



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL ACEITE
ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Ocimum basilicum L.*

“ALBAHACA” FRENTE A *Staphylococcus aureus.*

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORA

OLIVARES PACHECO, FELICITA CLARISA

ASESOR

Mgr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

TRUJILLO - PERÚ

2018

JURADO EVALUADOR

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Asesor

AGRADECIMIENTO

A DIOS, por dirigir mi vida, hacerme conocer su palabra, por haberme guiado en el sendero correcto, y porque me ha dado fortaleza para lograr concluir mi carrera profesional.

A la virgen María, por interceder siempre ante su hijo el señor Jesús, para ayudarnos a superar cualquier adversidad y derramar bendiciones a cada integrante de mi familia.

A mi papá Carlos (Tío): por haberme brindado la ayuda necesaria para poder elegir mis estudios y por apoyarme incondicionalmente desde que decidí hacerme profesional hasta el día de hoy; y por todos los consejos brindados.

A mis docentes de ULADECH, por haberme transmitido conocimientos que ayudaran a desarrollar con éxito nuestra carrera profesional.

DEDICATORIA

A mis padres, Manuel y Silvia por haberme dado la vida y enseñarme a ser una persona de bien con valores y principios; por brindarme su apoyo incondicional para poder culminar mis estudios con éxito.

A mi hermano Joel, de manera muy especial dedicarle mi tesis con mucho cariño por su apoyo incondicional a tiempo y a destiempo, por aquellas palabras que hacían en mí querer salir adelante para apoyar a nuestros padres.

A mi hermano Carlitos, que es como un hijo y una de las personas que más amo en este mundo, es mi más grande tesoro y la mayor inspiración que tengo para poder seguir adelante. A mi familia en general por su cariño y por darme ánimos para superarme.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación, de tipo cuantitativo con diseño experimental-longitudinal, se realizó con el propósito de determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* en *Staphylococcus aureus*. La muestra vegetal se recolectó en Pedregal, Distrito Simbal, Provincia Trujillo; para la extracción del aceite esencial se empleó el método de hidrodestilación, y posteriormente se elaboró tres concentraciones de 5%, 10% y 15%, en donde se evaluó su actividad biológica en *Staphylococcus aureus*, utilizando el método de Kirby- Bauer. Los cálculos se efectuaron con la prueba Anova con la que se realizaron tablas y gráficos, obteniendo como resultado que el aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* tiene efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*. Se concluyó que el nivel de significancia es $p=0.042$ la cual es menor a $p<0.05$, con lo que se demuestra que existe diferencia significativa entre las tres concentraciones (5%,10% y 15%) de *Ocimum basilicum L.* frente a *Staphylococcus aureus*.

Palabras claves: efecto antibacteriano, aceite esencial, *Ocimum basilicum L.*, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The present research work, of quantitative type with experimental-longitudinal design, was made with the purpose of determining the *in vitro* antibacterial effect of the essential oil of the leaves of *Ocimum basilicum L.* in *Staphylococcus aureus*. The vegetal sample was collected in Pedregal, Simbal District Province Trujillo; for the extraction of the essential oil, the hydrodistillation method was used, and then three concentrations of 5%, 10% and 15% were elaborated, where their biological activity was evaluated in *Staphylococcus aureus*, using the Kirby-Bauer method. The calculations were made with the Anova test with which tables and graphs were made; obtaining as a result that the essential oil of *Ocimum basilicum L.* has an antibacterial effect against *Staphylococcus aureus*. It was concluded that the level of significance of the Anova test is $p = 0.042$ which is less than $p < 0.05$, which shows that there is a significant difference between the three concentrations (5%, 10% and 15%) of *Ocimum basilicum L.* against *Staphylococcus aureus*.

Key words: antibacterial effect, essential oil, *Ocimum basilicum L.*, *Staphylococcus aureus*.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1. Antecedentes	7
2.2. Bases teóricas.....	10
III. HIPÓTESIS	17
IV. METODOLOGÍA	18
4.1 Diseño de la investigación	18
4.2 Población y muestra.....	19
4.3. Definición y operacionalización de variables	21
4.4. Técnica e instrumentos	22
4.5. Plan de análisis.....	27
4.6. Matriz de consistencia	28
4.7. Principios éticos	29
V. RESULTADOS	30
5.1. Resultados.....	30
5.2. Análisis de Resultados	31
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	34
6.1. Conclusiones.....	34
6.2. Recomendaciones	35
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXOS	43

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla N° 1. Escala de MacFarland.....24

Tabla N° 2. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro por diferentes concentraciones del aceite esencial de "*Ocimum basilicum L.*" sobre el cultivo de *Staphylococcus aureus* 30

ÍNDICE DE GRÁFICOS:

Gráfico N° 1. Comparación gráfica de las tres concentraciones...47

ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura N° 1. Recolección de la planta	43
Figura N° 2. Separación de las hojas frescas de <i>Ocimum basilicum</i> L.....	43
Figura N° 3. Extracción del aceite esencial	43
Figura N° 4. Esterilización del material a trabajar (agar).....	43
Figura N° 5. Material esterilizados: placas Petri, hisopos, varillas, matraz, etc.....	44
Figura N° 6. Pesado del agar Müller Hinton, en gramos.....	44
Figura N° 7. Técnica del raspado	44
Figura N° 8. Incorporación de discos	44
Figura N° 9. Evaluación de turbidez prueba MacFarland	45
Figura N° 10. Sembrado	45
Figura N° 11. Resultados del efecto antibacteriano de <i>Ocimum basilicum</i> L. frente a Staphylococcus aureus.....	45

I. INTRODUCCIÓN:

Desde los tiempos inmemoriales se utiliza la medicina natural como una alternativa de las medicinas farmacéuticas; ya que las plantas tienen muchas formas de uso, las cuales son de mucha ayuda para aliviar y curar enfermedades que mejoran la salud. Según la Organización Mundial de Salud (OMS) los medicamentos herbarios abarcan: hojas, flores, frutos, semillas, tallos, madera, corteza, raíces, rizomas y otras partes de plantas, enteros, fragmentados o pulverizados, jugos frescos, gomas, aceites fijos, aceites esenciales, resinas y polvos secos de hierbas, y productos herbarios acabados, que tienen principios activos u otros materiales vegetales, o combinaciones de esos elementos ^(1,2).

Hay mucho beneficio e interés en la medicina tradicional para lograr la búsqueda de nuevas alternativas medicinales y tratar diversas enfermedades; que se apoya en las culturas de nuestros antepasados prolongado a lo largo de la historia; su uso de la medicina tradicional está bien establecido y ampliamente reconocido como inocuo y eficaz y puede ser aceptado por las autoridades nacionales; en otros casos también se utiliza la medicina tradicional por la falta de recursos económicos o pocos servicios médicos. Las plantas medicinales han sido el único recurso principal que utilizaban los médicos como remedios naturales, aunque no existían estudios para la manipulación; hoy en día se lleva a cabo este medio curativo con técnicas y métodos para obtener el mayor rendimiento posible; llevando a examinar detenidamente las especies vegetales que contienen propiedades terapéuticas y extender el empleo de los productos que derivan de ella ^(3,4).

La ciencia de la fitoterapia se basa en el uso de las plantas medicinales que tienen efecto terapéutico de manera empírica, el cual el producto vegetal debe cumplir seguridad, eficacia y calidad; un incorrecto procedimiento en estas acciones provocará procesos de degradación en un menor tiempo, caracterizándose por desprendimiento de olor, desecación y cambios de color, los cuales disminuyen los efectos terapéuticos. Estas plantas medicinales tienen principios activos que “actúan”, es decir, sustancias con actividad biológica que tienen la capacidad de interactuar con nuestro organismo y sus distintos sistemas ⁽⁵⁾.

Se estima que las plantas medicinales son fuente de gran número de metabolitos de las cuales la mayoría tiene una actividad biológica; existen metabolitos primarios y metabolitos secundarios. El metabolito primario es el resultante de los procesos que cada planta debe realizar para asegurar su reproducción y supervivencia: lípidos, glúcidos y los derivados de los aminoácidos. Los metabolitos secundarios se derivan de los metabolitos primarios, su distribución es limitada debido a su grupo taxonómico ^(6,7).

Las plantas medicinales siguen siendo de suma importancia e indispensables en los tiempos modernos, incluso de la misma planta derivan nuevas alternativas medicinales. El descubrimiento de fármacos y el uso de plantas medicinales para diferentes tratamientos es una amplia gama de condiciones que parecen interminables, ya que al combinar el conocimiento derivado de las plantas medicinales tradicionales con la ciencia moderna da base a nuevos fármacos que pueden descubrirse ⁽⁸⁾.

Se sabe que las enfermedades infecciosas aparecieron desde que el hombre existió en el planeta, y las causas que provocan su desarrollo son: el nivel socioeconómico, la mala higiene, una mala nutrición, pobreza, etc. Las enfermedades infecciosas se producen por microorganismos patógenos, de los cuales existen diversos tipos de parásitos, bacterias, hongos y virus. Estas enfermedades pueden transmitirse directa o indirectamente de un ser humano a otro. También existe la Zoonosis que son enfermedades infecciosas presentes en los animales y pueden transmitirse al ser humano causando una enfermedad, que a veces son parte de morbilidad en todo el mundo ⁽⁹⁾.

En la actualidad las enfermedades infecciosas siguen siendo los causantes de muertes en todas las poblaciones, siendo los antibióticos una revolución en la medicina, aumentando la esperanza de vida en la población. Sin embargo hace pocos años se descubrió la resistencia bacteriana a los antibióticos, lo que se define como la capacidad de la bacteria para sobrevivir a ciertas concentraciones de antibióticos que inhiben o matan a otras de su misma especie; este es el problema más frecuente de la salud pública que es la resistencia a los antimicrobianos; la resistencia bacteriana se aceleró y expandió debido a la mala utilización de los fármacos; entre más consumo de antibióticos hay mayor resistencia microbiana. Los antimicrobianos forman parte de los fármacos más utilizados a nivel mundial, pero el mal uso conlleva a la aparición de efectos adversos; razón por la cual se mantiene la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos para combatir las enfermedades, es por ello que los antimicrobianos de uso natural son una buena alternativa, y dentro de ellos encontramos a los aceites esenciales ⁽¹⁰⁻¹²⁾.

Los aceites esenciales son principios activos que se encuentran en diferentes tejidos vegetales. Los antiguos alquimistas los llamaban “espíritu de las plantas”, pues tienen gran número de compuestos químicos naturales, originarios de la planta de la que se extraen. Cada aceite esencial posee propiedades específicas de la planta, cuyos componentes químicos tienen distintas finalidades, por ejemplo: un aceite esencial puede ser estimulante del sistema nervioso (romero), mientras que otros son sedantes (jazmín), algunos destacan por sus propiedades bactericidas (tomillo), mientras que otros tienen capacidad analgésica (menta), etc. ⁽¹³⁾.

El uso de estos aceites esenciales tiene un papel importante, ya que muchas veces tienen componentes con un tipo de actividad frente a algunas bacterias. Es necesario encontrar nuevos compuestos para las infecciones microbianas; el descubrimiento de nuevos fármacos y sus aplicaciones pueden sobrellevar estos problemas. La obtención de sustancias naturales es importante, por ello es necesario su estudio para encontrar nuevos compuestos que tengan efectos antibacteriano ⁽¹⁴⁾.

Ocimum basilicum L. “Albahaca” es una planta medicinal aromática, originaria de la India y luego introducida a Europa. La albahaca es utilizada por industrias farmacéuticas, perfumerías y en los alimentos como un saborizante. Sus hojas y flores se han utilizado como remedio para enfermedades; el aceite esencial de albahaca posee propiedades antimicrobianas, insecticidas y fungistáticas, como también contiene compuestos fenólicos y flavonoides que demostraron ser potentes antioxidantes. Estudios evidenciaron que la albahaca tiene efecto antibacteriano y antimicrobiano frente a las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sp*,

Escherichia coli. El efecto antimicrobiano de los aceites esenciales se deben a los compuestos terpénicos que los conforma el eugenol, cineol, safrol y linalol ^(15,16).

Staphylococcus aureus es una bacteria anaerobia facultativa pero puede desarrollarse muy bien en condiciones aerobias, desde hace mucho tiempo estos microorganismos son de gran importancia médica porque son capaces de producir daño o enfermedad, especialmente en la piel y mucosas del ser humano. Es un Coco Gram-positivo que forma parte de la familia Micrococaceae y tiene más de 30 especies diferentes. Esta bacteria tiene la capacidad de desarrollar coagulasa y catalasa ⁽¹⁷⁾.

Staphylococcus aureus es una bacteria que ocasiona diversas infecciones en el organismo humano, pero también está implicada en la producción de enfermedades que se transmiten por los alimentos, ya que es capaz de producir toxinas. Con frecuencia es un agente causante de muchas infecciones de la piel adquiridas en la comunidad y a nivel hospitalario; causantes de enfermedades como endocarditis; mayormente el sitio de colonización de esta bacteria es la mucosa nasal de las personas. Dicha bacteria tiene una gran capacidad de adaptación, por lo cual afectan a todos los mamíferos, incluyendo a los roedores comunes de laboratorio. Es por ello que poseen una fácil propagación y pueden transmitirse de una especie a otra, siendo frecuentes los casos humanos hacia animales o viceversa ^(18,19).

De la realidad problemática expuesta se planteó el siguiente problema: ¿Tendrá efecto Antibacteriano *in vitro* el aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L. “Albahaca” frente a *Staphylococcus aureus*?

OBJETIVOS:

Objetivo general:

- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L. “Albahaca” frente a *Staphylococcus aureus*.

Objetivos específicos:

- Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* de aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L. a diferentes concentraciones (5%, 10% y 15%) frente a *Staphylococcus aureus*.
- Medir los halos de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. si es estadísticamente significativa.

II. REVISIÓN DE LITERATURA:

2.1. ANTECEDENTES:

Moghaddam et al (Irán 2011), investigaron la Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* El aceite esencial se destiló usando un aparato de tipo Clevenger y se extrajo de hojas de plantas. Las propiedades antibacterianas del aceite esencial de albahaca se estudiaron en las bacterias Gramnegativas estándar incluyendo *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y Gram-positivas como *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, luego difusión en disco de agar, concentración mínima de inhibición (MIC) y concentración bactericida mínima (MBC) fueron detectados. Los resultados de este estudio mostraron la presencia de efectos bacteriostáticos del aceite esencial de albahaca en todas las bacterias de prueba. Las CIM para bacterias Gram positivas fueron las siguientes: *B. cereus* con 36-18 $\mu\text{g} / \text{mL}$, *S. aureus* 18 $\mu\text{g} / \text{mL}$ y las bacterias Gram-negativas con *E. coli* y *P. aeruginosa* fueron 18-9 $\mu\text{g} / \text{mL}$ ⁽²⁰⁾.

Beltrán et al. (Colombia 2013), realizaron un estudio con el objetivo de comprobar la actividad antibacteriana de los AEs obtenidos de *Ocimum basilicum L. var. Cinammom*, *O. album*, *O. thrysiflorum*. Los AEs se obtuvieron por destilación de arrastre de vapor tipo Clevenger, secados con sulfato de sodio anhidro y conservados bajo refrigeración. Aplicaron el método de dilución en caldo para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) y la Concentración Mínima Bactericida (MBC), en concentraciones de 3,12 a 0,1%;

dichas concentraciones fueron enfrentadas a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Salmonella typhimurium*. Obteniendo como resultado que el AE del *Ocimum basilicum L. var. cinammom* presentó actividad inhibitoria frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*. Se concluyó que los AEs tienen capacidad para inhibir el crecimiento de algunos microorganismos patógenos ⁽²¹⁾.

Rivas et al (Venezuela 2015), investigaron la composición química y actividad antimicrobiana de las hojas del AEs de albahaca (*Ocimum basilicum L.*). El AE se obtuvo por hidrodestilación, y la actividad antibacteriana se evaluó utilizando cepas de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* y *Staphylococcus aureus*. La acción antibacteriana se cuantificó midiendo el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de discos Whatman N° 5 impregnados con el AE (50 mg/mL). La concentración inhibitoria mínima (CIM), fue determinada por dilución del AE entre 50 y 200 µg/mL con Dimetilsulfoxido. Se concluye que el AEs de *Ocimum basilicum* contiene: isoestragol (58,33%), humuleno (5,71%), eucaliptol (4,09%), β-linalol (2,71%), cis-β-ocimeno (2,00%), alcanfor (1,63%) y elemeno (0,78%). El AEs mostró actividad bacteriostática frente a bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*) ⁽²²⁾.

Yamani et al (Australia 2015), realizaron una investigación para determinar la Actividad antimicrobiana del AE de Tulsi (*Ocimum tenuiflorum*) y sus principales componentes contra tres especies de bacterias. El objetivos de este proyecto fue destilar los aceites esenciales de *Ocimum tenuiflorum*, para cuantificar los componentes volátiles presentes en espigas de flores, hojas y para identificar los compuestos responsables de cualquier actividad. La microdilución de caldo se usó para determinar la concentración mínima inhibitoria (CIM) del AE contra patógenos microbianos seleccionados. Los AEs a concentraciones de 4.5 y 2.25% inhibieron el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. De los 54 compuestos identificados, se ha propuesto que tres son responsables de esta actividad; alcanfor, eucaliptol y eugenol. El AE de Tulsi podría ser un valioso agente antimicrobiano tópico para el tratamiento de infecciones cutáneas causadas por estos organismos. ⁽²³⁾.

2.2. BASES TEÓRICAS:

a) Planta medicinal:

Son todos aquellos seres vegetales que contienen en alguna de sus partes, principios activos, los cuales, gestionados en dosis suficientes, producen efectos medicinales en las enfermedades de la población humana. Se estima que de las especies de plantas que se conocen en la actualidad el 10% se pueden considerar medicinales, es decir, se encuentran coleccionadas dentro de los tratados médicos de fitoterapia, modernos y de épocas pasadas, por presentar algún uso. El estudio de los elementos de las plantas medicinales se concentra en las sustancias que ejercen una acción farmacológica sobre los seres vivos. Los principios activos de las plantas medicinales pueden ser sustancias simples (alcaloides) o bien mezclas complejas (aceites esenciales, resinas, etc.). Las plantas medicinales consiguen funcionar desde el estado físico, (tejidos, órganos, y sistemas del cuerpo), estados mentales, emocionales, campo energético y espiritual ⁽²⁴⁾.

b) Aceites esenciales:

Son compuestos constituidos por varias sustancias orgánicas volátiles, que se producen y almacenan en los canales secretores de las plantas, responsable de los aromas de las flores. Poseen muchas acciones farmacológicas, por lo que constituyen la base de la aromaterapia, pero además son abundantemente

manipulados en cosmética, perfumería, industria farmacéutica y en la industria de la alimentación ⁽²⁵⁾.

Características:

Los aceites esenciales son sustancias aromáticas extraídas de flores, frutos, hierbas, maderas, raíces, etc. Desde el punto de vista químico, son mezclas complejas de sustancias líquidas y volátiles; contiene hasta más de 100 componentes de los tipos: monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanos, y compuestos alifáticos de bajo peso molecular como alcanos, alcaloides, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos. Son sensibles a los rayos ultravioleta, temperaturas extremas e insolubles en agua, también son moderadamente solubles en ceras vegetales, aceites, cremas, alcoholes, grasas, etc. ⁽²⁶⁾.

Usos:

Industria alimentaria: Se utilizan para sazonar embutidos, carnes preparadas, sopas, helados, etc. Los aceites más utilizados son: el naranja, cilantro y menta. Asimismo son empleados para la elaboración de bebidas alcohólicas y no alcohólicas. Las esencias extraídas del limón, naranjo, mentas e hinojo, se utilizan en la producción de caramelos, chocolates y golosinas.

Industria farmacéutica: Se emplean en cremas dentales, analgésicos e inhalantes para desinflamar las vías respiratorias. Son empleados en la elaboración de neutralizantes de sabor desagradable de muchos medicamentos.

Industria de cosméticos: Esta industria utiliza los aceites esenciales en la elaboración de cosméticos, perfumes, maquillaje y detergentes. En este campo se logra mencionar los aceites de geranio, lavanda, rosas ⁽²⁵⁾.

c) Descripción botánica: Albahaca (*Ocimum basilicum L*)

Es una planta medicinal con ramas en sus extremos caracterizadas por un color verde intenso, con flores rosadas o blancas alargadas; hojas un poco dentadas, suaves, ovaladas opuestas y miden entre 2 a 5 cm. Sus tallos son ramificados, erectos que logran medir de 30 a 50 cm de altura; además es considerada una planta medicinal gracias a que tiene un aroma agradable y es rico en aceites esenciales. Esta especie es al parecer originaria de la India, introducida en África y adaptada extensamente a los países mediterráneos ⁽²⁷⁾.

Taxonomía:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Tribu: Ocimeae

Subfamilia: Nepetoideae

Género: *Ocimum*

Nombre científico: *Ocimum basilicum L.*

Composición química:

Se identificaron componentes de *Ocimum basilicum L.* en los que predominaron: 1,8-cineol, linalol, citral, metilchavicol (estragol), eugenol y metilcinamato. El 1,8-cineol, es un líquido transparente incoloro, olor característico, punto de fusión 1,5 °C, densidad 0,924, punto de ebullición 177 °C, inmiscible con agua y miscible en cloroformo, éter y etanol; Su uso es especialmente en medicina en casos de tos con fiebre, se ha demostrado que tiene propiedades antifúngicas y antibacterianas. El eugenol (C₁₀H₁₂O₂) es un fenol. El eugenol es un miembro de los compuestos de la clase alilbencenos, es un líquido oleoso de coloración amarillo pálido extraído de aceites esenciales, principalmente es soluble en agua y en solventes orgánicos, tiene un agradable olor a clavo y tiene una potente actividad antipirética y antibacteriana ^(11,28).

Partes usadas:

Hojas, flores (secas o frescas) y tallos ⁽²⁸⁾.

d) Microorganismo:

Son seres vivos tan pequeños que solo pueden observarse a través de un microscopio; estos organismos son estudiados por una rama de la ciencia biológica llamada “microbiología”. Los microorganismos se clasifican en 4 grupos: Hongos, virus, bacterias y parásitos; y cada uno de ellos tienen aspectos diferentes en cuanto a su estructura, nutrición, reproducción y morfología: Los hongos son microorganismos eucariotas uni o pluricelulares; los virus son organismos que no pueden reproducirse por sí solos y tampoco nutrirse porque dependen de su actividad intracelular ya sea animal o vegetal para vivir; las bacterias son células procariotas que no tienen núcleo y poseen un cromosoma, reciben su nombre según su forma; los parásitos son eucariotas y se clasifican en helmintos y protozoos ⁽²⁹⁾.

e) Microorganismo del estudio: *Staphylococcus aureus*

Aspectos generales:

Staphylococcus aureus tiene más de 30 especies diferentes y capacidad de desarrollar coagulasa y catalasa. Son cocos Gram positivos, inmóviles que permanecen aislados en pares, cadenas o racimos; poseen un diámetro de entre 0,5 y 1 µm, son anaerobios facultativos pero puede desarrollarse muy bien en condiciones aerobias, son capaces de desarrollarse en un medio con una elevada temperatura desde 18 a 40°C. Su Pared está compuesta por peptidoglucano asociado, mientras que la superficie está recubierta de la

proteína A. Son colonias opacas, enteras, circulares, lisas y doradas, debido a los pigmentos carotenoides que se forman durante su crecimiento, de ahí el nombre de la especie ^(17,30).

Taxonomía:

Reino: bacteria

Clase: bacilli

Familia: Staphylococcaceae

Género: Staphylococcus

Especie: s. aureus

Patogenia:

Staphylococcus aureus es una bacteria que ocasiona diversas infecciones en el organismo humano, pero también está implicada con las enfermedades que se transmite por los alimentos, ya que *Staphylococcus aureus* es un microorganismo capaz de producir toxinas. Con frecuencia es un agente causante de muchas infecciones de la piel adquiridas en la comunidad y a nivel hospitalario; causantes de enfermedades como osteomielitis y endocarditis; mayormente el sitio de colonización de esta bacteria es la mucosa nasal de las personas. Dicha bacteria tiene una gran capacidad de adaptación, por lo cual afectan a todas las especies conocidas de mamíferos, incluyendo a los roedores comunes de laboratorio. Es por ello que poseen una fácil

propagación y pueden transmitirse de una especie a otra, siendo frecuentes los casos humanos a animales o viceversa ^(18,19).

Colonización y transmisión:

Staphylococcus aureus habitualmente está en la flora del ser humano. La población está colonizada de forma permanente por dicha bacteria. Diariamente coloniza la piel y superficies de las mucosas, siendo las fosas nasales la zona más habitual, pero es posible la colonización de otras zonas de piel como las axilas, manos, ombligo, área perirrectal, áreas de piel lesionada o faringe. *Staphylococcus aureus* se transmite primordialmente por contacto piel con piel con una persona infectada, con objetos contaminados de los portadores crónicos. A través de una solución de persistencia en piel o mucosas puede extenderse a los tejidos y pasar a la sangre, causando infección. Este riesgo aumenta siendo más abundante el contagio ⁽³¹⁾.

III. HIPÓTESIS:

Hipótesis alternativa (H1)

El aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L. “Albahaca” tiene efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*.

Hipótesis nula (H0):

El aceite esencial de las hoja de *Ocimum basilicum* L. “Albahaca” no tienen efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*.

IV. METODOLOGÍA:

4.1 Diseño de la investigación:

Experimental

Según la intervención el presente trabajo es de tipo experimental con estímulo creciente y grupo control.

- **Grupo control negativo:** Consistió en 5 placas con *Staphylococcus aureus* en un medio de cultivo adecuado con el agar Müller-Hinton y se probará que el diluyente utilizado Dimetilsulfoxido no tiene actividad antibacteriana frente a dicha bacteria.

- **Grupo experimental:** Se agregó aceite esencial en 5 placas de cada concentración con 4 discos en cada placa para observar si el aceite esencial de *Ocimum basilicum L* tiene efecto antibacteriano en *Staphylococcus aureus*.

a) Tipo de investigación:

De acuerdo al fin que se persigue la investigación tiene un enfoque cuantitativo

b) Nivel de investigación:

El nivel de la presente investigación es Explicativo

4.2 Población y muestra:

a) Población vegetal:

En este estudio se evaluó *Ocimum basilicum L.* “Albahaca”, esta planta se obtuvo del Pedregal la cual está localizada en el distrito de Simbal perteneciente a la provincia de Trujillo, departamento La Libertad.

b) Muestra vegetal:

La muestra obtenida fue de hojas frescas de *Ocimum basilicum L.* “Albahaca”, donde se extrajo por hidrodestilación su aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* en diferentes concentraciones; para poder determinar el efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*.

Criterios de inclusión:

Hojas frescas de *Ocimum basilicum L.*, no expuestas a la luz solar y libre de bacterias.

Criterios de exclusión:

Hojas secas.

c) Población microbiológica:

La bacteria *Staphylococcus aureus* se extrajo de una cepa proporcionada por la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote “ULADECH”.

d) Muestra microbiológica:

La bacteria *Staphylococcus aureus* se aisló para luego aplicar la técnica de Kirby-Bauer y así obtener una cantidad suficiente de dicha bacteria para posteriormente cultivarla en las placas.

Criterios de inclusión:

Libre de contaminación y esterilización del material.

Criterios de exclusión:

Bacterias presentes en el medio ambiente.

4.3. Definición y operacionalización de variables:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDIDA
Dependiente: Efecto antibacteriano	Inhibición del crecimiento de la bacteria.	Se determina a través de la medición de los halos de inhibición.	mm	Cuantitativo de razón.
Independiente: Aceite esencial de <i>Ocimum basilicum L.</i>	Extracción del aceite esencial de <i>Ocimum basilicum L.</i>	Se empleó 3 diferentes concentraciones	5% ,10%,15%	Cualitativo nominales.

4.4. Técnica e instrumentos:

a) Obtención de la muestra:

1. La muestra de *Ocimum basilicum L.* se recolectó del Caserío Pedregal, que está localizada en el distrito de Simbal perteneciente a la provincia de Trujillo, departamento La Libertad; se obtuvo 7 kilos de material vegetal.
2. Se extrajeron las hojas frescas en buen estado para posteriormente lavarlas con agua destilada, eliminando así las bacterias presentes en dicha muestra.

b) Extracción del aceite esencial:

1. Se utilizó el proceso de destilación por el método Clevenger para obtener el aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* ⁽²⁰⁾.
2. El método consiste en introducir las hojas de *Ocimum basilicum L.* con la cantidad suficiente de agua destilada en el balón, luego se colocó dentro del calefactor, donde se terminó de instalar el equipo Clevenger (refrigerante, entrada y salida de H₂O).
3. Durante 45 minutos en el calefactor, se observaron vapores de H₂O y la formación del aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* que iba haciéndose notorio en la perilla.
4. De la muestra se obtuvo un rendimiento de 1 ml de aceite esencial que se conservó en un frasco ámbar.

c) Rejuvenecimiento de la bacteria:

1. La bacteria (*Staphylococcus aureus*) se obtuvo de la Universidad Católica de Chimbote “ULADECH”.
2. Se rejuveneció la bacteria para obtener una muestra pura; aislando *Staphylococcus aureus*.
3. Se esterilizó un asa bacteriológica de siembra por flameado de llama en un mechero y se introduce en un tubo de ensayo donde estaba con agua estéril totalmente desinfectado.
4. Se sembró *Staphylococcus aureus* en una placa Petri.
5. Se colocó en la incubadora por durante 24 horas y se observó el crecimiento de *Staphylococcus aureus*.

d) Escala de McFarland 0.5:

1. Esterilización de los tubos de ensayo con su tapón respectivo en autoclave.
2. Se tomó una muestra de *Staphylococcus aureus* y lo sumergimos en un tubo de ensayo con solución salina totalmente desinfectado y tapado.
3. Se prepararon 10 soluciones utilizando: 1 g de cloruro de bario en 100 mL de H₂O y 0.96 mL de ácido sulfúrico en 99.04 mL de H₂O.

4. Este procedimiento se realiza con el objetivo de observar la turbidez de la bacteria ⁽³¹⁾.

TABLA 01. Escala de MacFarland

NÚMERO	CLORURO DE BARIO	AC. SULFURICO	NÚMERO DE
	mL	mL	CÉLULAS
1	0.1	9.9	$3 \cdot 10^8$
2	0.2	9.8	$6 \cdot 10^8$
3	0.3	9.7	$9 \cdot 10^8$
4	0.4	9.6	$12 \cdot 10^8$
5	0.5	9.5	$15 \cdot 10^8$
6	0.6	9.4	$18 \cdot 10^8$
7	0.7	9.3	$21 \cdot 10^8$
8	0.8	9.2	$24 \cdot 10^8$
9	0.9	9.1	$27 \cdot 10^8$
10	1	9	$30 \cdot 10^8$

Fuente: Escala de MacFarland

e) Preparación del medio de cultivo:

1. Se disolvió 37 g de Agar Müller Hinton en 1L de H₂O destilada, siendo los componentes de Müller Hinton: Infusión de carne 2.0g, Almidón 1.5 g, Peptona de caseína 17,5g y Agar agar 17,0g⁽³³⁾.
2. Se introdujo la solución en un matraz Erlenmeyer para colocarlo en la cocina y empezar a calentar con agitación fuerte y constante hasta punto de ebullición durante 1 minuto. Luego se cubrió con algodón al matraz Erlenmeyer.
3. Se procedió a esterilizar el medio de cultivo en la autoclave donde se sometió a 121°C con temperatura de 15 Libras en un periodo de 15 - 20 minutos.
4. Se dejó enfriar hasta una temperatura de 45°C - 50°C.
5. El ambiente debe estar totalmente esterilizado, con mecheros cerca a las placas para obtener buenos resultados.
6. Se distribuye entre 25 a 30 mL de agar a cada placa .
7. Para el grupo experimental se utilizó tres concentraciones distintas de 5%,10% y 15%, cada concentración tuvo 5 placas con agar.

f) Sembrado de la bacteria *Staphylococcus aureus*.

1. Una vez listo las placas con el agar se pasó a sembrar *Staphylococcus aureus*.
2. El ambiente totalmente esterilizado; se procedió al sembrado de *Staphylococcus aureus* con un asa bacteriológica de siembra por flameado de llama en un mechero.
3. Se extrajo una proporción de la bacteria joven de *Staphylococcus aureus* y se sembró en todas las placas.

g) Incorporación del aceite esencial al medio cultivado:

1. Se utilizó el método de Kirby Bauer, que consiste en agregar los discos Whatman N°5 embebidos de aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* en diferentes concentraciones (5%, 10% y 15%) a las placas Petri ⁽³⁴⁾.
2. La concentración de *Ocimum basilicum L.* al 5%, se diluyo el aceite esencial con dimetilsulfoxido para obtener un 5% donde se agregó 0.05 mL de aceite esencial de *Ocimum basilicum L* con 0.95 mL de dimetilsulfoxido.
3. En la concentración de *Ocimum basilicum L.* al 10%, se mezcló el aceite esencial con dimetilsulfoxido para obtener un 10% donde se agregó 0.1 mL de aceite esencial de *Ocimum basilicum L* con 0.9 mL de dimetilsulfoxido.
4. De la concentración de *Ocimum basilicum L.* al 15%, se diluyo el aceite esencial con dimetilsulfoxido para obtener un 15% donde se agregó 0.15

mL de aceite esencial de *Ocimum basilicum L* con 0.85 mL de dimetilsulfoxido.

5. Se colocó en la incubadora las placas Petri durante 24 horas y se observó los halos de inhibición de cada concentración.

4.5. Plan de análisis:

Para evaluar el efecto antibacteriano de *Ocimum basilicum L*. (ALBAHACA) en *Staphylococcus aureus*; se utilizó análisis de varianza con la prueba Anova que permite comparar la hipótesis nula con la hipótesis alternativa para determinar la diferencia significativa de las tres concentraciones utilizadas (5,10 y 15%), midiendo los halos de inhibió del aceite esencial de *Ocimum basilicum L*. El análisis se realizó en el programa de Microsoft Excel.

4.6. Matriz de consistencia:

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación	VARIABLES	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> “albahaca” frente a <i>Staphylococcus aureus.</i>	Tendrá efecto Antibacteriano <i>in vitro</i> el aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> “Albahaca” frente a <i>Staphylococcus aureus</i>	Determinar el efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> Albahaca frente a <i>Staphylococcus aureus.</i>	<p>Hipótesis alternativa (H1): El aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> “Albahaca” tiene efecto antibacteriano frente a <i>Staphylococcus aureus.</i></p> <p>Hipótesis nula (H0): El aceite esencial de las hoja de <i>Ocimum basilicum L.</i> “Albahaca” no tienen efecto antibacteriano frente a <i>Staphylococcus aureus.</i></p>	Experimental	<p>Dependiente: Efecto antibacteriano</p> <p>Independiente: Aceite esencial de <i>Ocimum basilicum L.</i></p>	Se determina a través de la medición de los halos de inhibición.	<p>Cuantitativo de razón mm</p> <p>Cualitativo Nominal 5% 10% 15%</p>	Prueba estadística Anova

4.7. Principios éticos

Se realizó los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL). En el laboratorio donde se realizó la investigación presenta una serie de riesgos de origen y consecuencias muy variadas, relacionados básicamente con las instalaciones, los productos que se manipulan (energías y organismos vivos) y las operaciones que se realizan con ellos, es por eso que se aplicó los materiales y prevenciones para una mejor eficacia y calidad de la investigación con una buena indumentaria como: un mandil, gorro, guantes, mascarillas y lentes para no contaminar el material esterilizado y unas buenas condiciones climáticas.

V. RESULTADOS:

5.1. Resultados:

TABLA 02. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro por diferentes concentraciones del aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* sobre el cultivo de *Staphylococcus aureus*.

HALOS DE INHIBICIÓN (mm)							
Concentraciones	N ^a de Placas	Discos				Promedio Total ± DS	Significancia
		1	2	3	4		
Aceite esencial de <i>Ocimum basilicum L.</i> al 5%	1	15	13	10	9	11.50 ± 0.53	0.042
	2	11	15	12	10		
	3	12	13	10	12		
	4	10	13	10	11		
	5	11	13	10	10		
Aceite esencial de <i>Ocimum basilicum L.</i> al 10%	1	12	12	11	12	11.95 ± 0.42	
	2	13	12	11	15		
	3	14	10	10	11		
	4	14	11	10	12		
	5	15	12	11	11		
Aceite esencial de <i>Ocimum basilicum L.</i> al 15%	1	10	9	9	9	14.55 ± 0.62	
	2	13	15	20	19		
	3	12	16	17	15		
	4	13	17	17	17		
	5	13	17	16	17		
Control negativo	Dimetilsulfoxido 10%				6 ± 0		

Prueba Anova p<0.05

5.2. Análisis de Resultados:

Se evidencio a través de los cálculos la actividad inhibitoria de la medida de los halos donde las hojas de *Ocimum basilicum L.* tiene actividad antibacteriana en *Staphylococcus aureus*. En el estudio de Beltrán et al. (2013), reporta la actividad antibacteriana de *O. basilicum L. var. álbum* y *O. thyrsoiflorum*; donde demuestra que *Ocimum basilicum L.* presenta principios activos como (E)-cinamato de metilo, linalool y eucaliptol que se caracterizan por presentar actividad antibacteriana, antimicrobiana, antimicótica y antiséptica. En el estudio de Chenni M, evidencio que *Ocimum basilicum L.* por el método de hidrodestilación obtuvo aceites esenciales que fueron linalool (48.4%), seguido de metil chavicol (13.3%) y 1,8-cineol (7.3%).

En la Tabla 02 (anexo 2), se demuestra que se utilizó dimetilsulfoxido como control negativo, obteniendo como resultado que no presenta actividad antibacteriana en la *Staphylococcus aureus*; en el estudio de Rivas et al (2015), composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Ocimum basilicum L.*; uso dimetilsulfoxido como control negativo descartando posible actividad del disolvente contra bacterias, diluyendo aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* a diferentes concentraciones; por tanto es un buen diluyente que se utiliza para obtener aceite esencial en diferentes concentraciones.

En la tabla 02 (anexo 3), se observa que el nivel de significancia de la prueba Anova es $p = 0.042$ la cual es menor a ($p < 0.05$), en la que se demuestra que existe diferencia significativa entre las tres concentraciones de 5%, 10% y 15%, de *Ocimum basilicum L.* en *Staphylococcus aureus*. En la investigación realizada por Guevara et al ⁽³⁵⁾ en Trujillo, para análisis de datos empleó la prueba de Anova para evaluar si existe diferencia significativa entre las concentraciones del aceite esencial que tienen efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enteritidis*, evidenciando que la prueba Anova es una técnica estadística utilizada para tipos de estudios experimentales de diferentes concentraciones de una misma especie ya que Anova nos da un 95% de confiabilidad respecto a su significancia que debe ser menos a $p < 0.05$. Rechazando la hipótesis nula, que el aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* no tiene efecto antibacteriano en *Staphylococcus aureus* y aceptando la hipótesis alternativa que el aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* tiene efecto antibacteriano en *Staphylococcus aureus*.

Los resultados obtenidos nos demuestran que a mayor concentración del aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* mayor efecto inhibitorio. En la investigación de Hernández et al en Cajamarca (2016). Evidencian el aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* Para la dilución del 10 % y del 50% se procedió a determinar el diámetro del halo de inhibición para la dilución del 100%, observándose un sobrepaso de halo de inhibición de 18 mm de diámetro, a todos los halos de inhibición medidos en las diluciones anteriores. Confirmando de este modo el

efecto antibacteriano in vitro que tiene el aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* “albahaca” frente a las cepas de *Escherichia coli* en sus diferentes concentraciones, y alcanzando un efecto mucho mayor cuando el aceite esencial está 100% puro. Lo que demuestra que a mayor concentración de *Ocimum basilicum L.* mayor escala de inhibición y los halos dependerán del tipo de bacteria.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones:

- El aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* “Albahaca” mostro actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* (bacteria Gram positiva).
- Los aceites esenciales de *Ocimum basilicum L.* a diferentes concentraciones al 5%, 10%. 15% mostraron actividad inhibitoria de 11.50 mm, 11.95 mm y 14.55 respectivamente; dando como conclusión que el aceite esencial al 15% tiene mayor actividad inhibitoria frente a *Staphylococcus aureus*.
- Las concentraciones trabajadas de *Ocimum basilicum L* (5%, 10%. 15%), tienen diferencia significativa de $p < 0.042$, lo que quiere decir que las concentraciones utilizadas tienen efecto inhibitorio frente a *Staphylococcus aureus*.

6.2. Recomendaciones:

- Se recomienda el uso adecuado de los medicamentos antibacteriano ya que desencadenan resistencia bacteriana y con ello complican al ser humano, por ello seguir promoviendo el uso de plantas medicinales sería una alternativa viable.
- Es necesario la utilización de *Ocimum basilicum L.* “Albahaca” ya que es un alimento que tiene propiedades antibacterianas y antimicrobianas.
- Se recomienda el estudio de esta planta medicinal “*Ocimum basilicum L.*” para seguir promoviendo el estudio de plantas medicinales en diferentes tipos de bacteria.
- Se recomienda evaluar concentraciones mayores de *Ocimum basilicum L.* para una mejor observación y eficiencia del efecto antibacteriano.
- Se recomienda aplicar otros tipos de métodos para la extracción de aceites esenciales para obtener una mejor exactitud de sus efectos ante diferentes microorganismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Facultad de medicina, Universidad mayor de San Marcos. [Revista Online] Perú 2016. [Consultado 30 marzo 2017]; 77(4):327-332. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/379/37949317002.pdf>
2. Organización mundial de la salud (OMS). [página online]. [citado el 30 marzo 2017]. Disponible en: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/
3. Chávez M, While I, Moctezuma S, Herrera F. Prácticas curativas y plantas medicinales: un acercamiento a la etnomedicina de San Nicolás, México. Universidad granada. [Revista Científica Online]. España 2017. [Consultado 2 mayo 2017]; 56(2): 26-47. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/171/17152020002.pdf>
4. Manual de plantas medicinales formación para el empleo. [Libro online]. Editorial CEP S.L .Madrid.2010. [Consultado 24 octubre 2016]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=10646446&p00=planta+medicinal>
5. Torres V, Castro A. Fitoterapia. Revista de actualización Clínica Investiga. [Artículo Online]. La Paz mar. 2014. [Consultado el 04 julio 2018]. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S230437682014000300001&lng=es.
6. Bazán y, Benites J. Características farmacognósticas de las hojas y cuantificación de flavonoides totales del extracto fluido *tagetes minuta L.* (Huacatay) provenientes del caserío de pedregal, provincia Trujillo, región la libertad. [Tesis]. Universidad

- Nacional de Trujillo. Perú 2014. [Consultado 06 agosto 2017]. Disponible en:
<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3701/Bazan%20Sandoval%2C%20Yovher%20Edwin.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
7. Principios activos de las plantas medicinales. Boletín de noticias. Publicado el 22 de marzo del 2016. [Artículo Online]. [Consultado 02 mayo 2017]. Disponible en:
<https://www.quecursar.com/noticias/principios-activos-de-las-plantas-medicinales-9735.html>
 8. Reid A, et al. Medicinal plants for holistic health and well-being. [Libro Online]. Edited by Namrita Lall 2018. El Servier. [Consultado 20 junio 2018]. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/book/9780128124758>
 9. Martínez J. Las enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes, un tema de interés para todos. [Revista Médica Electrónica Online]. Facultad de ciencias médicas Cuba Octubre 2014. [Consultado 17 Julio 2017]; 36(5): 537-539. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242014000500001&lng=es
 10. Alos J. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. Hospital Universitario de Getafe. Madrid España. [Libro Online] Facultad de Ciencias Biomédicas, Universidad Europea de Madrid, España. Diciembre 2015; [Consultado 07 de junio 2016]. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-resistencia-bacteriana-los-antibioticos-una-S0213005X14003413#elsevierItemBibliografias>
 11. Angles E. Uso racional de antimicrobianos y resistencia bacteriana: ¿hacia dónde vamos? Facultad de Medicina Alberto Hurtado, Universidad Peruana Cayetano Heredia.[Revista Médica Herediana]Lima2018. [Citado 2018 Junio 14]; 29(1): 3-4.

Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2018000100001

12. Rojas M. et al. Caracterización química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. y *Ocimum basilicum* var. *genovese* L. [Revista Online]. 2012 [citado el 8 de agosto del 2017]; 27 (2): 130-134. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v27n2/rpv10212.pdf>
13. Aceites esenciales [página online]. [citado el día 4 del mes de junio del año 2018]. <https://www.vidanaturalia.com/que-son-los-aceites-esenciales/>
14. Coy Carlos, Eunice G. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. [Rev Cubana Plant Med Online]. 2013 [Consultado 14 enero 2018]; 18(2): 237-246. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200007
15. Cardoso G. propiedades del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y sus aplicaciones en alimentos. Departamento de ingeniería química, alimentos y ambiental. [Tesis] Universidad de las américas puebla.2012. [Consultado 04 abril 2016]. Disponible en: [https://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6\(1\)-Cardoso-Ugarte-et-al-2012.pdf](https://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6(1)-Cardoso-Ugarte-et-al-2012.pdf)
16. Rojas M. et al. Caracterización química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. y *Ocimum basilicum* var. *genovese* L. Rev. Protección Veg. [Revista online]. 2012. [citado el 14 enero 2018]; 27(2): 130-134. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000200010

17. Bustos J, Hamdan A, Gutiérrez m. Staphylococcus aureus: la reemergencia de un patógeno en la comunidad.. Departamento de atención a la salud, departamento de ciencias biológicas. Universidad autónoma metropolitana Xochimilco. [Revista biomédica Online]. México. [Consultado 2 mayo 2016]. 17:287-305. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2006/bio064f.pdf>
18. Zendejas G, Avalos H, Soto M. Microbiología general de Staphylococcus aureus: generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, [Rev. Biomédica Online] 2014. [citado 10 abril 2017].Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>
19. Castañón C. Patogenia molecular de Staphylococcus aureus. Evidencia medica investigación de salud. Julio septiembre [Revista Online].2012 [Citad 1 abril 2017]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/evidencia/eo-2012/eo123b.pdf>
20. Moghaddam A, Shayegh J, Mikaili P,Sharaf J. Antimicrobial activity of essential oil extract of Ocimum basilicum L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(15), pp. 3453-3456, 4 August, 2011.
21. Beltrán M, Cantillo M, Vivas A. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales obtenidos de Ocimum basilicum L. var cinammom, O.album, O.thyrsiflorum, para uso potencial en fitocosmetica. [Revista investigaciones Andinas]. Grupo de Investigación en Biotecnología y Biodiversidad 2015. [Consultado 04 junio 2017]. Disponible en <http://www.scielo.org.co/pdf/inan/v15n27/v15n27a07.pdf>
22. Rivas, K, Rivas, C, Gamboa, L. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de albahaca (Ocimum basilicum L.). Multiciencias. Universidad del

- Zulia [Revista Online]. 2015. [Consultado 16 junio 2017]; 15 (3), 281-289 Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/904/90444727006.pdf>
23. Yamani H, Pang E, Mantri N, Deighton M. Antimicrobial Activity of Tulsi (*Ocimum tenuiflorum*) Essential Oil and Their Major Constituents against Three Species of Bacteria. [Revista Online]. [Consultado 24 mayo 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4868837/>
 24. Pozo M, Uso de las plantas medicinales en la comunidad del Cantón Yacuambi durante el periodo Julio-Diciembre. Universidad técnica particular de Loja. [Tesis]. 2011 [Consultado 03 abril 2018]. Disponible en: http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6523/3/Pozo_Esparza_Gladys_Ma-ria.
 25. Hernández M. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” en cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario atendidos en consultorio externo de Urología del Hospital Regional de Cajamarca. [Tesis Online] 2017. [Consultado 24 enero 2018]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/459/FYB-003-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 26. Martínez A. Aceites esenciales. Facultad Química Farmacéutica Medellín, Febrero [Pagina Online] 2003. [Consultado 28 Mayo 2017]. Disponible en: http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias201b.pdf
 27. Martínez M. Elaboración de un pan Gourmet a base de harina de garbanzo y trigo; incorporando albahaca con cualidades nutritivas mejoradas. Universidad autónoma Antonio Narro. [Tesis Online]. México 2015. [Consultado 2 Mayo 2017].

Disponible en:<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7677/T20662%20BARRETO%20MARTINEZ%2C%20MIRIAM%20%2063737.pdf?sequence=1>

28. Raya C. Producción de albahaca, *Ocimum basilicum* L. En ambiente protegido con diferentes marcos de plantación. Universidad autónoma de baja california sur área de conocimiento de ciencias agropecuarias departamento académico de agronomía. [Tesis Online] 2013. [Consultado 29 julio 2017]. Disponible en:<http://biblio.uabcs.mx/tesis/te2929.pdf>
29. Vargas T, Villazante L. Clasificación de los Microorganismos. Revista Actividad Clínica Médica. [Revista Online]. 2014 [Consultado 14 Julio 2017]. Disponible en:
http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S2304-37682014000500002&script=sci_arttext
30. Benítez J. Estudio de la resistencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente e identificación del gen *mecA* por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real empleando el equipo: GeneXpert Cepheid. [Tesis Online] 2014. [Consultado 29 julio 2017]. Disponible en:<http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14463/420758.pdf?sequence=2>
31. López M, características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de las infecciones por *Staphylococcus aureus* adquirido en la comunidad en pediatría. Facultad de medicina Departamento de Pediatría. [Tesis] Madrid, 2012. [Consultado el 25 julio 2017]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/17148/1/T34046.pdf>

32. Patrón de turbidez BBL preparado. McFarland Turbidity Standard No.05. Becton. [Revista Online] España 2005. [Consultado el 12 julio 2018]. Disponible en: http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/8808421%280205%29_es.pdf
33. Mueller Hinton Agar. Laboratorio Britania S.A. [Revista Online]. Caba – Argentina. Publicado en Noviembre 2015. [Consultado 29 julio 2018]. Disponible en: http://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2843836ddd8.pdf
34. Instrucciones de uso medio en placa listo para usar. Becton, Dickinson and Company. [Revista Online]. Alemania Febrero 2017. [Consultado 29 julio 2018]. Disponible en: <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8774>
35. Guevara M. Efecto del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre el crecimiento in vitro de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enteritidis*. Universidad Nacional de Trujillo. [Tesis Online] 2017. [Consultado 13 Junio 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/3463>

ANEXOS

Anexo 01. Procedimientos de la extracción del aceite esencial de *Ocimum basilicum*

L. “Albahaca”, y cultivo de *Staphylococcus aureus*.



Figura N° 1: Recolección de la planta



Figura N° 2: Separación de las hojas frescas de *Ocimum basilicum L.*



Figura N°3: Extracción del aceite esencial



Figura N°4: Esterilización del material a trabajar (Agar)



Figura N° 5: Materiales esterilizados: placas Petri, hisopos, varillas, matraz, etc.



Figura N° 6: pesado del agar Müller Hinton, en dos matraz el total pesado fue 34gramos.

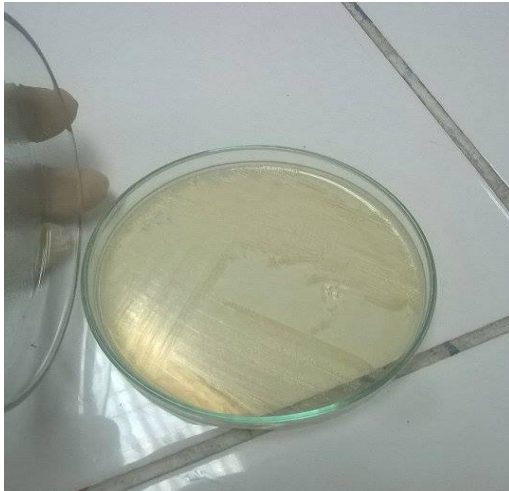


Figura N° 7: técnica del raspado



Figura N° 8: incorporación de discos

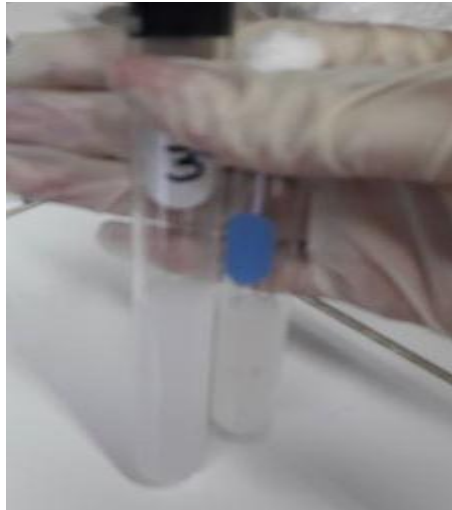


Figura N° 9: Evaluación de turbidez prueba de MacFarland

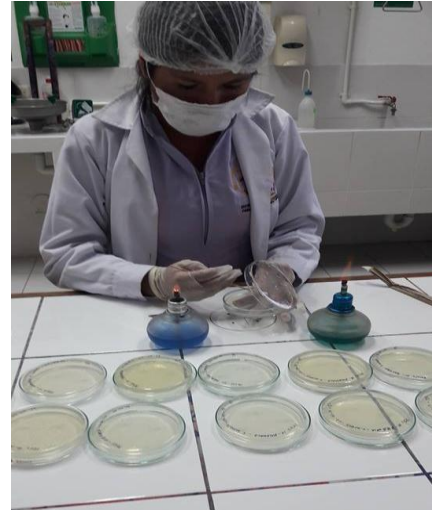


Figura N° 10: Sembrado



Figura 11: Resultados del efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* sobre el cultivo de *Staphylococcus aureus*.

Anexo 02. Prueba de Actividad Antibacteriana del solvente Dimetilsulfoxido al 10% frente a *Staphylococcus aureus*

Control Negativo : Medida de los Halos de inhibición						
	DISCO 1	DISCO 2	DISCO 3	DISCO 4	PROMEDIO	DESVIACION ESTANDAR
PLACA 1	6	6mm	6mm	6mm	6	0
PLACA 2	6	6mm	6mm	6mm	6	0
PLACA 3	6	6mm	6mm	6mm	6	0
PLACA 4	6	6mm	6mm	6mm	6	0
PLACA 5	6	6mm	6mm	6mm	6	0

Anexo 03. Prueba Estadística Anova

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F	Significancia	Valor crítico para F
Entre grupos	27.11	2	13.55	4.187	0.042	3.89
Dentro de los grupos	38.85	12	3.23			
Total	65.96	14				

Anexo 04:

GRAFICO 01. Comparación grafica de las tres concentraciones

