

UNIVERSIDAD NACIONAL DE JAÉN
CARRERA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA CON
ESPECIALIDAD EN LABORATORIO CLÍNICO.



EFFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL ACEITE
ESENCIAL *Dysphania ambrosioides* L. (PAICO) SOBRE
***Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO TECNÓLOGO MÉDICO EN LABORATORIO
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

AUTOR(ES): BACH. SHAROT HARELIZA GUZMÁN FIGUEROA.
BACH. SHEYLA LUCERO ARTEAGA DÍAZ.

ASESOR(ES): MSC. CHRISTIAN ALEXANDER RIVERA SALAZAR
DR. LUIS OMAR CARBAJAL GARCÍA.

JAÉN-PERÚ, MAYO DEL 2022



ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Jaén, el día 14 de junio del año 2022, siendo las 15:00 horas, se reunieron **de manera virtual**, los integrantes del Jurado:

Presidente: Dra. Cinthya Yanina Santa Cruz López

Secretario: Mg. Romel Ivan Guevara Guerrero

Vocal:, Dra. Liliana Bazán Tantaleán, para evaluar la Sustentación del:

- () Informe de Plan de Trabajo de Investigación
- (X) Informe final de Tesis
- () Trabajo de Suficiencia Profesional

Titulado: **“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL *Dysphania ambrosioides* L. (PAICO) SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**, presentado por las bachilleres Sharot Hareliza Guzmán Figueroa y Sheyla Lucero Arteaga Díaz, de la Escuela Profesional de Tecnología Médica de la Universidad Nacional de Jaén.

Después de la sustentación y defensa, el Jurado acuerda:

(X) Aprobar () Desaprobar (X) Unanimidad () Mayoría

Con la siguiente mención:

- | | | |
|----------------|------------|---------------|
| a) Excelente | 18, 19, 20 | () |
| b) Muy bueno | 16, 17 | () |
| c) Bueno | 14, 15 | (15) |
| d) Regular | 13 | () |
| e) Desaprobado | 12 ò menos | () |

Siendo las 16:35 horas del mismo día, el Jurado concluye el acto de sustentación confirmando su participación con la suscripción de la presente.

Dra. Cinthya Yanina Santa Cruz López
Presidente

Mg. Romel Ivan Guevara Guerrero
Secretario Jurado Evaluador

Dra. Delicia Liliana Bazán Tantaleán
Miembro Jurado Evaluador

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	3
ÍNDICE DE FIGURAS	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
I. INTRODUCCIÓN	7
II. OBJETIVOS.....	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSIÓN.....	21
VI. CONCLUSIÓN	26
VII. RECOMENDACIONES	27
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
Anexo 1.....	35
Anexo 2.....	36
Anexo 3.....	37
Anexo 4.....	39
Anexo 5.....	40
Anexo 6.....	45
Anexo 7.....	46
Anexo 8.....	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>D. ambrosioides</i> L. (paico) a concentraciones de 100%, 80% y 60% sobre <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	18
Tabla 2. Comparación del efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>D. ambrosioides</i> a las concentraciones de 100%, 80% y 60% con Vancomicina sobre <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	20
Tabla 3. Medición del diámetro del halo de inhibición del crecimiento de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	39
Tabla 4. Análisis de varianza para los aceites esenciales según sus porcentajes.....	43
Tabla 5. Prueba Pos Anva evidencia diferencias significativas entre las concentraciones de aceites esenciales.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Comportamiento de la medición del diámetro (mm) del halo de inhibición del crecimiento de la cepa de <i>S.aureus</i> ATCC 25923 en las repeticiones.....	39
Figura 2. Diámetro del halo según grado de susceptibilidad antibacteriana y aceite esencial al 60%, 80% y 100%.....	41
Figura 3. Según la prueba de Kolmogorov-Smirnov, para un valor p de $0.115 > 0.05$, se acepta la hipótesis nula	42
Figura 4. Según la prueba de Levene para un valor p de $0.224 > 0.05$, se acepta la hipótesis nula, llegando a la conclusión que las varianzas entre los grupos son iguales	43
Figura 5. Cepa certificada de <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	47
Figura 6. Reactivación e aislamiento de la cepa certificada de <i>S. aureus</i> ATCC 25923.....	47
Figura 7. Clima, vegetación y ubicación geográfica del Centro Poblado San Luis del Milagro Jaén-Cajamarca.....	47
Figura 8. Selección de plantas enteras de <i>D. ambrosioides</i> (paico).	49
Figura 9. Extracción del aceite esencial de <i>D. ambrosioides</i> (paico).	49
Figura 10. Centrifugación para la extracción del aceite esencial de <i>D. ambrosioides</i> (paico).	50
Figura 11. Dilución y antibiograma.....	52
Figura 12. Halos de inhibición ocasionados por el aceite esencial de <i>D. ambrosioides</i> (paico) a las concentraciones de 100%, 80% y 60% frente a <i>S. aureus</i>	53

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo determinar el efecto antibacteriano a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Dysphania ambrosioides* L. (paico) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; el aceite esencial se obtuvo por el método de destilación por arrastre de vapor, a partir de las hojas, tallos y semillas de *Dysphania ambrosioides* L. Las concentraciones utilizadas del aceite esencial fueron de 100%, 80% y 60%, las cuales se obtuvieron mediante el método de dilución con etanol. Para determinar la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* se empleó cultivos puros de éste y se determinó mediante la técnica de disco difusión. El estudio estuvo conformado por cinco grupos: 1 grupo control positivo (vancomicina), 1 grupo negativo (alcohol) y tres grupos de tratamiento a diferentes concentraciones del aceite esencial al 100%, 80% y 60%; de cada grupo se realizó 10 repeticiones constituyendo un total de 50 unidades experimentales. Como resultado se obtuvo que *Staphylococcus aureus* presentó diámetros de 15,7 mm; 11 mm y 7,9 mm para las concentraciones de 100% ,80% y 60% respectivamente. Se concluyó que la concentración al 100% del aceite esencial de *Dysphania ambrosioides* L. (paico) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ocasionó mayor sensibilidad.

Palabras claves: *Dysphania ambrosioides*, *Staphylococcus aureus*, vancomicina.

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the antibacterial effect at different concentrations of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* L. (paico) on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; the essential oil was obtained by steam distillation from the leaves, stems and seeds of *Dysphania ambrosioides* L. The essential oil concentrations used were 100%, 80% and 60%, which were obtained by the ethanol dilution method. To determine the sensitivity of *Staphylococcus aureus*, pure cultures of the latter were used and determined by the diffusion disc technique. The study consisted of five groups: 1 positive control group (vancomycin), 1 negative group (alcohol) and three treatment groups at different concentrations of essential oil at 100%, 80% and 60%; 10 repetitions were performed from each group, constituting a total of 50 experimental units. As a result, it was obtained that *Staphylococcus aureus* presented diameters of 15.7 mm; 11 mm and 7.9 mm for the concentrations of 100%, 80% and 60% respectively. It was concluded that the 100% concentration of the essential oil of *Dysphania ambrosioides* L. (paico) on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 caused greater sensitivity.

Keywords: *Dysphania ambrosioides*, *Staphylococcus aureus*, vancomycin.

I. INTRODUCCIÓN

La piel y sus anexos constituyen la principal barrera estructural de defensa del organismo frente a agentes externos. Entre los factores que pueden alterar este equilibrio y favorecer las infecciones cutáneas destacan el deterioro de la integridad de la piel, la falta de higiene, el hacinamiento, la humedad y las inmunodeficiencias. Las infecciones cutáneas constituyen un motivo de consulta frecuente en atención primaria, tanto en adultos como en niños. Las bacterias más prevalentes en las infecciones de la piel son *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*¹.

El *Staphylococcus aureus*, el cual es un coco Gram positivo, en la actualidad es conocido como uno de los más perniciosos patógenos que causan infecciones en hospitales a nivel mundial. Este puede encontrarse en alrededor de un 20% de personas hospitalizadas y en un 16% al personal propiamente del hospital. Los seres humanos son su principal reservorio, por lo que puede ser aislada tanto de las fosas nasales y piel de este huésped. Los estudios realizados dan a conocer que aproximadamente del 10 al 40 % de los niños y adultos son portadores nasales de *Staphylococcus aureus*, además, es capaz de sobrevivir alrededor de 12 días en áreas inanimadas².

En el Perú existe una gran variedad de flora, sin olvidar que un tercio son endémicas, debido a los diferentes nichos ecológicos, es así que plantas curativas son parte del conocimiento milenario o tradicional del país y en la posteridad con investigaciones se encontró cura para diversas enfermedades. Como es el caso de *Dysphania ambrosioides*, conocido como paico, la cual es correspondiente a la familia *Amaranthaceae*³.

Se han propuesto variados tratamientos farmacológicos para las infecciones por *Staphylococcus aureus*, ya sea por la generación de resistencia antimicrobiana, o por el rechazo del paciente frente a los tratamientos prolongados. Hoy en día se plantea con fuerza el uso y aplicación de la medicina natural para el cuidado y la restauración de la salud, y uno de ellos son los aceites esenciales con propiedades antimicrobianas⁴. Algunas de las aplicaciones en cuanto a inhibición microbiana

a partir de aceites esenciales, han demostrado eficacia frente a varios patógenos como es el *Staphylococcus aureus*⁵.

Actualmente se han realizado diversas investigaciones con la finalidad de evaluar el efecto de distintas plantas con propiedades medicinales frente a múltiples microorganismos causantes de las enfermedades más frecuentes, utilizando los principios activos que estas plantas poseen, como lo investigado por Lezama³, sobre el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) sobre *Staphylococcus aureus*. 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%. Los diámetros de los halos de inhibición para las concentraciones de 25%, 75%, control positivo y control negativo fue 19,6 mm; 25,2 mm; 28,9 mm; y 6 mm respectivamente. El efecto antibacteriano se evaluó mediante el método de Kirby-Bauer. Por lo tanto, Lezama en base a sus resultados concluyó que el aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) sí presenta efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus*.

Chambi y Pacheco⁶, investigaron sobre la 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*, *Pseudomona aeruginosa* y *Candida albicans*. La obtención del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) lo realizó por el método de destilación por arrastre de vapor de agua, mientras que, para la obtención del extracto, utilizó como método la extracción con Soxhlet. Para ambos productos utilizó hojas frescas de *Chenopodium ambrosioides* L. y determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), y a partir de esta la concentración bactericida mínima (CBM). Los resultados finales de la CMI y CBM para el extracto de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) frente a las diferentes cepas microbianas fue de 150 mg/ml sobre *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* y de 75mg/ml para *Candida albicans*, no observo efecto alguno sobre *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*. Tuvo como resultado para el aceite esencial evaluado mediante el método de microdilución fueron de 25 µL/mL para

Staphylococcus aureus, 20 µL/mL para *Staphylococcus epidermidis*, 35 µL/mL para *Escherichia coli* y 30 µL/mL para *Candida albicans*. En el caso de *Pseudomona aeruginosa* no se obtuvo ningún efecto.

Rivas⁷, evaluó la eficacia antibacteriana de extractos de *Chenopodium ambrosioides* a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina, realizó un total de 10 repeticiones para cada extracto y el fármaco. Para la obtención de los extractos utilizó las hojas de *Chenopodium ambrosioides* y usó el método de decocción para extracto acuoso y de maceración para el extracto etanólico, para identificar el efecto antibacteriano usó el método de Kirby Bauer. Como resultado del extracto acuoso, obtuvo halos de inhibición de 21,2mm; 24,8mm; 26,1mm y 27mm respectivamente, para el extracto etanólico halos de 20,5mm; 24,6mm; 25,2mm y 28,1mm respectivamente y halo de 26,3mm para oxacilina. Concluyo en que los extractos de *Chenopodium ambrosioides* si presentan efecto antibacteriano.

Es así que, la obtención de aceite esencial de *Dysphania ambrosioides* (paico) brinda una nueva alternativa de solución a los problemas causados por los microorganismos, orientando su uso en el futuro como agente antimicrobiano, de esta manera la industria desarrolla productos a bajos costos y accesibles a la población y así contrarrestar los daños producidos por los microorganismos causantes de infecciones ⁴.

Teniendo en cuenta la problemática originada por *Staphylococcus aureus* y el uso de los aceites como medicina alternativa al tratamiento farmacológico actualmente, es que se usó el aceite esencial de *Dysphania ambrosioides* (paico) el cual se obtuvo tanto del tallo, hojas y semillas, con el cual se demostró el efecto antibacteriano de dicho aceite sobre cepas de *S. aureus* ATCC 25923.

Esta investigación permitirá a la comunidad científica, a la Universidad Nacional de Jaén y a otros investigadores utilizar este aceite para tratamiento de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*; dicha investigación también beneficiará a la población ya que sería importante el uso de estos aceites naturales, vegetales para mejorar la calidad de vida y así evitar los efectos colaterales que los medicamentos

pueden ocasionar en el organismo humano. Por esta razón se quiere aportar con este trabajo de investigación, y por ende se planteó la siguiente interrogante: ¿Cuál es el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Dysphania ambrosioides* L. (paico) sobre *Staphylococcus aureus* de la American Type Culture Collection (ATCC 25923)?

II. OBJETIVOS

Objetivo General:

Evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *D. ambrosioides* L. (paico) sobre la cepa de *S. aureus* ATCC 25923.

Objetivos Específicos:

- a) Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *D. ambrosioides* L. (paico) a concentraciones de 100%, 80% y 60%, sobre *S. aureus* ATCC 25923, mediante el método de discos de difusión (Kirby-Bauer).
- b) Comparar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *D. ambrosioides* a las concentraciones 100%, 80% y 60% con vancomicina sobre *S. aureus* ATCC 25923.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Población, muestra y muestreo

Población vegetal

Se trabajó con muestra procedente del centro poblado San Luis del Milagro, perteneciente al distrito de Jaén, provincia de Jaén, departamento de Cajamarca ubicado a una altitud de 1267 msnm⁸, con lo cual se realizó la extracción del aceite esencial para el presente trabajo.

Muestra vegetal

Se utilizó 8.00 kg de hojas de *D. ambrosioides* (paico).

Población microbiológica

El material biológico estuvo conformado por cepas de la bacteria de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, adquirida del laboratorio GenLab del Perú SAC., la cual estuvo expuesta a diferentes concentraciones del aceite esencial obtenido de *D. ambrosioides* (paico).

Muestra microbiológica

Se trabajó con cepas de *S. aureus* ATCC 25923.

El muestreo que se realizó fue no probabilístico de tipo intencional y a conveniencia del investigador.

Criterios de inclusión

Placa Petri con la cepa de *S. aureus* ATCC 25923 preservada y certificada. Obtenida del laboratorio GenLab del Perú SAC.

Criterios de exclusión

Tenemos a los cultivos que presentaron contaminación con otros microorganismos (distintas bacterias u hongos utilizados), también placas Petri de cepas de *S. aureus* atenuadas con escasa actividad para formar unidades formadoras de colonias; asimismo cepas que no crecieron en los medios de cultivos diferenciales y selectivos.

3.2. Variables de estudio

Variable independiente:

Concentraciones del aceite esencial de *D. ambrosioides* (paico) al 100%, 80% y 60%.

Variable dependiente:

Cepa de *S. aureus* ATCC 25923.

Operacionalización de variables (Ver anexo 1)

3.3. Métodos, técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos.

3.3.1. Método de Recolección de Datos

En el presente trabajo de investigación se utilizó el método deductivo ya que este nos permite formular juicios partiendo de argumentos generales para demostrar, comprender o explicar los aspectos particulares de la realidad ⁹.

3.3.2. Tipo de investigación

El tipo de investigación fue: Básica ⁹.

Se la conoce también como investigación pura o teórica ya que su propósito es formular teorías a través del hallazgo de amplias generalizaciones o principios; es decir, desarrollar nuevos conocimientos o modificar los principios teóricos ya existentes, incrementando los saberes científicos ⁹.

3.3.3. Diseño de Investigación

Experimental: es aquella donde se realiza la manipulación de una o varias variables, en condiciones de riguroso control, con la finalidad de detallar el modo y las causas por las cuales se ha producido un determinado hecho o fenómeno ⁹.

3.3.4. Técnicas de recolección de datos

Como técnica de recolección de datos se empleó la observación sobre las variables a evaluar. Se realizó pruebas experimentales a nivel de laboratorio para realizar todo el procedimiento y luego se recopiló toda la información en una ficha de registro (Ver anexo 2), la cual fue llenada por el personal responsable de la investigación.

3.3.5. Instrumento de recolección de datos

Como instrumento se utilizó un registro de datos titulado: lectura del cultivo de Mueller Hinton con las concentraciones de 100%, 80% y 60% (Ver anexo 2).

Registro de datos: Nos permitió obtener el registro de los resultados de los halos de inhibición del crecimiento de *S.aureus* que ocurrieron durante el desarrollo del experimento. El instrumento fue llenado por el personal encargado de la investigación.

3.3.6. Procedimiento para la recolección de datos.

3.3.6.1. Reactivación de la cepa certificada de *S.aureus* ATCC 25923.

La cepa certificada de *S.aureus* ATCC 25923 se obtuvo del Laboratorio GenLab del Perú SAC (Ver anexo 3). El proceso de activación de *S.aureus* se llevó a cabo en el laboratorio clínico “Solidaridad”.

Para la activación de *S. aureus* (ATCC 25923), se procedió a la esterilización del ambiente, se empezó abriendo los liofilos que se encontraban dentro de un vial de plástico que le servía como protección, el cual contenía a la cepa *S.aureus* (ATCC 25923), un fluido de hidratación y un hisopo estéril. Se procedió a romper el fluido de hidratación, luego se hizo la homogenización de la cepa *S.aureus* con el fluido para poder activarlas. Finalmente se sembró (por estría) en agar sangre y agar Manitol salado con el asa bacteriológica. Luego se llevó a incubar a 37° por 24 horas logrando el crecimiento bacteriano ³.

3.3.6.2. Recolección de la muestra biológica

La muestra de *D. ambrosioides* (paico) se recolectó del centro poblado “San Luis del Milagro”, pertenece al distrito de Jaén, provincia de Jaén, departamento de Cajamarca; las cuáles fueron certificadas por el *Herbarium Truxillense* (Ver anexo 4), de la Universidad Nacional de Jaén. Cuenta con un clima variado y abundante vegetación dentro de ellas el paico que fue recolectado durante el mes de octubre para la ejecución del proyecto. El lugar de recolección de muestra se encuentra a una altitud de 1267 msnm, con una latitud de -5.729204 y una longitud de -78.854880 y se eligió debido a que en la comunidad se da el crecimiento

abundante de esta planta y es aprovechada por los pobladores para uso comestible y medicinal ⁸ (Ver anexo 8).

Existen diversos factores que pueden afectar la producción de sus metabolitos como por ejemplo el clima principalmente, el tipo de suelo, la altura, la estación o periodo de año.

Todas las plantas de *D. ambrosioides* (paico) recolectadas para la extracción del aceite esencial fueron únicamente frescas y verdes, desechando aquellas que estaban marchitadas, amarillas o secas.

3.3.6.3. Obtención del aceite esencial de *D. ambrosioides* (paico)

Se seleccionaron tanto las hojas como los tallos y las semillas de *D. ambrosioides* (paico) que se encontraban en buenas condiciones fitosanitarias, las cuales fueron previamente limpiadas del polvo o tierra adherida en estas y luego se realizó el lavado con la finalidad de eliminar algunos residuos que hayan quedado y que puedan interferir con la extracción. Finalmente se dejó sobre papel toalla en una superficie plana y se dejó ventilar a temperatura ambiente para eliminar el exceso de humedad ⁴.

La extracción de aceite esencial se llevó a cabo en el equipo de destilación de arrastre por vapor; en la cual se colocó en un matraz kitazato 300 gr entre hojas, tallos y semillas de paico y 500 ml de agua destilada; se puso a fuego medio con un mechero Bunsen, se dejó calentar hasta alcanzar la temperatura de ebullición del agua (100° C). Pasado 60 minutos, se observó gotas cayendo en la pera de decantación, las cuales fueron una mezcla de aceite más agua. Cuando se empezó a llenar la pera de decantación se procedió a decantar el agua gota a gota dentro de un vaso precipitado o Biker, regulando la llave de paso que se encuentra en el extremo inferior de esta de la pera. El líquido que se recolectó en la pera de decantación, aun no fue aceite esencial puro.

Para una mejor separación de la menor porción de agua y aceite que quedó se recolectó en crioviales y se llevó a centrifugar (microcentrífuga) a 12 000 rpm por un promedio de 4 minutos.

Al término de este procedimiento con una micropipeta se extrajo el aceite con mucho cuidado. El tiempo de una primera extracción fue de 90 a 100 minutos contándose desde el instante en que cayó la primera gota ⁴.

Sin embargo, cabe recalcar que en promedio se extrajo aceite esencial de 8 kilos de paico. Por lo tanto, el tiempo promedio de todas las extracciones que se realizaron fue de 40 horas para extraer un total de 300 ul de aceite esencial de *D. ambrosioides* (paico).

3.3.6.4. Preparación de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *D. ambrosioides* (paico)

Volumen de aceite esencial	Volumen de etanol al 76°	Volumen final	Concentración (%)
60 ul	40 ul	100 ul	60%
80 ul	20 ul	100 ul	80%
100 ul	-	100 ul	100%

Para la preparación de las diferentes concentraciones del AE de *D. ambrosioides* (paico) se utilizó etanol de 76°. Para obtener la concentración de 60% se colocó en un criovial 60 ul de aceite esencial y se le agregó 40 ul de etanol; mientras que para la concentración de 80% se colocó en otro criovial 80 ul de aceite esencial y se le agregó 20 ul de etanol. En la concentración al 100% no se realizó ninguna dilución debido a que es aceite puro.

3.3.6.5. Determinación del efecto inhibitorio de AE de *D. ambrosioides* (paico) sobre *S. aureus*.

Para la determinación del efecto inhibitorio se seleccionaron de 4 a 5 colonias bien aisladas, las cuales fueron del mismo tipo morfológico de cada cultivo en placa. Luego con un asa bacteriológica en aro bien esterilizada se tomaron las superficies de cada colonia y se las transfirió a un tubo de ensayo que contenía de 4 a 5 ml de solución salina estéril. La suspensión preparada tuvo

aproximadamente 1.5×10^8 UFC/ul según el tubo n° 0.5 del nefelómetro de MacFarland ¹⁰.

Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, el cual se rotó varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo.

Luego se realizó la siembra del inóculo sobre la superficie seca de la placa de Mueller Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Antes de colocar los discos se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para que cualquier exceso de humedad superficial sea absorbido ¹⁰.

Preparación de los discos de sensibilidad

La elaboración de los discos de sensibilidad se realizó a base de papel Whatman N°01 o papel filtro, además estos discos tenían que contar con un diámetro de 5 mm. Los discos ya elaborados se colocaron en una placa petri y se llevaron a esterilizar al horno a una temperatura de 160 °C durante 15 minutos. Posteriormente los discos se mantienen dentro de la placa estéril hasta el momento de su uso.

Aplicación de los discos de sensibilidad

Una vez esterilizados los discos de sensibilidad, estos fueron humedecidos por un tiempo de 10 segundos, es decir, se sumerge el disco solo hasta que se humedezca con las concentraciones del aceite esencial de paico para luego utilizarlos en la prueba de susceptibilidad ¹⁰.

Se utilizaron 5 discos individuales, los cuales se colocaron dentro de las placas sobre la superficie del Agar Mueller Hilton con la ayuda de una pinza esterilizada presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar ¹⁰.

La distribución de los discos en la placa con agar se realizó uniformemente de tal manera que la distancia mínima entre disco y disco fue de 25 mm. Según las normas de la organización mundial de la salud el diámetro de los

discos debe ser de 6 mm y además nos menciona que no deben colocarse más de 12 discos en una placa de 150 mm, ni más de 6 discos en una placa de 100 mm de diámetro interno, para evitar la superposición de las zonas de inhibición. Un disco no debe ser removido una vez que tomó contacto con la superficie del agar debido a que algunos antibióticos se difunden rápidamente¹⁰.

Los controles que se utilizaron para *S. aureus* son: un control positivo con vancomicina y otro control negativo con etanol de 76°.

Lectura

Después de la aplicación de los discos las placas fueron llevadas a incubar a 37 °C por un período de 24 horas; finalmente se realizó la lectura de los resultados, cuya lectura se llevó a cabo a las 24 horas. Para ello se midieron los halos de inhibición completos, incluyendo el diámetro del disco del papel filtro, para esta medición se utilizó una regla y además la parte posterior de la placa Petri se mantuvo iluminada con una luz que refleje y que este localizada a unos cuantos centímetros sobre un fondo negro y se tuvo 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 ¹⁰.

3.4. Análisis de los datos

Los datos fueron procesados con ayuda del programa Statistical Package for the Social Sciences SPSS® para Windows® versión 23 y Microsoft Office Excel y Word ® 2016. Las diferencias estadísticas se evaluaron mediante el análisis de varianza (ANOVA); la desviación estándar; y, el test de Tukey para comparaciones múltiples, con significancia estadística de $P < 0,05$ para comparar las diferencias entre las medias de las diferentes concentraciones y el control positivo ¹¹.

IV. RESULTADOS

La primera tabla, muestra los promedios de los diámetros del halo de inhibición del crecimiento de la cepa de *S. aureus* ATCC 25923, según su porcentaje de aceite esencial. La prueba Tukey muestra diferencias significativas entre las medias del diámetro de los halos a diferentes niveles de aceite esencial, siendo al 100% el que mayor efecto tuvo, es así que se obtuvo un mayor diámetro del halo de inhibición de la cepa de *S. aureus* ATCC 25923, a un nivel de significancia del 95%. Se observa, que los halos con mayores diámetros se presentan con el control positivo, (vancomicina) con un promedio de 23 mm, seguidos con el aceite esencial al 100% con un promedio de 15.7 mm; y los halos con menor diámetro presenta el aceite esencial al 60% con un promedio de 7.9 mm. Las variables A, B, C y D se utilizaron en la Media para indicar el orden de las diferencias del diámetro de los halos, es decir, las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Tabla 1. Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *D. ambrosioides* L. (paico) a concentraciones de 100%, 80% y 60% sobre *S. aureus* ATCC 25923.

Grupos de Investigación	Número de placa	Media del diámetro de los halos de inhibición (mm)	Desviación estándar	Cv%	IC de 95%
Control positivo (Vancomicina)	10	23 ^A	1.633	7.1	(21.713; 24.287)
Control negativo	10	0	0	0	0
<i>AE Dysphania ambrosioides L. al 60%</i>	10	7.9 ^D	1.663	21.1	(6.613; 9.187)
<i>AE Dysphania ambrosioides L. al 80%</i>	10	11 ^C	2.582	23.5	(9.713; 12.287)
<i>AE Dysphania ambrosioides L. al 100%</i>	10	15.7 ^B	2.003	12.8	(14.413; 16.987)

*AE: Aceite esencial

En la segunda tabla, se observa el diámetro del halo según grado de susceptibilidad antibacteriana y aceite esencial al 60%, 80% y 100%.

Se observa la frecuencia relativa de la población: **fi**, indicando el total de repeticiones, ya sean sensibles, intermedio o resistente; es decir, tomando en cuenta las tres concentraciones: del 100% de mediciones; la concentración de 100% nos muestra un 22.5% de sensibilidad según el grado de susceptibilidad antibacteriana colocándose en el nivel sensible, ya que de acuerdo a las repeticiones 9 fueron sensibles y 1 repetición intermedio, lo cual demuestra una alta efectividad del aceite esencial al 100% sobre *S. aureus*; mientras que la concentración de 80% muestra el 15% de sensibilidad colocándose en el nivel intermedio con 6 repeticiones intermedias y 4 resistentes, lo cual demuestra que el aceite esencial a esta concentración no es tan efectivo (el tamaño de los halos de inhibición son intermedios); y por último tenemos la concentración de 60% como resistente con un 25% ya que las 10 repeticiones resultaron resistentes. Por lo tanto, esto nos evidencia descriptivamente que el aceite esencial al 100% es el más efectivo.

Tabla 2. Comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *D. ambrosioides* a las concentraciones de 100%, 80% y 60% con Vancomicina sobre *S. aureus* ATCC 25923.

Grado de susceptibilidad antibacteriana	Vancomicina		<i>AE Dysphania ambrosioides</i> L. al 100%		<i>AE Dysphania ambrosioides</i> L. al 80%		<i>AE Dysphania ambrosioides</i> L. al 60%		Total	
	fi	%	fi	%	fi	%	fi	%	fi	%
Sensible	10	25	9	22,5	0	0	0	0	19	47.5
Intermedio	0	0	1	2.5	6	15	0	0	7	17.5
Resistente	0	0	0	0	4	10	10	25	14	35
Total	10	25	10	25	10	25	10	25	40	100

*AE: Aceite esencial

V. DISCUSIÓN

En la actualidad los aceites esenciales son muy utilizados en tratamientos, ya que poseen propiedades antiinflamatorias, antiinfecciosas (antibacterianas, antivirales y fungicidas), así mismo en diversas industrias, tales como la cosmética, la farmacéutica, plaguicidas, productos de limpieza. Esto se debe a que son productos naturales, de fácil adquisición y de bajo costo ¹².

Por ello el propósito del presente trabajo de investigación fue determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial *D. ambrosioides* (paico) sobre cepas de *S. aureus* ATCC 25923, ya que *S. aureus*, forma parte de la microbiota comensal del ser humano; es un microorganismo que coloniza la piel y las mucosas de distintas localizaciones del cuerpo, estimándose que el 30 % de la población mundial es portadora, siendo un factor de riesgo para desarrollar una infección. El principal nicho en el que se puede aislar *S. aureus* es el vestíbulo anterior de las fosas nasales, aunque también se puede recuperar de otras localizaciones como la piel, manos, perineo, ingle, vagina, orofaringe, faringe y axilas, tanto en el ser humano como en otras especies animales ¹³.

Según el estudio realizado durante la ejecución de la investigación los resultados que se obtuvieron fueron que, los halos con mayores diámetros se presentan con el control positivo y el aceite esencial a la concentración del 100%, observándose claramente que el aceite esencial puro es el más eficaz para el tratamiento contra *S. aureus* ATCC 25923.

Al evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la planta completa de paico sobre *S.aureus*, mediante la técnica de difusión en agar (kirby – Bauer), se evidenció que este aceite esencial de paico a concentración de 100% inhibió el crecimiento de *S.aureus*. Según lo investigado por **Lezama**³, quien determinó el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) sobre *S.aureus*, en donde se evidenció que mientras el AE sea más puro hay mayor efecto inhibitorio; demostrándose así que el aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (paico) sí presenta efecto

antibacteriano *in vitro* sobre *S.aureus*. Esto se debe a los principios activos del paico, ya que su poder antibacteriano se encuentra compuesto de alto ascaridol.

La razón por la cual coinciden los resultados es porque se usó la misma metodología y el mismo tipo de extracción, a diferencia de las concentraciones; además que en la presente investigación se utilizó la planta en su totalidad (hojas, tallos y semillas) en la extracción del aceite esencial con la finalidad de lograr una mayor cantidad de aceite y una mayor concentración de sus metabolitos ya que de esto depende su efectividad antibacteriana, en cambio Lezama³ trabajó solo con las hojas de paico.

En estudios previos acerca del paico, mencionan que el ascaridol (Peróxido Terpénico) constituye el 75-80% del aceite, siendo este el componente con actividad antihelmíntica y antibacteriana. En diferentes países de América Latina se reporta su empleo tradicional como vermífugo, emenagogo, abortivo, antiasmático, sudorífero, etc. También se le ha reportado actividad antifúngica y antibacteriana frente a *Pseudomona aeruginosa* y *S.aureus*¹⁴.

Otro compuesto con porcentaje significativo del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* es el Limoneno con 29,7%, y otros de menor significancia como: trans-p-Mentha-2,8-dien-1-ol (10,86%), p-Cymene (8,92%), α -Terpineno (8,83%), trans-p-Mentha-1 (7), 8-dien-2-ol (6,90%), cis-p-Mentha-28-dien-2-ol (4,85%), Carveol (1,28 %), cis-piperitol (1,20%)¹⁵.

De acuerdo a este segundo punto llevado a la práctica, los resultados obtenidos muestran los diámetros de los halos de inhibición de acuerdo a las concentraciones del aceite esencial al 100%, 80% y 60%; donde se observan diferentes diámetros de los halos, siendo el aceite esencial al 100% el que tuvo mayor efectividad sobre esta bacteria.

Dicho resultado obtenido se comparó con lo investigado por **Chambi y Pacheco**⁶, quienes investigaron sobre la evaluación del efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto y el aceite esencial de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) en Cepas de *S.aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*,

Pseudomona aeruginosa y *Candida albicans*. Cuyo objetivo fue analizar 5 cepas de cada tipo microbiano, con el extracto y el aceite esencial de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. Para la obtención del extracto etéreo se utilizó como método la extracción con Soxhlet, mientras que para la obtención del aceite esencial de *Chenopodium Ambrosioides* L. (paico) se realizó por el método de destilación por arrastre de vapor de agua. Los resultados finales de la CMI y CBM para el extracto etéreo de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) frente a las diferentes cepas microbianas fué de 150 mg/mL sobre *S.aureus* y *Staphylococcus epidermidis* y de 75mg/mL para *Cándida albicans*, no observándose efecto alguno sobre *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*. Los valores para el aceite esencial fueron de 25 µL/mL para *S.aureus*, 20 µL/mL para *Staphylococcus epidermidis*, 35 µL/mL para *Escherichia coli* y 30 µL/mL para *Cándida albicans*. En el caso de *Pseudomona aeruginosa* no se obtuvo ningún efecto.

En este caso según la investigación de los autores Chambi y Pacheco⁶ se ha demostrado que a mayor concentración de la muestra ya sea como extracto o aceite esencial va haber mayor efectividad inhibitoria ya que su estudio demostró mayor efectividad contra *S. aureus* con el extracto etéreo y con el aceite esencial; esto se debe a que en el extracto los componentes de la planta de paico se encuentran mayormente concentrados, por ello es que se optó por realizar la extracción del aceite esencial utilizando tanto las hojas, el tallo y las semillas del paico.

Por último, se realizó la comparación del efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *D. ambrosioides* a las concentraciones de 100%, 80% y 60% con vancomicina sobre *S. aureus* ATCC 25923. El mecanismo de acción de los aceites esenciales contra microorganismos es complejo y aún no ha sido del todo entendido y explicado. El modo de acción de los AE también dependerá del tipo de microorganismos y esta principalmente relacionado con la estructura de la pared celular y la membrana externa de los mismos. Hasta hoy se han logrado reportar diversos trabajos de investigación con aceites esenciales de *D. ambrosioides* (paico), en los cuales han hecho referencia a su poder inhibitorio frente a microorganismos como *S.aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*,

entre otros. Ciertos aceites son activos frente a bacterias, pero no frente a hongos¹⁶.

Mientras que la vancomicina es el antibiótico alternativo en el tratamiento de las infecciones severas causadas por *S. aureus* que poseen resistencia a meticilina (MRSA), *Staphylococcus* coagulasa negativos, incluido *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) y *Enterococcus sp.* resistentes a penicilinas¹⁷. Según su mecanismo de acción es bactericida debido a que inhibe la biosíntesis de la pared celular, interfiere en la síntesis de RNA y daña las membranas citoplasmáticas, siendo quizás este mecanismo dual el responsable de que la resistencia a la vancomicina sea muy poco frecuente¹⁸.

Al realizar la comparación mediante la práctica, obtuvimos los siguientes resultados, en los que se observa el diámetro del halo según grado de susceptibilidad antibacteriana y aceite esencial al 60%, 80% y 100%. Para llevar a cabo la comparación se realizaron 10 repeticiones de cada concentración de las cuales sus resultados fueron diferentes y se clasificaron como sensibles, intermedio o resistente. La lectura de los resultados nos demostró que el aceite esencial a la concentración de 100% provocó una efectividad mucho mayor a comparación de las demás concentraciones, esto quiere decir que el aceite esencial puro tiene una sensibilidad similar a la del control positivo sobre la cepa de *S. aureus*. El aceite esencial a concentración de 80% se le clasificó como intermedio y a concentración de 60% se le clasificó como resistente sobre dicha bacteria.

De acuerdo a la investigación de **Aquino**⁴, quien determinó la actividad antimicrobiana de aceites esenciales de *Chenopodium ambrosioides*, *Artemisia absinthium*, *Caiophora cirsiifolia* sobre bacterias gram positivas *S.aureus* y su toxicidad en *Artemia salina*. A concentraciones de 5µl, 10µl, 20µl y 1ml, utilizando el método de difusión en agar. Según los resultados de este autor la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de las plantas, *Chenopodium ambrosioides* L. presentó mayor actividad sobre *Escherichia coli* a 20µl con un porcentaje de inhibición al doble del control positivo que presentó 10mm donde se determinó que es altamente significativo y *Artemisia absinthium* L. mostró mayor sensibilidad frente a *S.aureus* a 1ml con 81.25 % de inhibición con respecto

al control positivo, siendo altamente significativo, mientras que *Caiophora cirsiifolia* no mostró actividad antimicrobiana para ninguna bacteria en estudio. Los resultados de este antecedente varían en comparación con los resultados obtenidos en la presente investigación, esta diferencia de resultados podría deberse a los aspectos metodológicos o muchas veces puede depender del proceso de extracción o la recolección de la muestra, influyen muchos factores que pueden alterar los resultados.

La importancia de esta investigación es que, a diferencia de otros autores, la muestra fue recolectada de una zona rural, como lo es el centro poblado “San Luis del Milagro”, distrito de Jaén, departamento de Cajamarca; se encuentra a 1267 msnm, con una latitud de -5.729204 y una longitud de -78.854880; tiene un clima variado y abundante vegetación ⁸. La recolección de la muestra se realizó durante el mes de octubre aprovechando los recursos propios de forma natural y que es de fácil acceso a la población y con un bajo costo de adquisición. Finalmente, los resultados obtenidos en esta investigación de aceite esencial de *D. ambrosioides* L. (paico) constituye un gran aporte que podría contribuir al uso disminuido de medicamentos convencionales, evitando de esta manera efectos colaterales en el organismo. Además, que se utilizó no solamente las hojas, sino también los tallos y las semillas del paico para de esta manera lograr obtener mayor cantidad de aceite esencial, logrando una mayor concentración de sus metabolitos y aprovechar la totalidad de la planta sin tener que desechar parte de ella.

VI. CONCLUSIÓN

1. El aceite esencial de *D. ambrosioides* L. (paico) a una concentración de 100% mostró efecto inhibitorio *in vitro* sobre *S. aureus* ATCC 25923.
2. El aceite esencial de *D. ambrosioides* L. (paico) a la concentración de 100% difiere mucho en cuanto al efecto inhibitorio sobre *S. aureus* ATCC 25923 comparado con la vancomicina.

VII. RECOMENDACIONES

1. A los docentes de las universidades de la ciudad de Jaén, promover nuevas investigaciones de extracciones de aceites esenciales o extractos de diversas plantas medicinales para comprobar el comportamiento y efecto antibacteriano frente a otros microorganismos.
2. A todos los estudiantes, ampliar la investigación de *D. ambrosioides* (paico) y enfrentarlo a otros microorganismos patógenos e investigar diversas plantas medicinales en la búsqueda de alternativas para el tratamiento de múltiples enfermedades.
3. A los encargados de los laboratorios de la ciudad de Jaén, tener un mejor control de la aplicación de los procedimientos establecidos en las normas técnicas de bioseguridad para evitar contagios de enfermedades ya que se trabaja con materiales biológicos patógenos; dotándoles de equipamiento especializado y sensibilización constante de la aplicación de las medidas de bioseguridad para una mejor seguridad del profesional.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. INFAC. Manejo de las infecciones cutáneas bacterianas en el ámbito ambulatorio. 2018;26(7):58-4.
2. Morán M. Portadores nasales de *Staphylococcus Aureus* resistente a la Meticilina en internos del MINSA - Lima 2015. [Tesis para optar el Título de Licenciado en Tecnología Médica]. Lima: Universidad Nacional Federico Villarreal. Facultad de Tecnología Médica. 2018.
3. Lezama M. Efecto 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]. Chimbote: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias de la Salud. 2019.
4. 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*. [Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología]. Puno: Universidad Nacional Del Altiplano. Facultad de Ciencias Biológicas. 2017.
5. Argote F, Suarez Z, Tobar M, Pérez J, Hurtado M, Delgado J. Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Rev.Bio.Agro [Internet]. 2017 [citado 5 de febrero del 2022]; 15(spe2): 52-60. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S169235612017000400052&lng=en.
6. 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*, *Pseudomona aeruginosa* y *Cándida albicans* [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María. Facultad de Ciencias de la Salud. 2017.
7. Rivas H. Eficacia antibacteriana in vitro de extractos de *Chenopodium ambrosioides* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina [Tesis para obtener el título profesional de Médico Cirujano]. Trujillo: Universidad Cesar Vallejo. Facultad de Ciencias de la Salud. 2020.

8. Ubicación Geográfica de San Luis del Milagro, Jaén, Jaén, Cajamarca [Internet]. Mieducativo.com. 2022 [citado 2 enero 2022]. Disponible en: <https://www.mieducativo.com/2019/11/ubicacion-geografica-de-san-luis-del.html>
9. Alan D, Cortez L. Procesos y Fundamentos de la Investigación Científica. 1ed. Ecuador: UTMACH; 2018.
10. Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Manual técnico. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. 2002.
11. Talavera J, Rivas-Ruiz R. Pertinencia de la prueba estadística. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. [Internet]. 2011[citado 5 de febrero del 2022]; 49 (4): 401-405 Disponible en: http://revistamedica.imss.gob.mx/es/system/files/recurso_diverso/rm-recop-caic2.pdf
12. Morocco S. Caracterización micro-histológico, físico y químico del aceite esencial de las hojas de matico (*Piper aduncum*), extraído por arrastre de vapor en un equipo modular. [tesis para optar el título profesional de Ingeniero Químico]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Ingeniería Química. 2017.
13. Moreno A. Factores asociados a la selección clonal de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina y quinolonas. [tesis doctoral]. España: Universidad de Vigo. 2017.
14. Oviedo Y, Aiquipa K. Estudio comparativo in vitro de la actividad antibacteriana de los extractos secos hidroalcohólicos al 70% de las hojas de *Psidium Guajava* (Sahuinto) y *Chenopodium Ambrosioides* (paico) frente a bacterias que causan infecciones de las vías respiratorias y determinación de la toxicidad aguda en animales de experimentación. [Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico.]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Facultad de Ciencias, Químicas, Físicas Matemáticas, Farmacia e Informática. 2011.
15. León C. Estudio de la extracción y determinación de la composición química del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides L.*) Ciencia y Tecnología. 2009; 12(1): 6-12.

- 16.** Mamani B. Actividad antibacteriana de aceite esencial de *Mentha spicata* L. sobre flora mixta salival. [tesis para obtener el Título Profesional de Cirujano Dentista]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología. 2013.
- 17.** Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. [internet]. Madrid. Ministerio de sanidad, política social e igualdad (España). Febrero del 2022 [citado el 11 de mayo de 2022]. Disponible en:
https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/62895/62895_ft.pdf.
- 18.** Castellano M, Perozo-Mena A. Mecanismos de resistencia a Glicopéptidos en *Staphylococcus aureus*. *Kasmera*. [Internet]. 2010 [citado 2 de febrero de 2022]; 38(1): 36-44. Disponible en:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S007552222010000100004&lng=es.

AGRADECIMIENTO

A Dios por guiarnos en nuestra carrera profesional durante estos 5 años y brindarnos perseverancia para lograr nuestros objetivos y metas en este arduo trabajo de investigación.

A nuestros padres por apoyarnos y ser el soporte de nuestra vida y educación, por los valores inculcados, por brindarnos su confianza y motivación día a día.

A todas aquellas personas que de alguna manera u otra nos apoyaron para lograr esta investigación.

DEDICATORIA

Ante todo, lo dedico a Dios por la fuerza que me ha permitido mantenerme en pie y seguir adelante, por su bendición y salud que me ha permitido tener para así poder culminar mis metas a futuro.

A mis padres César Guzmán Mostacero y María Figueroa Sánchez, a mi querida hermana por el apoyo incondicional, sus consejos y motivación para poder finalizar este arduo trabajo.

A mi esposo Eduardo Arnao Guevara y a mi adorado hijo por ser los motores de mi vida quienes siempre me motivaron a seguir adelante con su apoyo incondicional en todo momento, por ser parte de este logro y de muchos más que están por venir siempre con la bendición de Dios.

A mis asesores por inculcarnos buenas enseñanzas, su tiempo valioso, su paciencia y por compartir sus conocimientos y así poder lograr mis metas y desarrollarme en mi carrera profesional.

Sharot Guzmán

DEDICATORIA

Mi tesis la dedico a mis padres Magaly Aracely Díaz Odar y Angel Arteaga Díaz, de igual manera a mis abuelos Maximo Díaz Rafael y Flor Odar Contreras, por su sacrificio y esfuerzo, por darme la oportunidad de continuar con mis estudios, y creer en mis capacidades para tener un mejor futuro.

Con mucho amor y cariño esposo Job Rowinson Vicente Ocaña por su esfuerzo, paciencia y comprensión en el transcurso de mi vida universitaria, aunque pasamos momentos difíciles siempre ha estado a mi lado para apoyarme en lo necesario.

A mí adorado hijo Derek Itzae Roby Vicente Arteaga por ser fuente de motivación e inspiración para poder superarme cada día más y así poder luchar para que en la vida nos depare un futuro mejor.

A mis asesores por inculcarnos buenas enseñanzas, su tiempo valioso, su paciencia y por compartir sus conocimientos y así poder lograr mis metas y desarrollarme en mi carrera profesional

Sheyla Arteaga

ANEXOS

Anexo 1

Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	INDICADORES	ESCALA	INSTRUMENTO
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Aceite esencial de <i>D. ambrosioides</i> (paico).</p>	<p>La composición química del aceite esencial de <i>D. ambrosioides</i> (paico) está constituido por monoterpeno, ascaridol compuesto mayoritario de la esencia ⁵.</p>	<p>Aceite esencial de <i>D. ambrosioides</i> (paico) a las concentraciones de: 60% 80% y 100%.</p>	<p>Cualitativa Nominal.</p>	<p>Extracción por destilación con arrastre de vapor.</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de <i>D. ambrosioides</i> (paico).</p>	<p>Capacidad o acción de una sustancia química que actúa destruyendo o suprimiendo el crecimiento de las bacterias</p>	<p>Medición del diámetro del halo Inhibición y grado de susceptibilidad antibacteriana.</p> <p>Sensible: ≥ 15.0 mm. Intermedio: 11.0- 14.0 mm Resistente: ≤ 10.0 mm ¹⁰.</p>	<p>Cualitativa nominal.</p>	<p>Antibiograma</p>

Anexo 2
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Lectura del cultivo de Mueller Hinton				
LUGAR:	"Laboratorio Clínico Solidaridad"			
FECHA:	9/11/21			
HORA:	11:00 AM			
ANALISTAS:	Sheyla Lucero Arteaga Díaz y Sharot Hareliza Guzmán Figueroa.			
Medición del halo de inhibición del crecimiento de la cepa de <i>S. aureus</i>				
Repeticiones	Vancomicina (mm)	Aceite esencial al 60% (mm)	Aceite esencial al 80% (mm)	Aceite esencial al 100% (mm)
1	25	10	13	16
2	23	9	14	18
3	22	8	13	15
4	20	7	8	11
5	23	10	14	15
6	25	9	12	16
7	23	8	11	15
8	24	7	9	17
9	21	5	7	18
10	24	6	9	16

Anexo 3
Certificado de autenticación de la cepa de *S. aureus* ATCC 25923



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-529** Reference Number: ATCC® 25923™* Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2023/4/30 Release Information: Quality Control Technologist: Jackie L. Mackedanz Release Date: 2021/5/19
---	--

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	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 <div style="text-align: center;">  Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE </div>

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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



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

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Run Creation Date/Time: 2021-05-11T14:31:10.846 JLM
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A5 (+++) (A)	360-529	Staphylococcus aureus	2.49

Comments:

N/A

Anexo 4
Certificado de Identificación de Especie Vegetal N° 005-2021

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE VEGETAL N° 005-2021

Jaén, 31 de agosto de 2021

Yo, Alexander Huamán Mera, Biólogo-Botánico, identificado con DNI N° 42094361 y con Colegiatura del Colegio de Biólogos del Perú N° 9030, certifico que el espécimen presentado por las bachilleres: Arteaga Díaz Sheyla Lucero y Guzmán Figueroa Sharot Hareliza, corresponde a *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin et Clemonts, perteneciente a la familia botánica Amaranthaceae o nombrado comúnmente como "Paico". El espécimen presentado para la certificación, será usado como material biológico para desarrollar el proyecto de tesis titulado: "Efecto Antibacteriano *In Vitro* del aceite esencial de *Dysphania ambrosioides* (L.) (Paico) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"

Se expide el presente documento para los fines que las solicitantes crean conveniente.


Alexander Huamán Mera
BIOLOGO
C.B.P. 9030

Anexo 5

Tabla 3. Medición del diámetro del halo de inhibición del crecimiento de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Repeticiones	Vancomicina (mm)	Aceite esencial al 60% (mm)	Aceite esencial al 80% (mm)	Aceite esencial al 100% (mm)
1	25	10	13	16
2	23	9	14	18
3	22	8	13	15
4	20	7	8	11
5	23	10	14	15
6	25	9	12	16
7	23	8	11	15
8	24	7	9	17
9	21	5	7	18
10	24	6	9	16

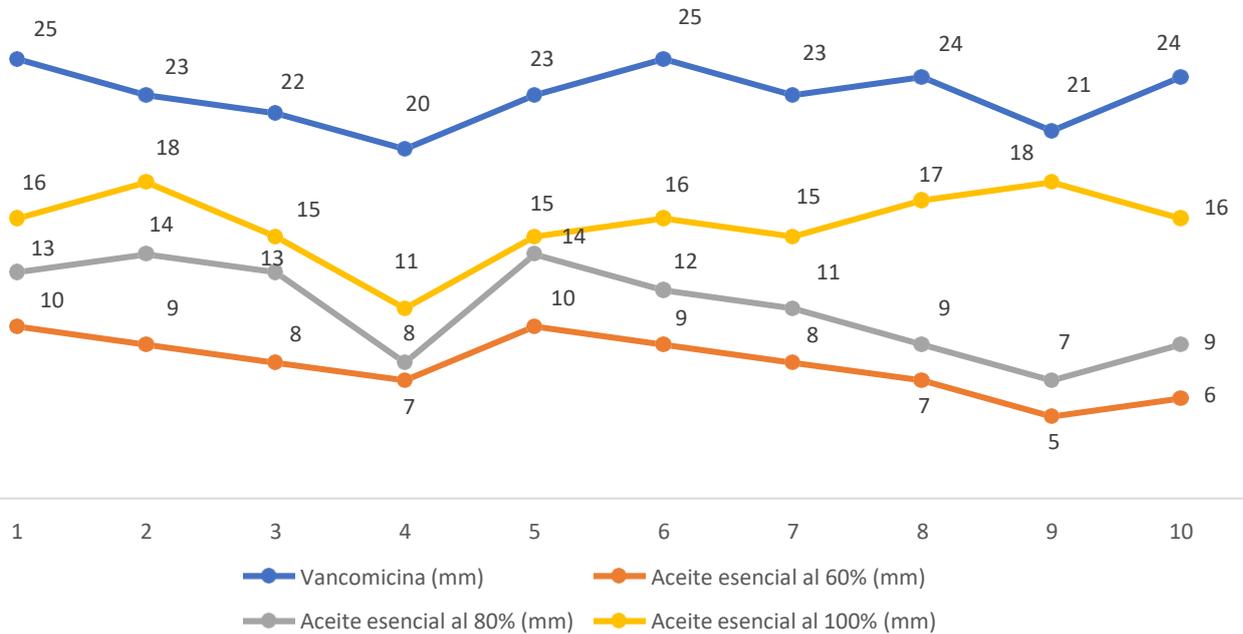


Figura 1. Comportamiento de la medición del diámetro (mm) del halo de inhibición del crecimiento de la cepa de *S.aureus* ATCC 25923 en las repeticiones.

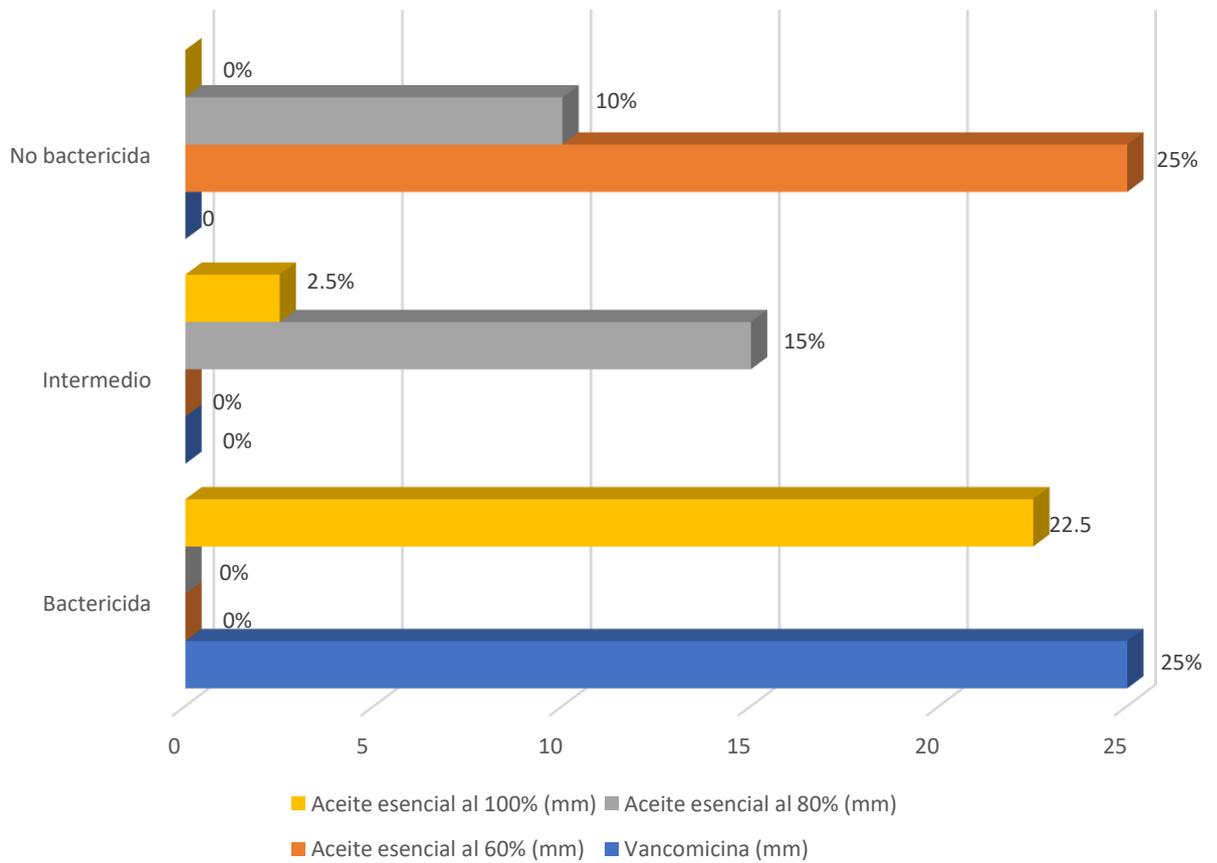


Figura 2. Diámetro del halo según grado de susceptibilidad antibacteriana y aceite esencial al 60%, 80% y 100%.

Prueba de normalidad

Hipótesis

H0: Los errores siguen una distribución normal

Hi: Los errores no siguen una distribución normal

Nivel de significancia $\alpha=0.05$

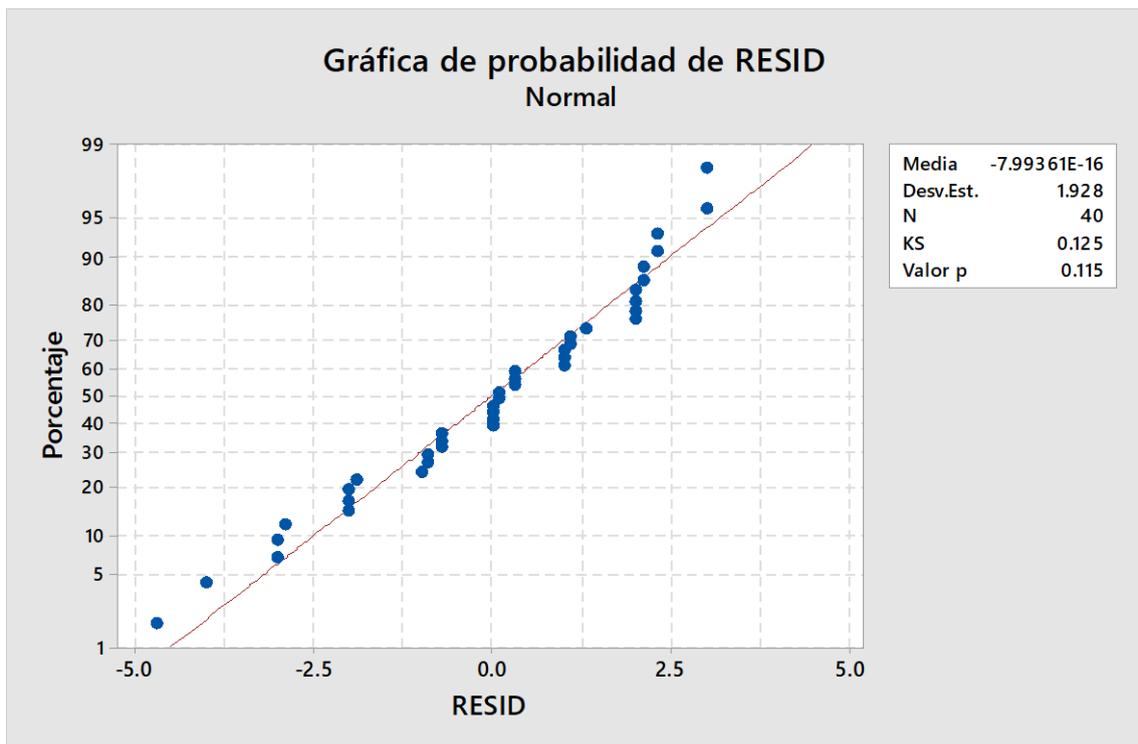


Figura 3. Según la prueba de Kolmogorov-Smirnov, para un valor p de $0.115 > 0.05$, se acepta la hipótesis nula.

Prueba de igualdad de varianza entre grupos

Prueba de igualdad de varianza

Hipótesis

H0: Las varianzas entre los grupos son iguales

Hi: Las varianzas entre los grupos son diferentes, o por lo menos uno es diferente

Nivel de significancia $\alpha=0.05$

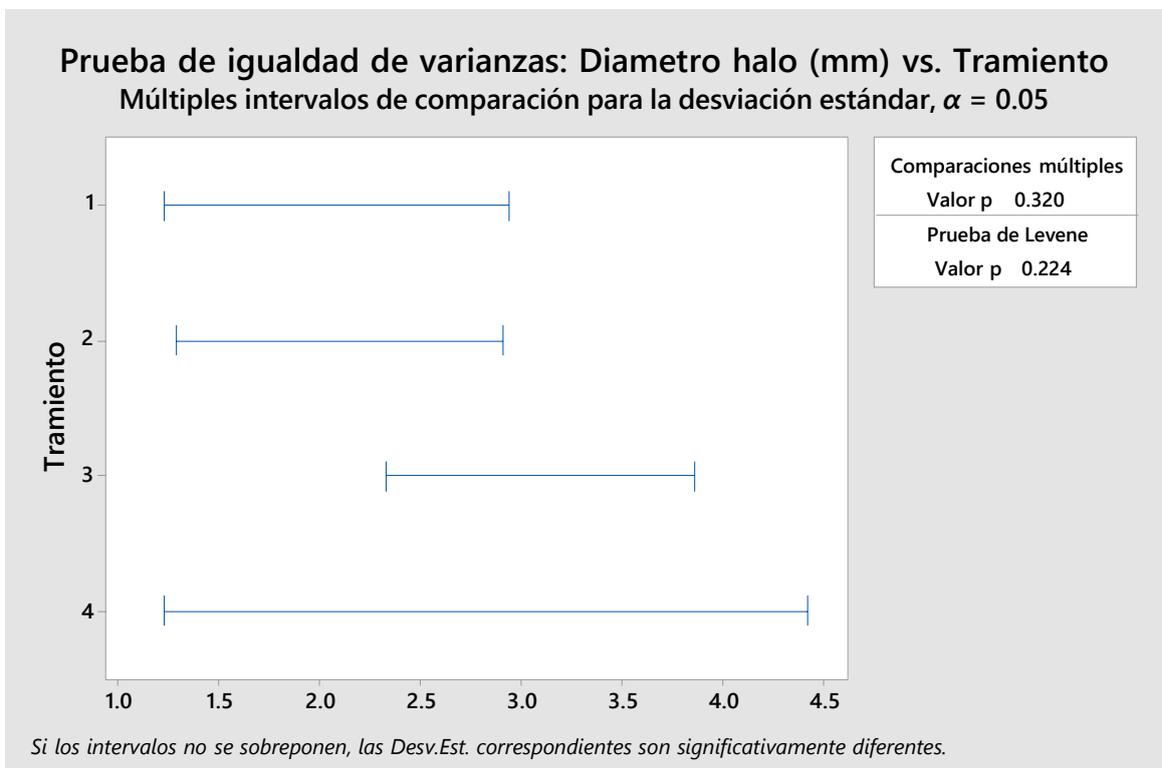


Figura 4. Según la prueba de Levene para un valor p de $0.224 > 0.05$, se acepta la hipótesis nula, llegando a la conclusión que las varianzas entre los grupos son iguales.

Tabla 4. Análisis de varianza para los aceites esenciales según sus porcentajes.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tramamiento	3	1294.6	431.533	107.14	0.000
Error	36	145	4.028		
Total	39	1439.6			

Nivel de significancia $\alpha=0.05$

Tabla 5. Prueba Pos Anva evidencia diferencias significativas entre las concentraciones de aceites esenciales.

Tramamiento	N	Media	Agrupación
Vancomicina	10	23	A
Aceite esencial al 100%	10	15.7	B
Aceite esencial al 80%	10	11	C
Aceite esencial al 60%	10	7.9	D

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Anexo 6

REPLICACIÓN, ACTIVACIÓN E AISLAMIENTO DE LA CEPA DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- Deje que la bolsa de KWIK-STIK sin abrir se adapte a la temperatura ambiente. Abra la bolsa rasgando a la altura de la muesca y quite la unidad de KWIK-STIK.
- Retire la porción de la etiqueta de tirar y rasgar y colóquesela a la placa de cultivo principal o al registro de CC. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
- Sobre el borde de la mesa de trabajo o la encimera, agriete la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK (justo debajo del menisco del líquido de la ampolla) para liberar el líquido hidratante)
- Manténgalo vertical y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad que contiene el granulo.
- Apreté la parte inferior de la unidad para que el granulo se disuelva con el líquido hasta lograr una suspensión homogénea.
- **De inmediato:** sature el hisopo abundantemente con el material hidratado y transféralo al medio con agar correspondiente o utilícelo según el procedimiento operativo estándar del laboratorio.
- Inocule la placa de cultivo principal girando con suavidad el hisopo sobre un tercio de placa.
- Por medio de una as esterilizada, haga estrías para facilitar el aislamiento de la colonia.
- Descarte el KWIK-STIK de forma apropiada para desechos de riesgo biológico.
- **De inmediato:** incube las placas inoculadas a temperatura y en condiciones apropiadas para el microorganismo.

Anexo 7

PROMEDIO DE DIAMETRO DE HALOS DE INHIBICIÓN PARA DETERMINAR EL GRADO DE SENSIBILIDAD O RESISTENCIA

Tratamiento	Diámetro halo (mm)	Grado de susceptibilidad antibacteriana
1	25	Sensible
1	23	Sensible
1	22	Sensible
1	20	Sensible
1	23	Sensible
1	25	Sensible
1	23	Sensible
1	24	Sensible
1	21	Sensible
1	24	Sensible
2	10	Resistente
2	9	Resistente
2	8	Resistente
2	7	Resistente
2	10	Resistente
2	9	Resistente
2	8	Resistente
2	7	Resistente
2	5	Resistente
2	6	Resistente
3	13	Intermedio
3	14	Intermedio
3	13	Intermedio
3	8	Resistente
3	14	Intermedio
3	12	Intermedio
3	11	Intermedio
3	9	Resistente
3	7	Resistente
3	9	Resistente
4	16	Sensible
4	18	Sensible
4	15	Sensible
4	11	Intermedio
4	15	Sensible
4	16	Sensible
4	15	Sensible
4	17	Sensible
4	18	Sensible
4	16	Sensible

- ❖ Resistente: para un diámetro de ≤ 10.0 mm
- ❖ Intermedio: para un diámetro de 11.0- 14.0 mm
- ❖ Sensible: para un diámetro ≥ 15.0 mm.mm

Anexo 8

REACTIVACIÓN E AISLAMIENTO DE LA CEPA DE *S. aureus* ATCC 25923, UBICACIÓN GEOGRÁFICA DE LA MUESTRA Y PROCESAMIENTO DEL ACEITE ESENCIAL *D. ambrosioides* (paico)

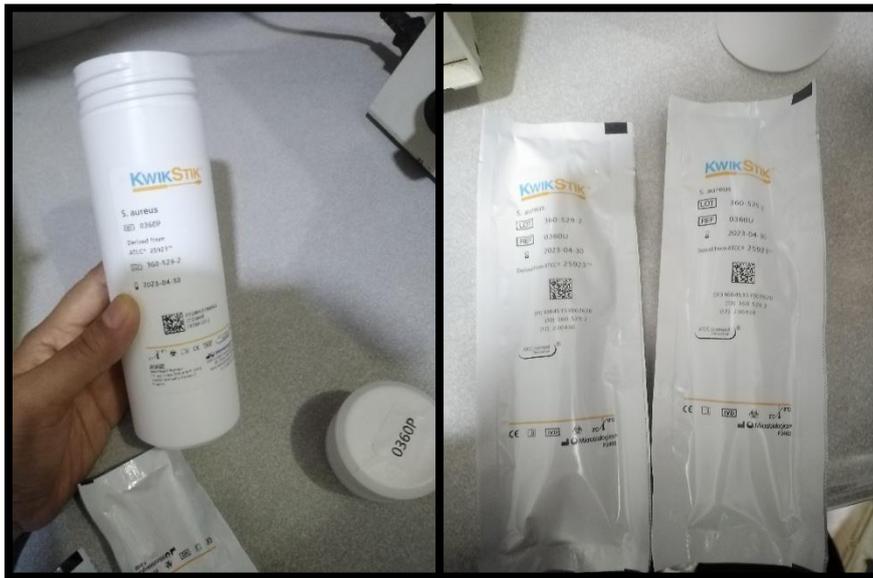


Figura 5. Cepa certificada de *S. aureus* ATCC 25923.



Figura 6. Reactivación e aislamiento de la cepa certificada de *S. aureus* ATCC 25923.



Figura 7. Clima, vegetación y ubicación geográfica del Centro Poblado San Luis del Milagro Jaén-Cajamarca.



Figura 8. Selección de plantas enteras de *D. ambrosioides* (paico).

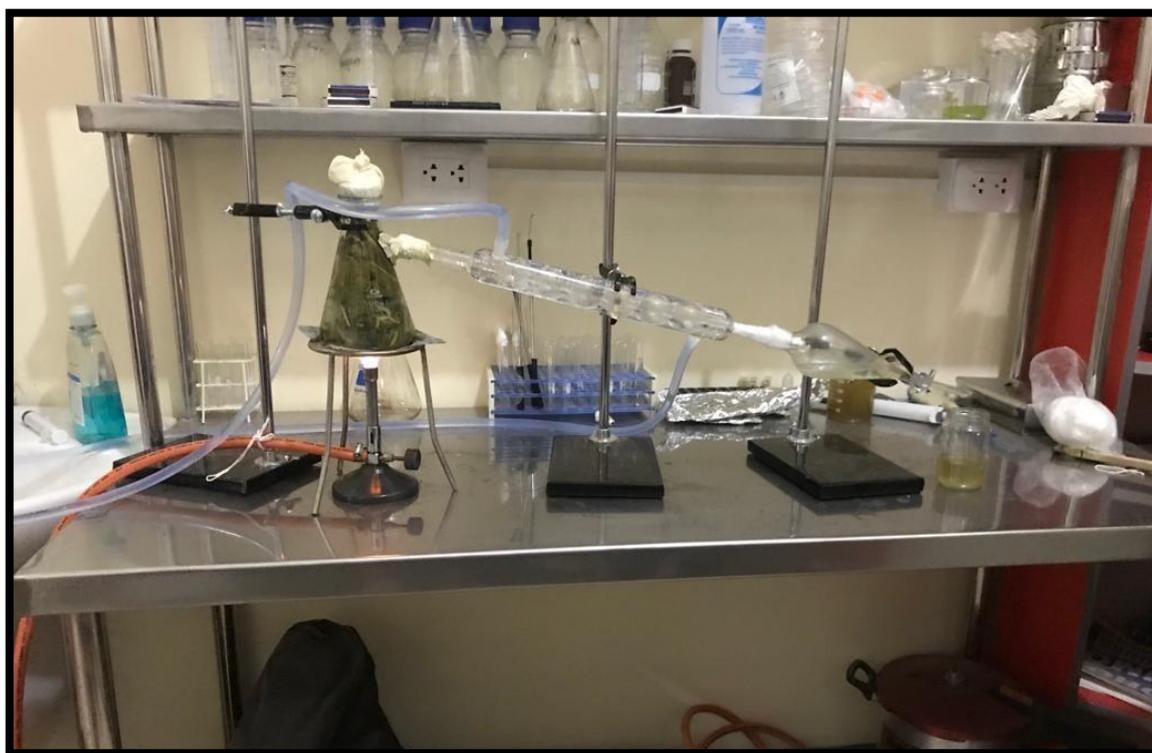


Figura 9. Extracción del aceite esencial de *D. ambrosioides* (paico).

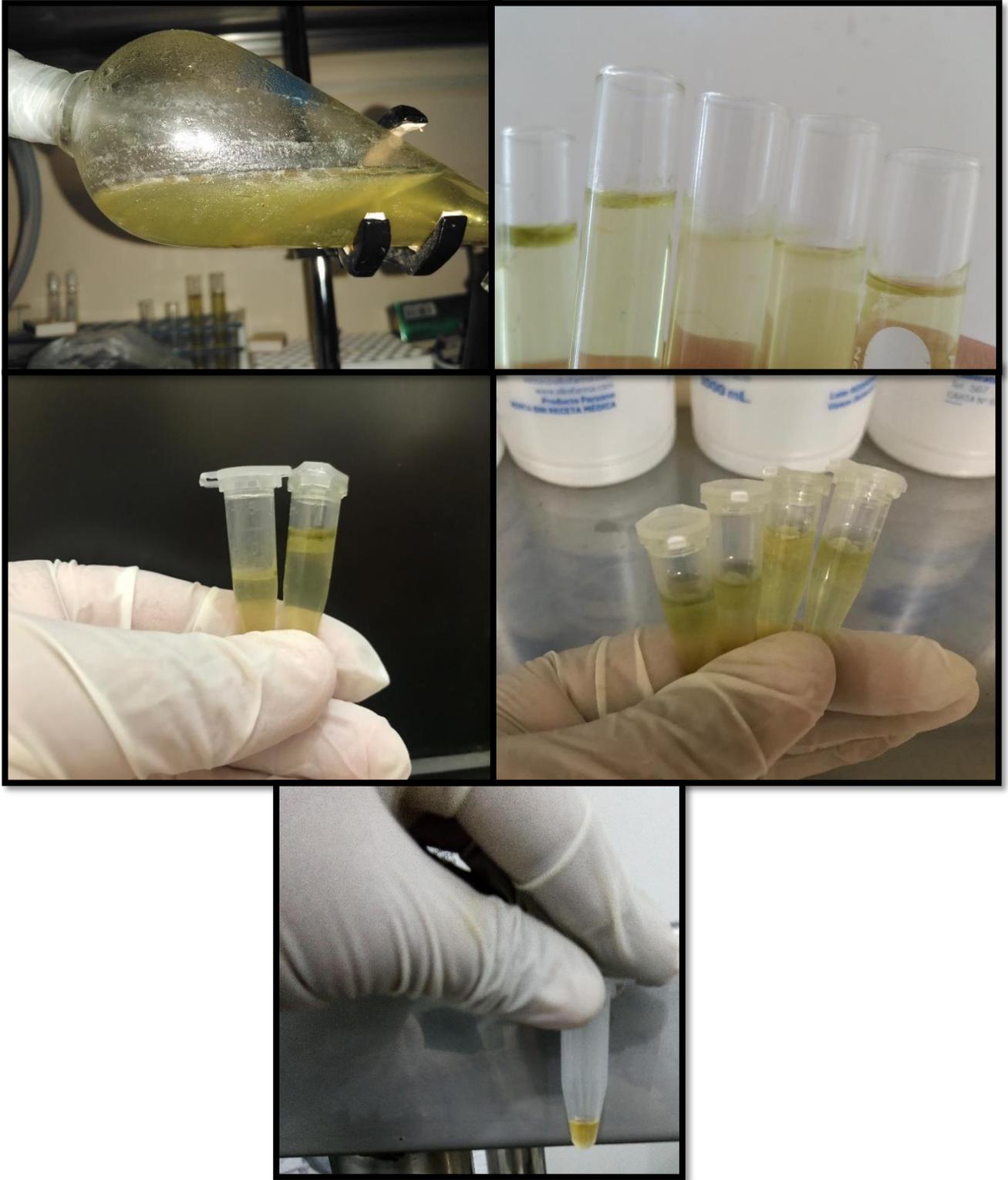
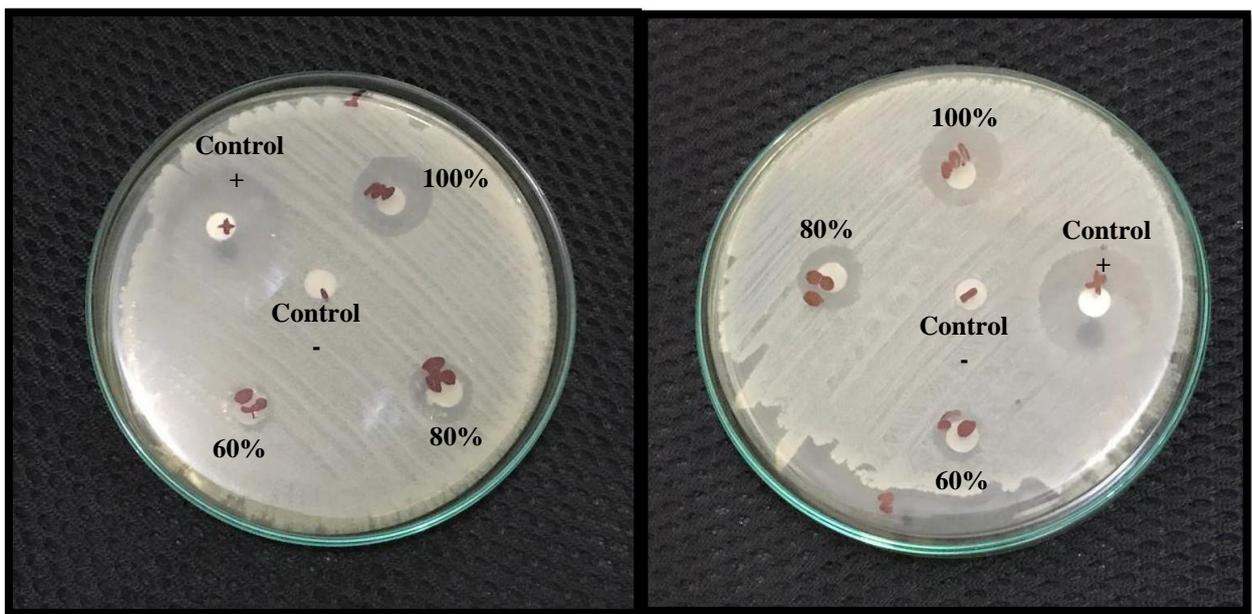


Figura 10. Centrifugación para la extracción del aceite esencial de *D. ambrosioides* (paico).

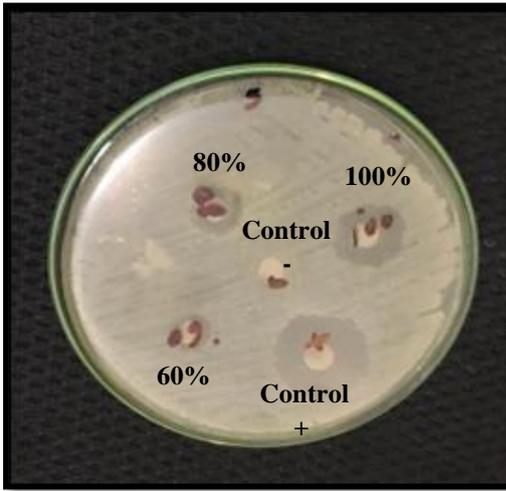


Figura 11. Dilución y antibiograma

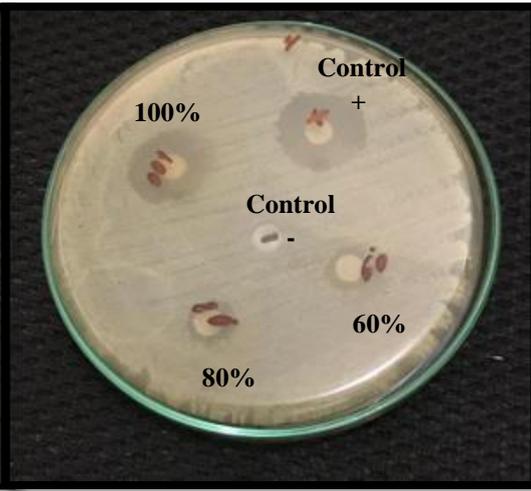


Repetición 1

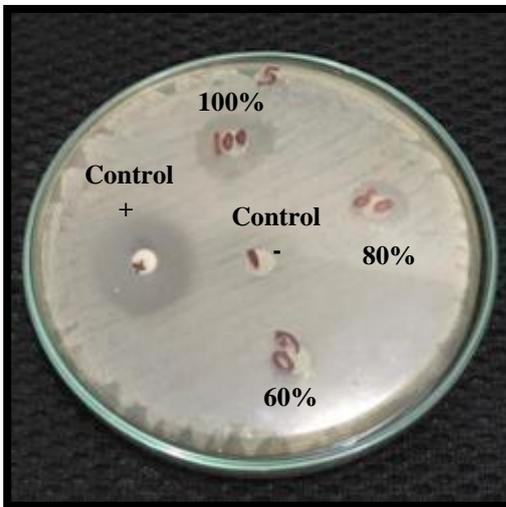
Repetición 2



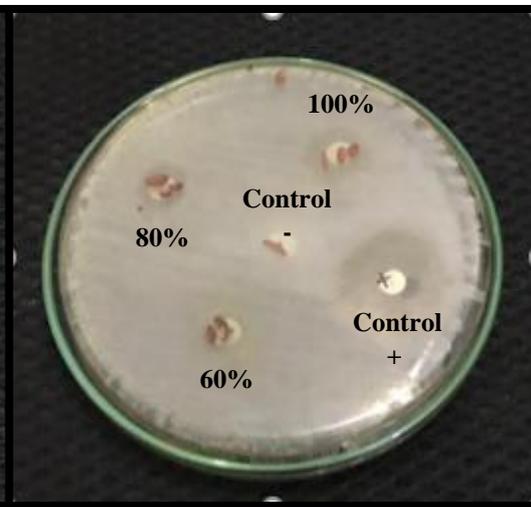
Repetición 3



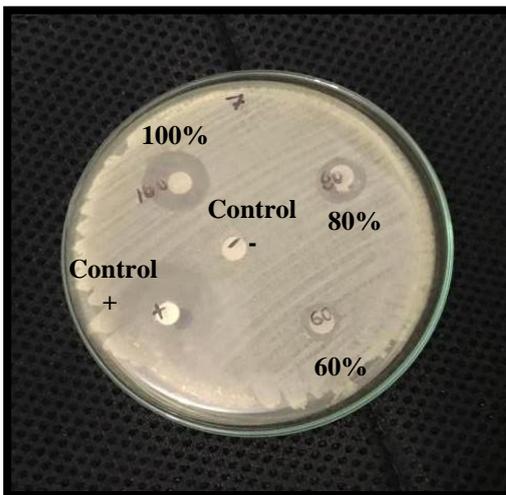
Repetición 4



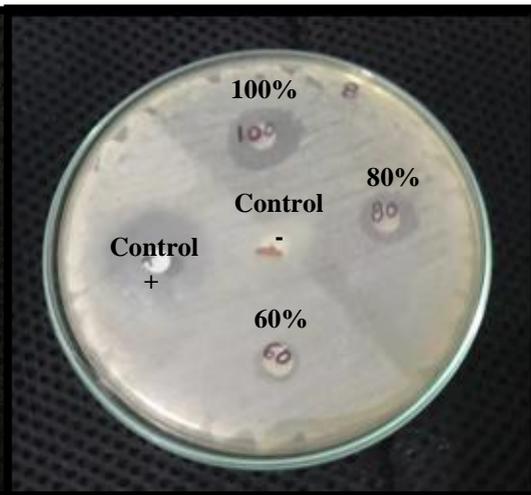
Repetición 5



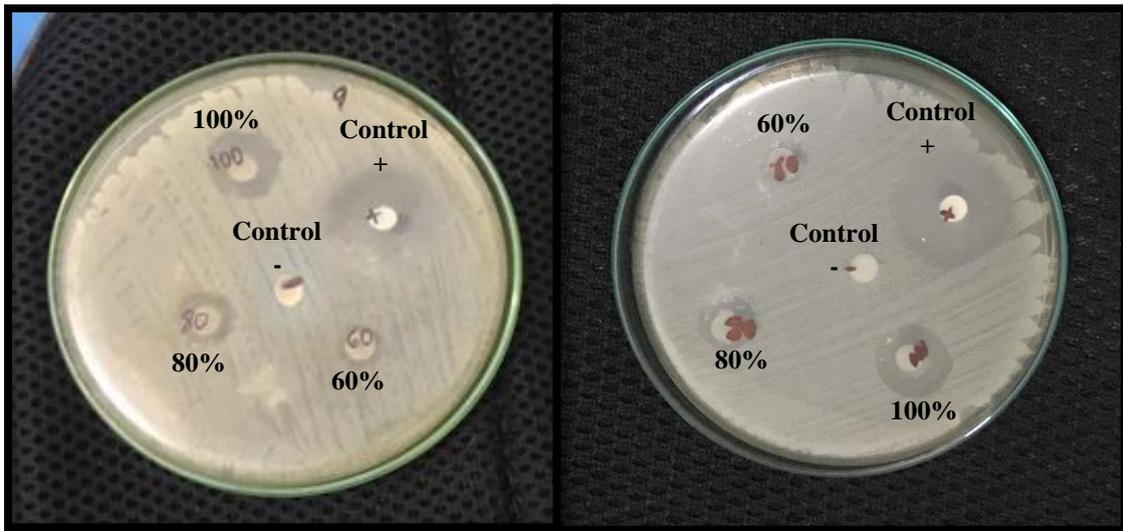
Repetición 6



Repetición 7



Repetición 8



Repetición 9

Repetición 10

Figura 12. Halos de inhibición ocasionados por el aceite esencial de *D. ambrosioides* (paico) a las concentraciones de 100%, 80% y 60% frente a *S. aureus*.