima y toxina específica, dándole la capacidad de reproducirse en las diversas partes del organismo provocando así daño celular localizado en el sitio de infección ⁽¹⁴⁾.

La infección se presenta como endógena o exógena, la infección exógena se da por medio de la contaminación de tejido traumatizado, material contaminado y la ingestión de alimentos o leche. La infección endógena se da por el ingreso de la bacteria, a través de heridas, fracturas, o cuerpos extraños ⁽¹⁴⁾.

Genoma del *Staphylococcus aureus*

Es circular, una particularidad del genoma de *Staphylococcus aureus* es la existencia de elementos móviles, que tienen factores de virulencia y resistencia a diferentes antimicrobianos. La investigación de estos elementos permite la explicación de los mecanismos de transducción, conjugación y transformación del material genético por medio de plásmidos móviles. Los transposones transportan uno o varios marcadores de resistencia antibiótica ⁽⁹⁾.

Etiopatogenia

Aproximadamente el 20 y 50 % de la población a nivel mundial es portadora de *Staphylococcus aureus* en fosas nasales y 30% de manera continua en piel y tracto gastrointestinal. En el momento que se rompen las barreras mecánicas, la bacteria es capaz de llegar hasta los tejidos más internos y causar infección. Las personas infectadas por esta bacteria generalmente se contagian con la misma cepa de sus fosas nasales, la invasión permite el contagio entre personas del centro de salud y comunidad ⁽⁹⁾.

Para una apropiada resistencia y colonización del huésped este conjunto de factores de virulencia debe permanecer dentro de un sistema de comunicación célula-célula denominado quorum sensing (QS). El QS está determinado por pequeñas proteínas elaboradas por los *S. aureus* denominadas autoinductoras, según los factores ambientales, pueden activarse un número de genes que incluye factores de virulencia ⁽⁹⁾.

Mecanismo de virulencia

S. aureus elabora gran cantidad de enzimas extracelulares, varias de las cuales participan probablemente en la patogenicidad del microorganismo. Entre dichas enzimas se halla la coagulasa, que produce la coagulación del plasma y puede encontrarse libre o unida a la bacteria. Actúa sobre el factor liberador de coagulasa (CRF), lo que produce la formación de trombina coagulasa, que convierte el fibrinógeno en fibrina. La coagulasa ligada a la bacteria beneficia la formación de grumos o racimos, lo que ayudaría a la fagocitosis ⁽²⁰⁾.

La hialuronidasa o factor de difusión, es capaz de romper el ácido hialurónico del tejido conectivo y cooperar así en la propagación del microorganismo. Sin embargo, la función de la hialuronidasa en la infección no está bien definida ya que es elaborada tanto por las cepas patógenas como las que no lo son, también porque los anticuerpos antihialuronidasa no previenen ni dificultan la infección ⁽²⁰⁾.

El killing intracelular consta en mecanismos oxígeno-dependientes y oxígeno-independientes. Los primeros se realizan a través de la producción de peróxido de hidrógeno y de radicales de oxígeno e hidroxilo. Seguramente la producción de catalasa, enzima que tiene la capacidad de desdoblar el peróxido de hidrógeno, puede interferir con el killing intracelular ⁽²⁰⁾.

Por otro lado *S. aureus* elabora toxinas potentes cuyas propiedades biológicas resultan a veces confusas debido a las dificultades para su purificación. De acuerdo

a su espectro de actividad, las toxinas podrían agruparse en dos categorías. Las toxinas alfa, delta y gamma presentan un espectro amplio sobre hematíes y varias células, las cuales son capaces de lisar ejerciendo su acción a nivel de la membrana. La leucocidina, las enterotoxinas y la toxina exfoliativa tienen células diana más específicas ⁽²⁰⁾.

Por último, el shock tóxico, fue descrito primero en niños, pero hoy en día es más común en mujeres en el periodo de menstruación. El shock tóxico se manifiesta con colapso vascular repentino, shock y erupción eritematosa, lengua descamada, náuseas, vómitos, mialgias, disfunción renal y hepática y alteraciones neurológicas. Epidemiológicamente se ha asociado a la presencia de estafilococos en la nariz y vagina ⁽²⁰⁾.

Inmunidad contra *Staphylococcus aureus*

Bajo condiciones normales, *S. aureus* no produce infecciones. Los síntomas por la infección de *S. aureus* es causa de las toxinas pirógenas consideradas como superantígenos, que se vinculan a regiones invariables del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II, partículas presentadoras del antígeno y receptores de las células de linfocitos T. esto conlleva a liberar citosinas de ambas células ocasionando daño en tejidos y liberación de la toxina del síndrome de choque tóxico, causando hipotensión y liberación de gran cantidad de citosinas ⁽⁹⁾.

S. aureus contiene en su superficie proteínas que inhiben la fagocitosis y la opsonización por el sistema del complemento humano. La identificación del

complemento y las inmunoglobulinas por los receptores son bloqueados por la proteína A de la pared celular que se une a la porción Fc de la inmunoglobulina IgG. *S. aureus* elabora partículas que inhiben el reclutamiento de neutrófilos, el reconocimiento de ésta bacteria y la fagocitosis ⁽⁹⁾.

En el desarrollo de las infecciones por *S. aureus*, los neutrófilos reclutan leucocitos donde está situada la infección, el complemento tiene un papel importante en el sistema inmune innato, involucrado en la destrucción de la membrana celular de los patógenos, opsonización y quimiotaxis ⁽⁹⁾.

El sistema de complemento se activa por tres vías: la alterna, la de la lectina y la clásica. *S. aureus* activa estas tres vías, pero, se ha observado que el sistema del complemento no es tan eficiente contra la bacteria, por lo que se requiere de otras células, como los neutrófilos que reconocen a los patógenos a través de los receptores tipo Toll. Los neutrófilos expresan receptores tipo Toll-2, estos reconocen los ácidos tipo teicoicos y el peptidoglicano de las bacterias Gram positivas ⁽⁹⁾.

Infección bacteriana de *Staphylococcus aureus*

El ataque directo a través de la piel y mucosas alteradas es característica de la infección estafilocócica, cuyas manifestaciones más comunes se localizan en los tejidos blandos como piomicitis, linfadenitis y linfangitis. Sin embargo, la más común de la infección estafilocócica es la bacteriemia, que puede producirse sin foco primario definido o con un foco definido. El foco suele ser un furúnculo o herida infectada. Durante el curso de la

bacteriemia el microorganismo se sitúa en otros órganos, en los cuales pueden aparecer abscesos hepáticos, esplénicos o renales ⁽²⁰⁾.

Otra consecuencia grave de la infección es la endocarditis, el microorganismo llega desde un foco periférico asintomático al torrente circulatorio, asentándose en una válvula, generalmente izquierda y previamente lesionada ⁽²⁰⁾.

La infección sistémica es causada por microorganismos en donde el agente causal se adentra a su hospedero y se disemina a órganos de diferentes aparatos y sistemas. En el caso de los humanos, la diseminación parte de piel a mucosas donde pasa a circulación y de ahí a órganos de diferentes aparatos y sistemas ⁽²¹⁾.

El primer paso que las bacterias interaccionen con el hospedero se realiza a través de ligandos denominados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) como son peptidoglucanos, lipoproteínas, lipolisacárido, éstos son reconocidos por moléculas presentes en el suero y por receptores celulares denominados patrón de receptores de reconocimiento (PRRs) la interacción de PAMPs con PRRs, permite que los microorganismos ingresen y colonicen tejidos del hospedero ⁽²¹⁾.

Al inicio las bacterias ingresan al hospedero, interaccionan con receptores de células de piel o mucosas, luego pasan a través de células M, células dendríticas u otro tipo de células a las capas subyacentes, de ahí a circulación linfática, sanguínea o ambas; en caso de pasar a la circulación linfática ésta drena en el conducto torácico y su contenido pasa a circulación sanguínea, de donde las bacterias se distribuyen por todo el organismo y dependiendo de su tropismo afectaran órganos de diferentes aparatos o sistemas ⁽²¹⁾.

Etapas de la infección por Staphylococcus aureus

La enfermedad infectocontagiosa comienza cuando un microorganismo patogénico invade al huésped. Las reacciones patológicas se pueden dividir en cinco fases generales ⁽²²⁾.

Periodo de incubación

Este período abarca el tiempo transcurrido entre el comienzo de la infección y la primera aparición de síntomas. El agente infeccioso está ya en el organismo del huésped, pero aún no le ocasiona signos ni síntomas de enfermedad. Estos períodos varían según sea la enfermedad/patógeno que adquiriera el huésped ⁽²²⁾.

Periodo prodromal

Consiste del tiempo que abarca cuando el cuerpo comienza a reaccionar al patógeno. Este período es característicamente corto e incluye síntomas, tales como fiebre, secreciones nasales, indisposición/malestar, irritabilidad y molestias. En el período prodromal aún no se manifiestan los síntomas que caracterizan la enfermedad. Durante este período, la enfermedad es altamente contagiosa ⁽²²⁾.

Período clínico

El período clínico incluye el tiempo en el cual aparecen los signos clínicos que caracterizan a la enfermedad; esto es, la reacción del organismo ante el patógeno ⁽²²⁾.

Período de convalecencia

Incluye el período de tiempo en el cual los síntomas de la enfermedad comienzan a desaparecer. En este período el organismo elimina los patógenos y se reparan los deterioros sufridos ⁽²²⁾.

Período de recuperación

Este período consiste de aquel tiempo donde la evidencia de la enfermedad desaparece y el paciente regresa al funcionamiento normal. Sin embargo, aún la enfermedad puede ser contagiosa ⁽²²⁾.

III. HIPÓTESIS

H1: El aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (PAICO) tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

H0: El aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (PAICO) no tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

Esta investigación fue de tipo experimental, transversal, de nivel explicativo y enfoque cuantitativo. La técnica utilizada fue la prueba de sensibilidad antimicrobiana aplicando el método de disco difusión o Kirby-Bauer.

Grupo Control negativo

Este grupo estuvo formado por 5 placas petri conteniendo Agar Müeller Hinton 25 ml, se dejó solidificar, seguidamente se sembró la suspensión de *S. aureus* ATCC 25923 de 1×10^8 unidades formadoras de colonias (UFC) por ml el cual se realizó utilizando como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland (ver anexo N°4), luego se colocaron por cada placa 4 discos de papel Whatman N° 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó un solvente de dilución DMSO (Dimetil sulfóxido al 10%).

Grupo control positivo

Este grupo estuvo formado por 5 placas petri conteniendo Agar Müeller Hinton 25 ml, se dejó solidificar, seguidamente se sembró la suspensión de *S. aureus* ATCC 25923 1×10^8 UFC por ml el cual se realizó utilizando como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron 3 discos de Tetraciclina 30 ug. La elección de los discos de sensibilidad antibiótica que se utilizan en los antibiogramas de rutina, se realiza según el tipo de bacterias o grupos bacterianos ⁽²³⁾.

Grupo experimental 1 al (25%) (v/v) del AE de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.)

Este grupo estuvo formado por 5 placas petri conteniendo Agar Müeller Hinton 25 ml, se dejó solidificar, seguidamente se sembró la suspensión de *S. aureus* ATCC 25923 1×10^8 UFC por ml, el cual se realizó utilizando como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron 4 discos hechos con papel Whattman N° 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó 25 μ l del AE de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) diluido al 25% en DMSO al 10 %.

Grupo experimental 2 al (75%) (v/v) del AE de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.)

Este grupo estuvo formado por 5 placas petri conteniendo Agar Müeller Hinton 25 ml, se dejó solidificar, seguidamente se sembró la suspensión de *S. aureus* ATCC 25923 1×10^8 UFC por ml, el cual se realizó utilizando como patrón el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron 4 discos hechos con papel Whattman N° 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó 25 μ l del AE de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) al 75% diluido en DMSO al 10 %.

4.2.Población y muestra

Población vegetal

Se trabajó con *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico), procedentes del Distrito de Santiago de Chuco, Provincia de Santiago de Chuco, Departamento de La Libertad,

ubicado a 3120 msnm, con lo cual se realizó la extracción del AE para realizar el presente trabajo (ver anexo N°2).

Muestra vegetal:

Se utilizó 500.00 g de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico).

Criterios de inclusión:

Se prefirió hojas más frescas de las plantas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (Paico), con buen aspecto y color, sanas y completas, se prefirió hojas de la parte superior de la planta ya que no están expuestas a algún animal carroñero, aptas para el consumo humano.

Criterios de exclusión:

Se rechazaron hojas de las plantas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (Paico) que presentaron bacterias u hongos, estaban marchitadas, expuestas a algún factor que pueda alterar su composición química reduciendo así su actividad antibacteriana.

Población microbiológica:

El material biológico estuvo conformado por cepas de la bacteria de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, adquirida del laboratorio Microbiologics (ver anexo N° 6), la cual estuvo expuesta a diferentes concentraciones del aceite esencial obtenido de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (Paico).

Muestra microbiológica

Se trabajó con cepas jóvenes de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Criterios de inclusión:

Se utilizó cepas puras.

Criterios de exclusión:

No se utilizarán cepas contaminadas.

4.3. Definición y operacionalización de las variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<p>Variable Independiente</p> <p>Aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (Paico)</p>	<p>Combinación de compuestos volátiles de base lipídica, olorosos que se localizan en las diversas partes de la planta como son frutos, raíces, flores, hojas, tallos.</p>	<p>Se utilizó 2 concentraciones del aceite esencial.</p>	<p>Grupo control negativo DMSO</p> <p>Grupo farmacológico tetraciclina</p> <p>Grupo experimental 1 aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico) 25%</p> <p>Grupo experimental 2 aceite esencial de las hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico) 75%</p>	<p>Cualitativa</p> <p>Nominal</p>
<p>Variable Dependiente</p> <p>Efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (Paico)</p>	<p>Capacidad de una sustancia química que actúa contra los microorganismos destruyéndolos o inhibiendo su crecimiento.</p>	<p>Se determinó mediante la medición de halos de inhibición.</p>	<p>Se midieron el diámetro de los halos de inhibición de crecimiento de todos los grupos en milímetros (mm).</p>	<p>Cuantitativa de razón</p>

4.4. Técnicas e instrumentos

Procedimiento

Obtención del AE de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico):

Extracción: para la extracción se utilizó el método de destilación por arrastre de vapor de agua en el cual se colocó en el balón Clevenger (Marca: Innovadora) los 250.00 g en una balanza analítica (Marca: Practum5101-1s. serie: 0031504204) de hojas cortadas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (Paico) y se agregó 750 ml de agua destilada, se conectó el equipo para su funcionamiento y finalmente se calentó hasta punto de ebullición durante 2 h. Obteniendo un rendimiento de 0.5 ml realizándose este procedimiento por 2 veces, al finalizar se obtuvo un total de 1 ml de AE y se guardó en un frasco ámbar a una temperatura de 2°–8 °C ⁽⁷⁾.

Activación de la cepa de *Staphylococcus aureus*

Para la activación de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), se procedió a la esterilización del ambiente, se empezó abriendo los liófilos que se encontraban dentro de un vial de plástico que le servía como protección, el cual contenía a la cepa *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), se sembró en Agar sangre con el asa bacteriológica. Luego se llevó a incubar a 37° por 24 h.

Ejecución del ensayo

Todos los equipos utilizados en el procesamiento de las muestras clínicas deben estar en condiciones óptimas. El correcto funcionamiento de los instrumentos y equipos nos asegura la garantía de la calidad ⁽²³⁾.

Se utilizó la técnica de esterilización por calor seco para todos los materiales que se han usado en la investigación y para la eliminación de residuos biológicos se usó el autoclave (esterilización por calor húmedo) ⁽²⁵⁾.

Preparación del Agar Mueller Hinton

Se utilizó 5 frascos de 100 ml cada uno de Agar Muller Hinton (Biolabtest) preparado sólido, luego se procedió a disolver los 100 ml de Agar Mueller Hinton a baño maría hasta obtener al agar líquido, se agregó 25 ml del medio de cultivo en las 20 placas Petri, de manera que el grosor del agar en la placa fue de 4 mm ⁽²³⁾.

Dilución del DMSO al 10%

Preparación para 5 ml: Se utilizó 500 ul de DMSO más 4500 ul de agua destilada.

Preparación del inóculo

Se seleccionó entre cuatro a cinco colonias bien aisladas, con ayuda del asa bacteriológica se introdujo en un tubo de ensayo estéril (13x100mm) que contenía 0.5 ml de suero fisiológico y de esa manera se realizó la suspensión del inóculo logrando alcanzar la turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland que se usa como referencia en suspensiones bacteriológicas por comparación visual con el estándar y con ayuda de una luz apropiada se comparó los tubos contra un fondo negro como contraste ⁽²³⁾.

Sembrado de las placas

Se sumergió un hisopo estéril en la suspensión preparada, se rotó el hisopo varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido

para remover el exceso de inóculo. Se procedió con el sembrado en forma de estrías con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo, se deja secar las placas a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido ⁽²³⁾.

Procedimiento para las diluciones de las concentraciones del AE

Las 2 diluciones se igualaron a 1 ml: para la concentración de 25% (750 ul de DMSO al 10% + 250 ul de AE de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico)). Para la concentración del 75% (250 ul DMSO al 10% + 750 ul de AE de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico)).

Aplicación de los discos

Se colocó los discos a los 4 grupos del trabajo de investigación: Control positivo, control negativo 25ul de DMSO al 10% y de las dos concentraciones ya explicadas sus diluciones sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar ⁽²³⁾.

Incubación

Se llevó a incubar en la estufa de cultivo (Marca Memmert), las 20 placas en posición invertida a 37° C por 24 horas para luego proceder a su lectura ⁽²³⁾.

Lectura de los 4 grupos de investigación

Para la lectura de los halos de inhibición de los grupos control negativo, control positivo y de las 2 concentraciones se utilizó una regla milimetrada para medir los diámetros de

las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco), se procedió a recolectar los datos en una tabla los cuales posteriormente se procesó estadísticamente ⁽²³⁾.

4.5. Plan de análisis

Para el análisis y tabulación de datos recolectados se utilizó el programa Excel 2013 los cuales fueron procesados a través del paquete estadístico IBM-SPSS-versión 22.0 Microsoft Excel. Se realizó el análisis de varianza ANOVA para la comparación de varios grupos (grado de confianza 95% - $\alpha \leq 0.5$) y la prueba de T-Student para comparar grupos estadísticamente significativos. Los resultados que se obtuvieron de los grupos de estudios están presentados en 2 tablas estadísticas.

4.6. Matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	VARIABLES	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico) sobre <i>Staphylococcus aureus</i>	¿El aceite esencial de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico) tendrá efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ?	<p>Objetivo General:</p> <p>Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico) sobre <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar el efecto antibacteriano in vitro a las concentraciones de 25% y 75% del aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico), control negativo y control positivo sobre <i>Staphylococcus aureus</i>. Comparar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico) a las concentraciones de 25% y 75% con el control positivo sobre <i>Staphylococcus aureus</i>. 	<p>Hipótesis Alternativa (H1): El aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico) tiene efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Hipótesis Nula (H0): El aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico) no tiene efecto antibacteriano in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>Tipo: experimental, transversal, de nivel explicativo y enfoque cuantitativo</p>	<p>Variable independiente</p> <p>Variable dependiente</p>	<p>Aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico) se utilizaron 2 concentraciones</p> <p>Efecto antibacteriano</p> <p>Se determinó mediante la medición de halos de inhibición.</p>	<p>Aceite esencial de hojas de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (L.) (paico) al 25% y 75% v/v</p> <p>Variable cualitativa nominal</p> <p>milímetro (mm)</p> <p>Variable cuantitativa de razón</p>	<p>Prueba estadística ANOVA y T-Student</p>

4.7.Principios éticos

Para la ejecución de este trabajo de investigación, se consideró los principios éticos que rigen la actividad investigadora de la Universidad Católica Los Ángeles Chimbote, son los siguientes ⁽²⁴⁾:

Protección a las personas: la persona en toda investigación es el fin y no el medio, por ello necesitan cierto grado de protección, el cual se determinará de acuerdo al riesgo en que incurran y la probabilidad de que obtengan un beneficio ⁽²⁴⁾.

Justicia: el investigador debe tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus capacidades y conocimientos, no den lugar o toleren prácticas injustas. El investigador está también obligado a tratar equitativamente a quienes participan en los procesos, procedimientos y servicios asociados a la investigación ⁽²⁴⁾.

Integridad científica: deben regir no sólo la actividad científica, sino que debe extenderse a sus actividades de enseñanza; y mantenerse la integridad científica al declarar los conflictos de interés que pudieran afectar el curso de un estudio o la comunicación de sus resultados ⁽²⁴⁾.

V. RESULTADOS

5.1.Resultados

Tabla 1: Efecto antibacteriano in vitro a las concentraciones de 25% y 75% del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico), control negativo y control positivo sobre *Staphylococcus aureus*, expresados en mm de diámetro de inhibición.

<i>Grupos de Investigación</i>	<i>Número de placa</i>	<i>Promedio del</i>		<i>Estadística de prueba F</i>	<i>Significancia (P)*</i>
		<i>diámetro de los halos de inhibición (mm)</i>	<i>Desviación estándar</i>		
<i>Control Negativo DMSO</i>	5	6.0	0.00		
<i>Control positivo (tetraciclina)</i>	5	28.9	1.95	116.840	0.0000
<i>AE Chenopodium ambrosioides al 25%</i>	5	19.6	1.79		
<i>AE Chenopodium ambrosioides al 75%</i>	5	25.2	1.94		

*P (<0.05); PRUEBA ANOVA

AE: Aceite esencial

Tabla 2: Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) a las concentraciones de 25% y 75% con el control positivo sobre *Staphylococcus aureus*

<i>Grupos de Investigación</i>	<i>Número de placa</i>	<i>Promedio del diámetro de los halos de inhibición (mm)</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>T-student</i>	<i>Significancia (P)*</i>
<i>Control positivo (tetraciclina)</i>	5	28.9	1.95	7.86	0.00005
<i>AE Chenopodium ambrosioides al 25%</i>	5	19.6	1.79		
<i>Control positivo (tetraciclina)</i>	5	28.9	1.95	3.01	0.01687
<i>AE Chenopodium ambrosioides al 75%</i>	5	25.2	1.94		
<i>AE Chenopodium ambrosioides al 25%</i>	5	19.6	1.79	-4.74	0.00146
<i>AE Chenopodium ambrosioides al 75%</i>	5	25.2	1.94		

*P (<0.05); PRUEBA T-Student

AE: Aceite esencial

5.2. Análisis de resultados

En el presente trabajo se buscó determinar si el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) ejercía efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* lo cual quedó demostrado, al apreciarse un efecto de inhibición del desarrollo bacteriano con el aceite estudiado, según los resultados obtenidos; además se encontró que existe diferencias muy altamente significativas con respecto al efecto inhibitorio en las diferentes concentraciones utilizadas.

La **TABLA 1**, muestra el efecto antibacteriano in vitro a las concentraciones de 25% y 75% del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico), Grupo control negativo y control positivo, sobre *Staphylococcus aureus*, evaluado en el diámetro promedio de halo de inhibición. La prueba de ANOVA nos da un valor de $P < 0.000$, lo que indica que existe muy alta diferencia significativa entre los grupos de investigación.

También se puede observar que a la concentración del 75% del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) tiene mayor efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus*, tal como se comprueba con la prueba estadística de ANOVA, en la cual se observa que existe muy alta diferencia significativa. Lo cual tiene relación con los resultados obtenidos por Aquino ⁽¹¹⁾ quién informó diferencias significativas en el tamaño de los halos expuestos a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) sobre *Staphylococcus aureus* con una $P < 0.000$.

En la **TABLA 2**, muestra la prueba de T-Student que permite comparar diferencias estadísticamente significativas del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) a las concentraciones de 25% y 75% frente al control positivo (tetraciclina) sobre *Staphylococcus aureus*, donde se puede observar que la prueba muestra que los grupos de investigación son diferentes entre sí. La prueba T-Student nos muestra que entre el grupo control positivo vs experimental 1 al 25%, y entre el experimental 1 al 25% vs el experimental 2 al 75% nos da un valor de $P < 0.001$, lo que indica que existe muy alta diferencia significativa, y entre el grupo control positivo vs experimental 2 al 75% nos da un valor de $P < 0.01$, lo que indica que existe alta diferencia significativa.

Para la concentración al 25% corresponde a los halos de inhibición de 19.9 ± 1.79 , con la concentración del 75% a los halos de inhibición de 25.2 ± 1.94 , con el control positivo halos de inhibición de 28.9 ± 1.95 . Sin embargo, no hay estudios que se hayan hecho con este aceite esencial por lo tanto este trabajo contribuirá para realizar futuros trabajos de investigación. Los resultados si bien es cierto no existen referentes con datos similares, pero sin embargo según Chambi ⁽¹⁶⁾ reporta que el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* si presentó efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. Por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula.

Como posible mecanismo este efecto se debe a que la especie vegetal de *Chenopodium ambrosioides*, presenta un alto contenido de metabolitos secundarios capaces de inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, esto se debe a los terpenos como lo es su componente principal de su aceite esencial el ascaridol un peróxido terpénico; estos compuestos tienen propiedades antimicrobianas debido a que dañan o inhiben la

pared celular o inhiben la síntesis de ADN o ARN, ya que la estructura que tienen éstos compuestos es similar a la de las bases púricas y pirimídicas y se pueden intercalar formando puentes de hidrógeno, alternando así la estructura tridimensional de los ácidos nucleicos ⁽¹⁴⁾.

VI. CONCLUSIONES

- ✓ Se determinó que el aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) a concentraciones de 25% y 75% presentó efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* con halos de inhibición de 19.6 ± 1.79 y 25.2 ± 1.94 respectivamente.
- ✓ Se comparó que el aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* al 75% tuvo un efecto antibacteriano significativamente mayor sobre *S. aureus* en comparación con el aceite esencial al 25% ($P < 0,05$), en tanto que el efecto antibacteriano a ambas concentraciones fue menor en comparación a tetraciclina ($P < 0,05$).

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- ✓ Realizar futuros trabajos de investigación in vivo en animales con los cuales se pueda reafirmar los resultados obtenidos en este trabajo de investigación.
- ✓ Elaborar investigaciones en animales de experimentación para posteriormente realizarlo en personas y así demostrar la seguridad, eficacia y tolerancia para emplearlo en la humanidad.
- ✓ Realizar otras investigaciones para determinar la concentración mínima inhibitoria y máxima inhibitoria del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico) que produzca el efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pozo G. Uso de las plantas medicinales en la comunidad del Cantón Yacuambi durante el periodo Julio-Diciembre 2011. Universidad Técnica Particular de Loja. [Tesis]. Ecuador 2014. [Citado 05 de mayo, 2018]. Disponible en: http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6523/3/Pozo_Esparza_Gladys_Maria.pdf
2. Tello G. Etnobotánica de plantas con uso medicinal en la comunidad de Quero, Jauja, Región Junín. Universidad Nacional Agraria la Molina. [Tesis]. Perú 2015. [Citado 05 de mayo, 2018]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1886/F70.T64-T.pdf?sequence=1>
3. Yáñez G, Velasteguí R. Investigación de la Actividad Antimicrobiana y Fitoquímica de Extractos de Plantas Medicinales frente a los Microorganismos Patógenos Escherichia coli y Candida albicans. Universidad Técnica de Ambato. [Tesis]. Ecuador 2014. [Citado 05 de mayo, 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/8462>
4. Gallegos M, Gallegos D. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos Ecuador. An. Fac. med. [Revista en la internet] 2017 [citado 05 de mayo, 2018]; 78(3): 315-321. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832017000300011

5. Cabrera Y. Determinación de las propiedades físicas, composición química y evaluación de la actividad biológica del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* (Paico) de la provincia de Loja. Universidad Técnica Particular de Loja. [Tesis]. Ecuador 2017 [citado 02 de setiembre, 2018]. Disponible en: <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/17495/3/Cabrera%20Gualpa%20Yessica%20Pamela.pdf>

6. Galecio J. Factores de riesgo asociados a gravedad por *Staphylococcus aureus* adquirido en la comunidad en pacientes mayores de 1 mes y menores de 18 años ingresados en el Hospital DR. Roberto Gilbert Elizalde durante el periodo de enero del 2013 a diciembre del 2015. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. [Tesis]. Ecuador 2017 [citado 05 de mayo, 2018]. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/8291/1/T-UCSG-POS-EGM-PE-43.pdf>

7. Casanova L, Rengifo H. Características fisicoquímicas y efecto del aceite esencial de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (PAICO) y determinación del porcentaje relativo de sus componentes. Universidad Nacional de Trujillo. [Tesis]. Perú 2016 [citado 05 de mayo, 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4315/Casanova%20Godoy%20Luis%20A.%20M.pdf?sequence=1>

8. Paico. INDECOPI. BIOPAT PERÚ. [Internet]. 2015 [citado 14 de mayo, 2018]. Disponible en: <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/202940/Bolet%C>

3%ADn+N%C2%BA+11+%E2%80%93+Tema+PAICO/6ff56ee5-e260-4342-b8d4-31dae98a46f9

9. Cervantes e, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. México. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. [Revista en la internet] 2014 [citado 02 de setiembre, 2018]; 61 (1): 28-40. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

10. Sánchez L, Pavas N, Rojas A, Pérez N. Infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina adquirido en la comunidad en pacientes de Villavicencio, Colombia. Colombia Revista Cubana de Medicina Tropical. [Revista en la internet] 2016 [citado 02 de setiembre, 2018]; 68(1):40-50. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v68n1/mtr04116.pdf>

11. Aquino E. Actividad antimicrobiana de aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides*, *Artemisia absinthium*, *Caiophora cirsiifolia* sobre bacterias gram negativas *Staphylococcus aureus* y su toxicidad en *Artemia salina*. Universidad Nacional del Antiplano. [Tesis]. Perú 2017 [citado 05 de mayo, 2018]. Disponible en: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/6069/Aquino_Apaza_Edwin.pdf?sequence=1&isAllowed=y

12. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Universidad Técnica de Babahoyo. An. Fac. med. [Revista en la internet] 2016 [citado 02 de setiembre,

2018]; 77(4):327-32. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf>

13. Torrenegra M, Matiz G, Gil J, León G. Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales frente a microorganismos implicados en el acné. Colombia. Revista Cubana de Farmacia. [Revista en la internet] 2015 [citado 02 de setiembre, 2018]; 49(3):512-523. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v49n3/far11315.pdf>

14. Sánchez S, Curitima E. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcoholico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (Paico) por el método de macrodilución en caldo frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, Iquitos. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. [Tesis]. Perú 2015 [citado 10 de junio, 2017]. Disponible en: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3864/Sergio_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y

15. Rojas N, Del Castillo C. Actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* (Paico), frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, mediante los métodos de difusión en agar y macrodilución. Iquitos-Perú-2015. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. [Tesis]. Perú 2016 [citado 10 de junio, 2017]. Disponible en: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3861/Nilssa_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- 16.** Chambi D, Pacheco K. Evaluación del efecto antimicrobiano in vitro del extracto y el aceite esencial de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. “Paico” en cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans*. Universidad Católica de Santa María. [Tesis]. Perú 2017 [citado 15 de setiembre, 2018]. Disponible en: <https://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/6324/65.1559.FB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 17.** Morales M, González E, Morales J. Fitoterapia, medicamentos herbales y automedicación. Plantas medicinales y medicina natural. [Libro electrónico]. Chile: Editorial Ocho Libros; 2014 [citado 15 de setiembre, 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/281747503_Fitoterapia_medicamentos_herbales_y_automedicacion
- 18.** Sánchez M, Muñoz M, Hernández A. Farmacología general Una guía de estudio. Farmacognosia. [Libro electrónico]. México: Editorial McGRAW-HILL; 2014 [citado 09 de setiembre, 2018]. Disponible en: http://bibliosjd.org/wp-content/uploads/2017/02/Farmacologia-General-Una-Guia-de-Estudio-medilibros.com_.pdf
- 19.** Santamaría C, González A, Astorga F. Extractos vegetales aplicación para la reducción del estrés. [Libro electrónico]. Madrid: Editorial European Natural Additives; 2015 [citado 09 setiembre, 2018]. Disponible en: <https://nutricionanimal.info/download/0315-ena-WEB.pdf>

- 20.** Cisterna R, Madariaga L. Patogenia de la infección por *Staphylococcus aureus*. España. ESTEVE. Universidad del País Vasco. [homepage en Internet]. 2018 [actualizada 15 de setiembre 2018; citado 15 de setiembre, 2018]. Disponible en: <https://esteve.org/wp-content/uploads/2018/01/136593.pdf>
- 21.** Castro A. Enfermedades bacterianas sistémicas y agentes causales. Bacteriología médica basada en problemas. [Libro electrónico]. México: Segunda edición; 2014 [citado 15 de setiembre, 2018]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/263543172_Enfermedades_bacterianas_sistemicas_y_agentes_causales
- 22.** Serrate A. Etapas del proceso infeccioso. ACADEMIA. [homepage en Internet]. 2018 [actualizada 15 de setiembre 2018; citado 15 de setiembre, 2018]. Disponible en: http://www.academia.edu/25559705/ETAPAS_DEL_PROCESO_INFECIOSO
- 23.** Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. [Libro electrónico]. Perú: Ins. gob. pe; 2002. [citado 01 de julio, 2017]. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_1%20sensibilidad.pdf
- 24.** ULADECH. Código de ética para la investigación. Versión 001. Consejo universitario con resolución N° 0108-2016-CU-Uladech. [Internet]. 2016 [Citado 15 de setiembre, 2018]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>

25. MINSA. Norma técnica de manejo de residuos sólidos hospitalarios. [Internet].

2010. [Citado 19 de enero, 2019]. Disponible en: [ftp://ftp2.minsa.gob.pe/descarg](ftp://ftp2.minsa.gob.pe/descargas/Transparencia/.../NormaResiduosSolidos2.pdf)

[as/Transparencia/.../NormaResiduosSolidos2.pdf](ftp://ftp2.minsa.gob.pe/descargas/Transparencia/.../NormaResiduosSolidos2.pdf)

ANEXOS

ANEXO N° 1

Mapa de Santiago de Chuco, de donde se recolectó la planta



ANEXO N°2

Certificación de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico)



ANEXO N° 3

Preparación del Agar Mueller Hinton

1. Preparar el medio a partir de la base deshidratada de acuerdo a las indicaciones del fabricante.
2. Autoclavar y dejar enfriar en baño de agua hasta que alcance los 45°C - 50°C.
3. Una vez esterilizado y solidificado, medir el pH del agar. El valor del mismo debe encontrarse entre 7,2 y 7,4 a temperatura ambiente. Esta medición puede realizarse:
 - a) Utilizando un electrodo de superficie
 - b) Macerando el medio en agua destilada y utilizando un electrodo de inmersión
 - c) Solidificando el agar con el electrodo del potenciómetro.
4. Repartir el medio en placas petri (60 ml – 70 ml o 25 ml – 30 ml, para placas de 150 mm o 100 mm de diámetro interno respectivamente), de manera que el grosor del agar en la placa sea de 4 mm.
5. Realizar las pruebas de esterilidad para cada lote de Mueller Hinton, incubando una o dos placas de cada lote a 30°C – 35°C durante 24 horas o más. Estas placas utilizadas deben ser, luego, descartadas.

ANEXO N° 4

Preparación del estándar (0,5 Mc. Farland) para el inóculo

1. Para estandarizar la densidad del inóculo se usa una suspensión de sulfato de bario (0,5 de la escala de Mac Farland) como estándar.
2. Preparación del estándar de turbidez.
 - a) Agregar 0,5 ml de una solución de BaCl₂ 0,048 M (BaCl₂·2H₂O al 1,175% P/V) a 99,5 mL de una solución de H₂SO₄ 0,18 M (0,36 N) (1% V/V) en constante movimiento para mantener la suspensión.
 - b) Verificar la densidad correcta del estándar usando un fotocolorímetro ó espectrofotómetro, cuya absorbancia a 625 nm es 0,08 a 0,10 para el estándar 0,5 de Mc. Farland.
 - c) Distribuir de 4 ml a 6 ml en tubos con tapa de rosca o tapón de jebe, similares a los que se usarán para preparar el inóculo.

- d) Ajustar bien las tapas o tapones y conservarlos en la oscuridad a temperatura ambiente y anotar la fecha de preparación.
- e) Antes de ser usado agitar vigorosamente dicho estándar de preferencia, en un agitador mecánico.
- f) Verificar mensualmente la densidad de los estándares de sulfato de bario, y reemplazarlo cuando sea necesario.

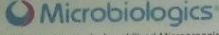
ANEXO N° 5

Antibióticos y diámetros críticos para *Staphylococcus* spp.

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Penicilina	10 unidades	£ 28	-	³29
Oxacilina (S. Aureus)	1 µg	£ 10	11-12	³13
(Estafilococos coagulasa negativos)	1 µg	£ 17	-	³18
GLICOPEPTIDOS				
Vancomicina	30 µg	-	-	³15
Teicoplanina	30 µg	£ 10	11-13	³14
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10 µg	£ 12	13-14	³15
FLUOROQUINOLONAS				
Norfloxacin	10 µg	£ 12	13-16	³17
Ciprofloxacina	5 µg	£ 15	16-20	³21
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	£ 14	15-18	³19
MACROLIDOS				
Eritromicina	15 µg	£13	14-22	³23
LINCOSAMIDAS				
Clindamicina	2 µg	£ 14	15-20	³21
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	£ 12	13-17	³18
Rifampicina	5 µg	£ 16	17-19	³20
Nitrofurantoina	300 µg	£ 14	15-16	³17
Trimetoprim/sulfametoxazol	1.25/23.75µg	£ 10	11-15	³16

ANEXO N° 6

Certificación de la cepa de Staphylococcus aureus




Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0350 Lot Number: 300-374** Reference Number: ATCC® 25923™** Purity: Pure Passage From Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2019/1/31 Release Information: Quality Control Technologist: Megan B Stain Release Date: 2017/09</p>
---	---

Performance

<p>Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, S/SAP, smooth, opaque, beta hemolytic</p> <p>Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters</p> <p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Medium: S/SAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p> <p>Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm</p>
---	--




 Amanda Kuperus
 Quality Control Manager
 AUTHORIZED SIGNATURE

**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 lot lot number.

Notes for Users: 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.

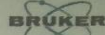



(1) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiology, Inc. or its direct or indirect subsidiaries.

(2) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved, 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC.266

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 confidence identification	(-)	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 the 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.

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Sample Description: 0350
 Sample ID: 360-374
 Sample Creation Date/Time: 2017-03-06T15:02:23.906 MS/MB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
G1 (+++)(A)	360-374	Staphylococcus aureus	2.24

Comments:
N/A

ANEXO N°7

Lectura de las placas e interpretación de los resultados

1. Medir los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco), usando una regla o calibrador. Se debe mantener iluminada la parte posterior de la placa petri con una luz reflejada localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro. Tener la precaución de observar la placa siguiendo una vertical directa para evitar una lectura errónea de las marcas de la regla por efecto de paralelismo. En los medios suplementados con sangre, las zonas son medidas en la parte superior de la superficie del agar y retirando la tapa. Tener cuidado de no medir la zona de la hemólisis sino la de inhibición del crecimiento.
2. Para *Staphylococcus* spp o *Enterococcus* spp, usar luz transmitida, manteniendo la placa arriba de la luz para examinar un posible ligero crecimiento de cepas resistentes a Oxacilina/Meticilina o Vancomicina dentro de los halos aparentes de inhibición. Cualquier desarrollo dentro de la zona de inhibición es indicativo de resistencia a Meticilina (Oxacilina) o Vancomicina.
3. El punto final debe tomarse como el área que no muestra un crecimiento obvio, visible, que puede ser detectado mediante observación visual, no incluyendo velo de crecimiento o colonias muy pequeñas que puedan ser detectadas solo con mucha dificultad en el borde de la zona. Sin embargo, las colonias mayores creciendo dentro de la zona clara deberán ser subcultivadas, reidentificadas y reensayadas. Algunos *Proteus* spp, debido a su gran movilidad, pueden presentar un velo de invasión o “swarming” dentro de las zonas de inhibición de algunos antibióticos. En estos casos el velo del swarming debe ser ignorado al momento de medir los halos de inhibición
4. Cuando se prueban discos de Cotrimoxazol puede arrastrarse sustancias antagonicas que producen un crecimiento con aspecto de niebla dentro de la zona del halo de inhibición, en estos casos no considerar en la lectura un crecimiento del 20% o menos del desarrollo total.
5. Los diámetros de inhibición son interpretados basándose en las Tablas N° 1 al 9. La sensibilidad de la cepa bacteriana será reportada como sensible (S), intermedio (I), o resistente (R).

ANEXO N° 8

Ejecución de la investigación: Extracción del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico)



ANEXO N° 9

Ejecución de la investigación: Hidrodestilación por arrastre de vapor de agua



ANEXO N° 10

Ejecución de la investigación: Aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (L.) (paico)



ANEXO N° 11

Ejecución de la investigación: Preparación del inóculo



ANEXO N° 12

Ejecución de la investigación: Llenado de las placas petri con Agar Muller Hinton



ANEXO N° 13

Ejecución de la investigación: Dilución de la cepa de *Staphylococcus aureus*



ANEXO N° 14

Ejecución de la investigación: Colocación de los discos a las placas petri



ANEXO N° 15

Ejecución de la investigación: Sembrado de la Cepa de *Staphylococcus aureus*



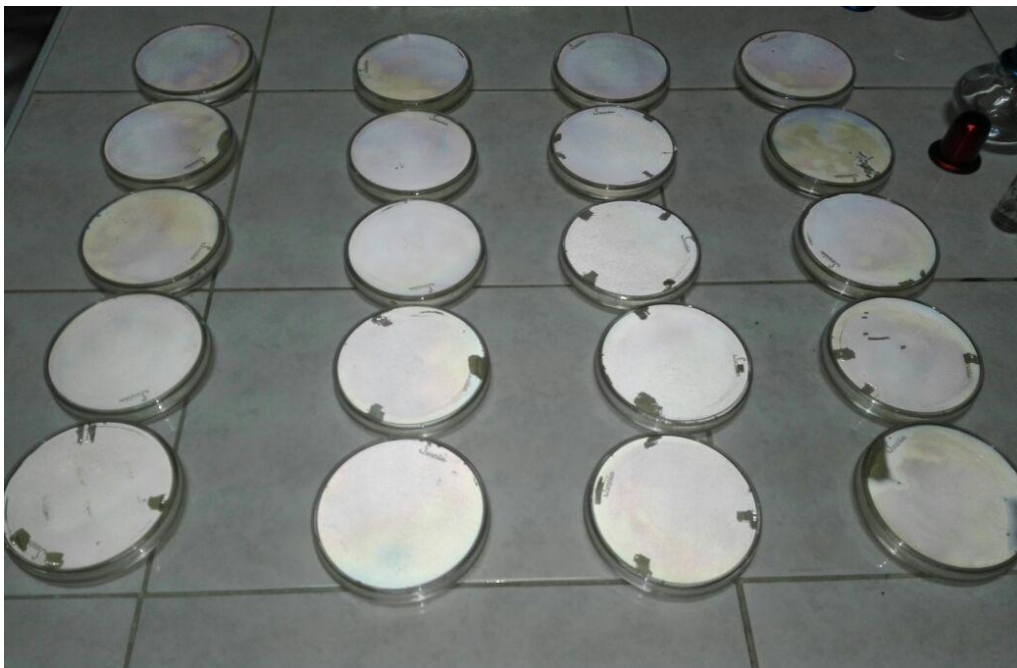
ANEXO N° 16

Ejecución de la investigación: Diluciones de los grupos de experimentación



ANEXO N° 17

Ejecución de la investigación: 4 de Grupos de experimentación



ANEXO N° 18

Ejecución de la investigación: Incubación de las placas petri



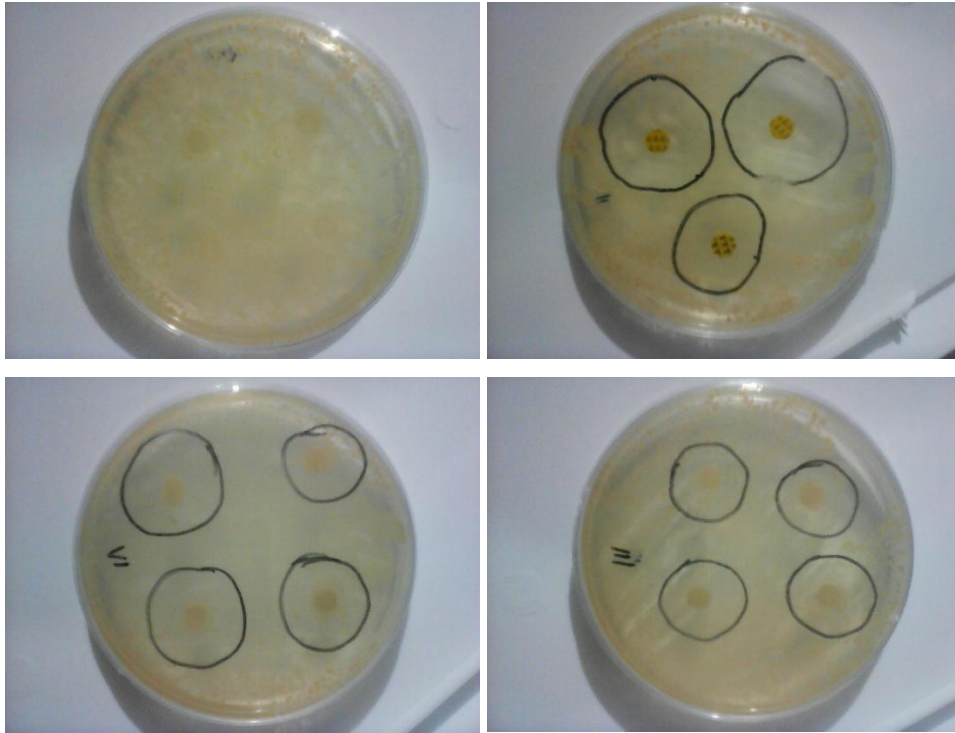
Anexo N° 19

Ejecución de la investigación: Lectura de los halos de inhibición



ANEXO N° 20

Ejecución de la investigación: Diámetro de los halos de inhibición de los 4 grupos de experimentación



ANEXO N° 21

Análisis de varianza prueba de ANOVA

<i>Fuente de Variación (FV)</i>	<i>Suma de cuadrados (SC)</i>	<i>Grados de libertad (gl)</i>	<i>Cuadrados medios (CM)</i>	<i>Estadística de prueba (Fo)</i>	<i>Probabilidad (P)</i>
<i>Tratamientos</i>	1,094.280	3	364.760	116.840	0.000
<i>Error</i>	46.828	15	3.122		
<i>Total</i>	1,141.108	18			

ANEXO N°22

Gráfico de grupos de experimentación de acuerdo al promedio de halos de inhibición

