



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

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

AUTORA:

Rivas Yzquierdo, Hellen Liseth (ORCID: 0000-0002-2566-6373)

ASESORES:

Dra. Goicochea Ríos, Evelyn del Socorro (ORCID: 0000-0001-9994-9184)

Mg. Polo Gamboa, Jaime Abelardo (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

TRUJILLO - PERÚ

2020

DEDICATORIA

La investigación está dedicada en primer lugar a Dios, quien me ha permitido estar presente en esta etapa de mi vida, por ser mi fuerza y soporte.

A mis padres Ariel y Betty, quienes en todo momento me han brindado su apoyo y han estado conmigo en cada paso que daba. Los amo

A mi hermano Jhoan, quién ha sido el pilar fundamental para seguir adelante a pesar de los obstáculos que se pudieron presentar.

A mi novio Gustavo, quién sin esperar nada a cambio se mantuvo a mi lado, otorgándome la fuerza que me faltaba para poder culminar mis metas.

A mis suegros Leopoldo y Rosa por comprender mi situación, actuar como mis segundos padres y estar atentos a cualquier situación que se podía presentar.

A mis amigos Helen, Lucero, Darly, Melisa, Paola y Flor, quienes estuvieron conmigo en la buenas y malas, brindándome su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a Dios por otorgarme cada día las fuerzas para seguir adelante, velando no solo por mí, sino también por mis seres queridos.

A mi familia, quienes a pesar de las dificultades siguieron conmigo hasta el final, demostrándome su apoyo y amor incondicional.

A mi asesora, la Dra. Evelyn del Socorro Goicochea Ríos, por la dedicación, apoyo y paciencia brindada durante la elaboración de la presente investigación.

Al Mg. Jaime Abelardo Polo Gamboa, por dedicarme parte de su tiempo y apoyo durante la ejecución de la presente investigación.

Índice de contenidos

Carátula.....	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenidos	iv
Resumen.....	v
Abstract.....	v
I. INTRODUCCIÓN	1-2
II. MARCO TEÓRICO.....	3-9
III. METODOLOGÍA.....	10-13
3.1. Tipo y diseño de investigación	10
3.2. Variables y operacionalización	10
3.3. Población, muestra y muestreo	11-12
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	12
3.5. Procedimientos.....	12
3.6. Método de análisis de datos.....	13
3.7. Aspectos éticos	13
IV. RESULTADOS.....	14-20
V. DISCUSIÓN	21-25
VI. CONCLUSIONES	26
VII. RECOMENDACIONES	27
REFERENCIAS	28-33
ANEXOS	

Índice de tablas

- TABLA N°01: Eficacia antibacteriana del extracto acuoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i>	14
- TABLA N° 02: Análisis de varianza de diámetros de <i>Chenopodium ambrosioides</i>	16
- TABLA N° 03: Prueba HSD Tukey	16
- TABLA N°04: Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i>	17
- TABLA N° 05: Análisis de varianza de los halos de inhibición.....	19
- TABLA N° 06: Prueba HSD Tukey.....	19
- TABLA N°07 Eficacia antibacteriana de oxacilina.....	20

Índice de gráficos

- GRÁFICO N°01: Eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides*..... 15
- GRÁFICO N°02: Eficacia antibacteriana del extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides*..... 18

RESUMEN

En la presente investigación se 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, se realizaron un total de 10 repeticiones para cada extracto y el fármaco. Para la obtención de los extractos se usó el método de decocción para extracto acuoso y de maceración para el extracto etanólico, una vez obtenida la muestra, *S. aureus* se inoculó en placas Petri con agar Mueller Hinton para posteriormente identificar el efecto antibacteriano mediante el método de Kirby Bauer, usando discos de sensibilidad de cada extracto y del fármaco en las concentraciones estipuladas. Los resultados indican que para el extracto acuoso se obtuvieron 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. Concluyendo que los extractos de *Chenopodium ambrosioides* si presentan efecto antibacteriano.

Palabras claves: antibacteriana, *Chenopodium ambrosioides*, oxacilina.

ABSTRACT

In the present investigation the antibacterial efficacy of *Chenopodium ambrosioides* extracts was evaluated at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compared with oxacillin, a total of 10 repetitions were made for each extract and the drug . To obtain the extracts, the decoction method for the aqueous extract and the maceration method for the ethanolic extract was used. Once the sample was obtained, *S. aureus* was inoculated in Petri dishes with Muller Hinton agar to later identify the antibacterial effect by the method. Kirby Bauer, using sensitivity discs of each extract and of the drug in the stipulated concentrations. The results indicate that for the aqueous extract inhibition halos of 21.2mm, 24.8mm, 26.1mm and 27mm were obtained respectively, for the ethanolic extract halos of 20.5mm, 24.6mm, 25.2mm and 28.1mm respectively and halo of 26.3mm for oxacillin. Concluding that *Chenopodium ambrosioides* extracts do present antibacterial effect.

Keywords: antibacterial, *Chenopodium ambrosioides*, oxacillin.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente ha aumentado la resistencia de diversas bacterias a múltiples medicamentos, esto debido a cambios y/o mutaciones en su genoma, tal resistencia es consecuencia del uso indiscriminado de varios medicamentos, así mismo influyen diversos factores como el poco aseo en los ambientes hospitalarios y la afluencia de viajes, lo cual facilita la diseminación de enfermedades y con ello también la diseminación de bacterias resistentes a su tratamiento convencional. Destacando dentro de ellas el *Staphylococcus aureus*, considerado como la bacteria más vírica de la familia *Staphylococcaceae*, ya que puede generar la enfermedad con o sin la presencia de toxinas.¹

Esto motiva la búsqueda de nuevos tratamientos y siendo Perú poseedor de una diversidad botánica. Ha motivado la realización de varios estudios donde reportan el uso medicinal de diversas plantas que contribuyen en el tratamiento de enfermedades que no responden al tratamiento convencional debido a la resistencia de muchas bacterias.²

Dentro de la amalgama de plantas medicinales que poseen actividad antibacteriana destaca el *Chenopodium ambrosioides*, llamado vulgarmente como “paico”, oriunda de Perú y posee una gran actividad antimicrobiana, así como antihelmíntica, antiinflamatoria, relajante muscular, entre otras, esto ha sido demostrado en varios estudios en donde se expone sus diversas propiedades y utilidades.^{3,4}

Frente a esta realidad, se planteó como problema: ¿Son eficaces como antibacterianos los extractos de *Chenopodium ambrosioides* “paico”, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina, in vitro?

Se realizó esta investigación con el propósito de evaluar las propiedades antibacterianas del *Chenopodium ambrosioides* conocido comúnmente como paico, de ésta manera se dará a conocer a la población en general las

bondades de dicha planta e identificar por cuál de los extractos de *C. ambrosioides* presenta una mayor actividad antibacteriana contra *S. aureus*, con ello se contribuirá a plantear una alternativa de tratamiento contra dicha bacteria, ya que en los últimos años ha aumentado la resistencia a muchos fármacos debido al abuso indiscriminado de antibióticos, ocasionando que además de afectar la salud del paciente afecte también su economía, por ello al no responder a su tratamiento convencional esto hace propicio el empleo de fármacos de un costo superior, por tal motivo con los resultados del trabajo de investigación se espera que sea una motivación para el inicio de nuevos proyectos de investigación, donde se empleen diversas metodologías y con ello incrementar el cultivo de *Chenopodium ambrosioides* para así contar con nuevas alternativas de solución para dicha problemática de resistencia.

Se propone como hipótesis: Los extractos de *Chenopodium ambrosioides* “paico” son eficaces como antibacterianos frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en comparación con oxacilina, en estudio in vitro.

Exponiendo como objetivo general: Evaluar la eficacia antibacteriana de los extractos de *Chenopodium ambrosioides* “paico” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en comparación con oxacilina, en estudio in vitro. Los objetivos específicos fueron: Determinar la eficacia antibacteriana del extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* “paico”, a las concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, determinar la eficacia antibacteriana del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* “paico”, a las concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y determinar la eficacia antibacteriana de la oxacilina a 1µg, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II. MARCO TEÓRICO

En un estudio realizado por Zegeye N, et al ⁵ (Etiopía, 2020) comprobaron el efecto antimicrobiano de seis plantas medicinales, encontrando que el extracto etanólico de *C. ambrosioides* presentó una concentración inhibitoria mínima (CMI) de 250mg/ml y una zona inhibitoria de 20 mm para *S. aureus* en comparación con la CMI del *A. pulchella* y la *A. ankoberensis* que fue de 125mg/ml y un halo de 12 y 11mm respectivamente. Demostrando así que el extracto etanólico presenta un mayor efecto antibacteriano.

Jesús R, et al ⁶ (Brasil, 2018) demostraron el efecto antimicrobiano del *Chenopodium ambrosioides* L sobre *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Paenibacillus apiarius*, *Paenibacillus thiaminolyticus*, *M. tuberculosis*, *M. smegmatis* y *M. avium*, emplearon el análisis por HPLC-DAD el cual planteó el uso de *C. ambrosioides* L. como alternativa para el tratamiento de enfermedades ocasionadas por múltiples agentes infecciosos.

Oliveira C⁷ (Brasil, 2018) comprobaron la actividad antibacteriana del *C. ambrosioides* basándose en su componente α -terpineno como reductor de la resistencia a norfloxacin comparado con el bromuro de etidio sobre *S. aureus* 1199B, emplearon la microdilución evidenciando así que a pesar de que el *C. ambrosioides* no tiene actividad antibacteriana directa contra la cepa 1199B de *S. aureus*, al asociarla a agentes bacterianos potencia la acción de éstos atribuyendo de esta manera la inhibición de las bombas de flujo de salida.

Fdial R, et al ⁸ (Marruecos, 2017) analizaron los compuestos químicos, antibacterianos y antirradical del *Chenopodium ambrosioides*, encontrando en su composición α -terpineno, p-cineno y ascarinol. Así mismo demostraron su efecto antibacteriano mediante difusión de agar contra diversas bacterias como el *S. aureus* y evaluaron el potencial antirradical empleando radical DPPH; demostrando así su efecto en los puntos a evaluar.

Ajaib M, et al ⁹ (Pakistan, 2016) investigaron el potencial antimicrobiano y antioxidante del *Chenopodium ambrosioides*, el cual fue evaluado mediante zonas de inhibición y concentración mínima inhibitoria para el efecto antimicrobiano y para el efecto antioxidante mediante diferentes técnicas como el total de flavonoides, encontrando halos de 33 ± 1.5 mm para *Bacillus subtilis*, halos de 16 ± 1.5 mm para *Aspergillus niger* y una concentración mínima inhibitoria de 0.009 ± 0.02 en 0.7 mg/ ml en *S. aureus*, así mismo evidenciaron un potencial antioxidante; demostrando así que posee tanto efecto antimicrobiano como antioxidante.

Andrade J, et al ¹⁰ (Brasil, 2016) evaluaron la actividad antioxidante y antibacteriana el aceite esencial del *Chenopodium ambrosioides*, y determinaron el efecto antioxidante mediante oxidación del β y el efecto antioxidante mediante CIM sobre a *S. aureus*, *E. coli* y *L. monocytogenes*, encontrando una variación de CIM de 62-5 a 250, de esta manera demostraron que poseen tanto actividad antibacteriana como antioxidante.

Hameed S. et al ¹¹ (Pakistán, 2014), identificaron la eficacia antibacteriana del extracto metanólico del *Chenopodium ambrosioides* L, frente a distintas cepas, entre ellas *S. aureus*. Donde encontraron actividad contra *S. aureus* con halos de 12mm y desviación estándar de 0.35, de esta manera se evidencia que existe actividad antimicrobiana significativa con un intervalo de confianza del 95%.

Hameed S ¹² (Pakistán, 2014) evidenció la actividad bacteriana del *Chenopodium ambrosioides* frente a diversas bacterias que incluía *Staphylococcus aureus*, donde observó halos de inhibición de 12mm, con una desviación estándar de 9.189 y una $p=0.0005$. De esta manera se confirma el efecto antibacterial con Intervalo de confianza del 95%.

Singh K. et al ¹³ (India, 2011) evidenciaron el efecto antibacteriano de extractos de *Chenopodium ambrosioides* en diferentes bacterias, dentro de ellas el *S. aureus*, encontrando halo de 25mm para extracto acuoso y halo de

28 mm para extracto metanólico, concluyendo que ambos extractos presentan actividad antibacteriana significativo frente a todas las cepas.

Lezama M¹⁴ (Perú, 2019) determinó el efecto antibacteriano de *Chenopodium ambrosioides* frente a *S. aureus* en diferentes concentraciones comparado con tetraciclina, encontrando que al 25% presenta un halo de 19.6 ± 1.79 mm, al 75% 25.2 ± 1.94 mm y con tetraciclina un halo de 28.9 ± 1.95 mm con una probabilidad <0.05 , demostrando de esta manera que posee actividad antibacteriana en las diferentes concentraciones pero en menor proporción que tetraciclina.

Aquino E¹⁵ (Perú, 2017), determinó el efecto antimicrobiano de *C. ambrosioides*, del *A. absinthium* y del *C. cirsiifolia* sobre *S. aureus* y otros agentes, emplearon la difusión en agar, donde encontró que el *C. ambrosioides* L. presenta mayor eficacia sobre *E. coli* y *S. aureus*, mientras que la *C. cirsiifolia* no mostró efecto antimicrobiano por ninguna de las bacteriana.

Chambi D, Pacheco K¹⁶ (Perú, 2017), evaluaron la eficacia antimicrobiana del *Chenopodium Ambrosioides* como extracto y aceite esencial sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y otros agentes, empleando 600 mg/mL de concentración para el extracto etéreo y a una de 80 μ L/mL para el aceite esencial, encontrando que la CMI para *S. aureus* y *Staphylococcus epidermidis* fue de 150 mg/mL.

Rojas N y Del castillo C¹⁷ (Perú, 2016) determinaron la eficacia antibacteriana del *Chenopodium ambrosioides* en extracto acuoso y etanólico frente a *P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. aureus*, emplearon métodos como la macrodilución y el de difusión en agar, encontrando que no existe efecto antibacteriano sobre los extractos por el método de difusión en agar, mientras que por el de macrodilución sí.

Oviedo y Aiquipa K¹⁸ (Perú, 2016), compararon el efecto antibacteriano de extractos secos hidroalcohólicos de *Chenopodium ambrosioides* frente a *S.*

aureus y otras bacterias, emplearon diversos procedimientos como caldo de cerebro, corazón, agar Mueller Hinton y agar sangre, encontrando que a la máxima concentración el *Chenopodium ambrosioides* presenta halo inhibitorio de 16.33mm para *S. aureus* a concentración de 247.32mg/pozo, comprobándose así que la actividad antibacteriana del *Chenopodium ambrosioides* fue 70.48% para *S. Aureus*, 66.0%.

Sánchez S y Curitima E ³ (Perú, 2016) determinaron la actividad antibacteriana de *Chenopodium ambrosioides* en extracto Hidroalcohólico sobre cepas de *E. coli* y *S. aureus*, para ello hicieron uso del método de macrodilución, donde evidenciaron que la *Escherichia coli* presentó una CMI de 8 mg/mL, con un rendimiento de 11% y un halo de inhibición de 1.2mm, mientras que el *Staphylococcus aureus* una CIM de 4 mg/mL con un porcentaje de rendimiento de 20 % y una inhibición de 2.4 mm. Por ello se le consideró como poco activo frente a estas bacterias.

Izquierdo S ¹⁹ (Trujillo, 2016) determinó la actividad antibacteriana del extracto etanólico del *Pimpinella anisum* y *Chenopodium ambrosioides* a diferentes concentraciones, encontrando que a 25% presenta halos de 10.79, 10.59 mm, a 50% presenta 11.66 y 11.81 mm, al 100% presenta 13.62 y 14.26 mm respectivamente en comparación con el ciprofloxacino quien presenta el promedio 31.76 mm con una probabilidad de 0.05. Demostrando que ambos extractos presentan efecto antibacteriano pero en menor potencia que el ciprofloxacino.

El *Staphylococcus aureus*, es considerado como la bacteria más virulenta de todas las especies de *Staphylococcus*. Este agente ocasiona infecciones tanto de origen nosocomial como comunitario con o sin la presencia de toxinas.³ Es una cocobacteria gram positiva de aproximadamente 1 a 1,3 micras de diámetro, no forma esporas y es inmóvil, además es un anaerobio facultativo. Su acción deriva primordialmente de su estructura, la cual está compuesta por proteína A y una capa mucosa, tiene la capacidad de producir toxinas e isoenzimas como la catalasa, coagulasa, estafilocinasa, hemolisina,

hialuronidasa, lipasa. Además, presenta un ADN cromosomal cuyo gen mec contiene al gen A, el cual se encarga de modificar la estructura de las PBP2a que se unen a la penicilina, lo que le otorga una resistencia virtualmente completa a todos los antibióticos betalactámicos, incluso las penicilinas semisintéticas^{20,21,22,23}

Esta bacteria es un agente patógeno oportunista cuyas cepas tanto sensibles como las resistentes a meticilina tienen la propiedad de reproducirse en cualquier parte del cuerpo, generando de esta manera lesión celular localizada; podemos encontrar un 30% en la nariz del ser humano y en un 20% en la piel, siendo el porcentaje mucho mayor en pacientes hospitalizados.^{21, 23}

Ocasiona patologías a diferentes niveles: A nivel de piel: el impétigo, forúnculo, celulitis, abscesos, ántrax estafilocócico, impétigo buloso. En aparato respiratorio: faringitis, otitis, sinusitis, neumonía y abscesos a nivel pulmonar o pleural. En el sistema digestivo: absceso hepático, intoxicación alimentario y peritonitis. En el sistema nervioso central: meningoencefalitis. En el aparato urinario: nefritis, prostatitis y cistitis. En el aparato músculoesquelético: artritis, miositis y osteomielitis. En el aparato cardiovascular: miocarditis, pericarditis y endocarditis. En los ojos conjuntivitis y foliculitis.^{22, 24}

Dentro de los fármacos indicados para su tratamiento destacan los betalactámicos, encontrando a la meticilina y penicilinas isoxazólicas como la oxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina y cloxacilina que son 8 veces más activas que la meticilina, así mismo cefalosporinas de 1° generación y los carbapenems. Sin embargo, con el transcurrir de los años y estudios posteriores se ha evidenciado resistencia al tratamiento convencional, planteándose varios métodos de producción de resistencia, como la modificación de las PBP mencionada anteriormente, la hiperproducción de betalactamasa, y resistencia intrínseca a otras Meticilina.^{25,26}

La Oxacilina es una penicilina semisintética, cuya acción específica se basa en la inhibición de β lactamasa producida en la pared celular del *S. aureus*, ocasionando que el fármaco se una a las PBPs debilita y produzca lisis en la pared celular. A pesar de ello se ha evidenciado resistencia al tratamiento debido a la presencia del gen *mecA* que modifica la proteína fijadora de penicilina, ocasionando poca afinidad por los betalactámicos; así mismo existen condiciones que permiten detectar la resistencia a Oxacilina, dentro de ellas destaca neutralización de su pH, componentes hipertónicos, medios de incubación < 35°C y tiempo < 24 horas, y microorganismos densos.^{8, 25, 27,28}

Según la European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) del año 2012, sugiere que la resistencia del *S. aureus* se debe a mutaciones de la dehidrofolato reductasa o a su sobreproducción y a la existencia de plásmidos que dan lugar a la codificación de una nueva enzima⁴.

Este aumento de resistencia bacteriana ha hecho que diversas entidades amplíen sus investigaciones en otros campos de la medicina, tal es el caso de la Organización Mundial de Salud, quien analiza las propiedades de diversas plantas y las incorpora en la medicina tradicional como recursos medicinales.²

El *Chenopodium ambrosioides*, conocido como paico, pertenece a la familia *Chenopodiaceae*, es una planta aromática y medicinal de origen americano empleada desde tiempos antiguos, llega a medir hasta 1m de altura, sus hojas tienen una figura lanceolada de aproximadamente 5-8 cm de largo, sus flores son de 1 mm de diámetro y posea fruto y semillas, se siembra en las tres regiones del Perú y comúnmente la encontramos en diversos departamentos como Cajamarca, Cusco, Huánuco, Loreto y San Martín.^{29,30}

Posee diversos beneficios gracias a sus aceites esenciales, destacando el ascardiol por su acción antiparasitaria, antibacteriana, antifúngica, relajante muscular e hipotensor. Está compuesta primordialmente por un aceite esencial formado en las glándulas pilosas de las diferentes partes de la planta,

encontrándolo en un 60-80% conformado por ascaridol y por otros componentes como los compuestos fenólicos, p-cimeno, salicilato de metilo, limoneno, ácido butírico, alcanfor, pectina, sales minerales, cardiotónicos, antraquinonas, alcaloides, taninos y flavonoides.^{31,32,33}

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de Investigación.

Tipo: Aplicada

Diseño: Experimental con post prueba y estímulo creciente.

RG ₁	X ₁	O ₁
RG ₂	X ₂	O ₂
RG ₃	X ₃	O ₃
RG ₄	X ₄	O ₄
RG ₅	X ₅	O ₅

En donde:

RG: Grupo aleatorio de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

X₁: Agente antibacteriano a concentración de 100%

X₂: Agente antibacteriano a concentración de 75%

X₃: Agente antibacteriano a concentración de 50%

X₄: Agente antibacteriano a concentración de 25%

X₅: Oxacilina 1µg (control positivo)

3.2 Variables y Operacionalización.

Variables:

- Variable independiente: Agente antibacteriano

Agente no farmacológico:

- Extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides*
- Extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides*

Agente farmacológico:

- Oxacilina

- Variable dependiente: Eficacia antibacteriana

Operacionalización: Las variables en estudio se operacionalizaron según lo indicado en el anexo 1.

3.3 Población, muestra, muestreo.

Población:

Estuvo constituida por cultivos en placas Petri con cepas de *S. aureus*. Se consideró como criterios de inclusión a aquellos cultivos de *S. aureus* derivados de la cepa ATCC 25923, con 24 horas de cultivada y con crecimiento de colonias aisladas; excluyendo a aquellos cultivos contaminados o con crecimiento de colonias fusionadas.

Muestra: Estuvo conformada por 10 cultivos de *S. aureus*, provenientes de la cepa ATCC 25923, la cual se calculó mediante la fórmula para comparación de medias

Estimación del tamaño de la muestra

Fórmula para comparación de medias:

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

Dónde:

- $Z_{\alpha/2} = 1,96$ con un 95% de confianza
- $Z_{\beta} = 0,84$ para una potencia de prueba del 80%
- $\bar{X}_1 = 13^{29}$
- $\bar{X}_2 = 12,5^8$
- $\sigma^2 = 0,35^8$

$$n = 7,6832$$

Se obtuvo como muestra 8 placas Petri, sin embargo para fines de investigación la muestra estuvo conformada por 10 placas Petri (10 repeticiones por cada grupo).

Muestreo:

Fue aleatorio simple

Unidad de análisis

Conformada por cada placa Petri sembrada con cepas de *S. aureus* tratado con extracto etanólico y acuoso del *Chenopodium ambrosioides* (Paico) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Técnica: Se empleó la observación directa de la formación y medición de los halos de inhibición.

Instrumento: Se usó una ficha de recolección de datos estructurada con el número de repeticiones, las concentraciones de los extractos de *Chenopodium ambrosioides* y la oxacilina (control positivo) (Anexo 2)

Validación del instrumento:

Las fichas fueron evaluadas y validadas por tres profesionales expertos, quienes definieron la objetividad de la ficha utilizada en el presente estudio.

3.5. Procedimiento.

Para el desarrollo de este trabajo de investigación, se procedió de acuerdo a los pasos siguientes:

- a. Se identificó la taxonomía de la planta *Chenopodium ambrosioides* “paico” en el Herbarium Truxillense (HUT-HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo. (Anexo 3)
- b. Se hizo la extracción de los fitoquímicos de *Chenopodium ambrosioides* “paico” a través de los métodos de decocción con agua y de maceración en etanol. (Anexo 4)
- c. Se realizó el cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante la técnica de siembra en superficie, en agar Mueller-Hinton. (Anexo 5)
- d. Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos de *Chenopodium ambrosioides* “paico” a través del método de difusión de Kirby-Bauer modificado con pozos en agar, teniendo en cuenta los criterios de

susceptibilidad del M100 del Instituto de estándares para el laboratorio clínico (CLSI). (Anexo 6).

3.6. Métodos de análisis de datos

Se tuvo en cuenta cada valor inhibitorio del crecimiento bacteriano, el mismo que se obtuvo del extracto etanólico, extracto acuoso y del fármaco, los que posteriormente fueron recolectados en una tabla y procesados en SPSS 25.0 versión para Windows, además de un análisis de varianza (ANOVA) para determinar la diferencia entre las medias de los halos de inhibición de cada tratamiento y la significancia del estudio, así mismo se tuvo en cuenta la prueba de Tukey que nos ayudó a comparar las medias de los halos de inhibición de cada tratamiento.

3.7. Aspectos éticos

- Se informaron los resultados del proyecto independientemente si se confirma o no la hipótesis.
- Se tuvo presente la precaución conforme a la Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y al Protocolo de Cartagena sobre Seguridad en Biotecnología, teniendo en cuenta el peligro para la salud.^{35,36}
- Se tuvo en cuenta la Ley forestal y de la fauna silvestre (Ley N° 29763, artículo 24).⁴¹

IV. RESULTADOS

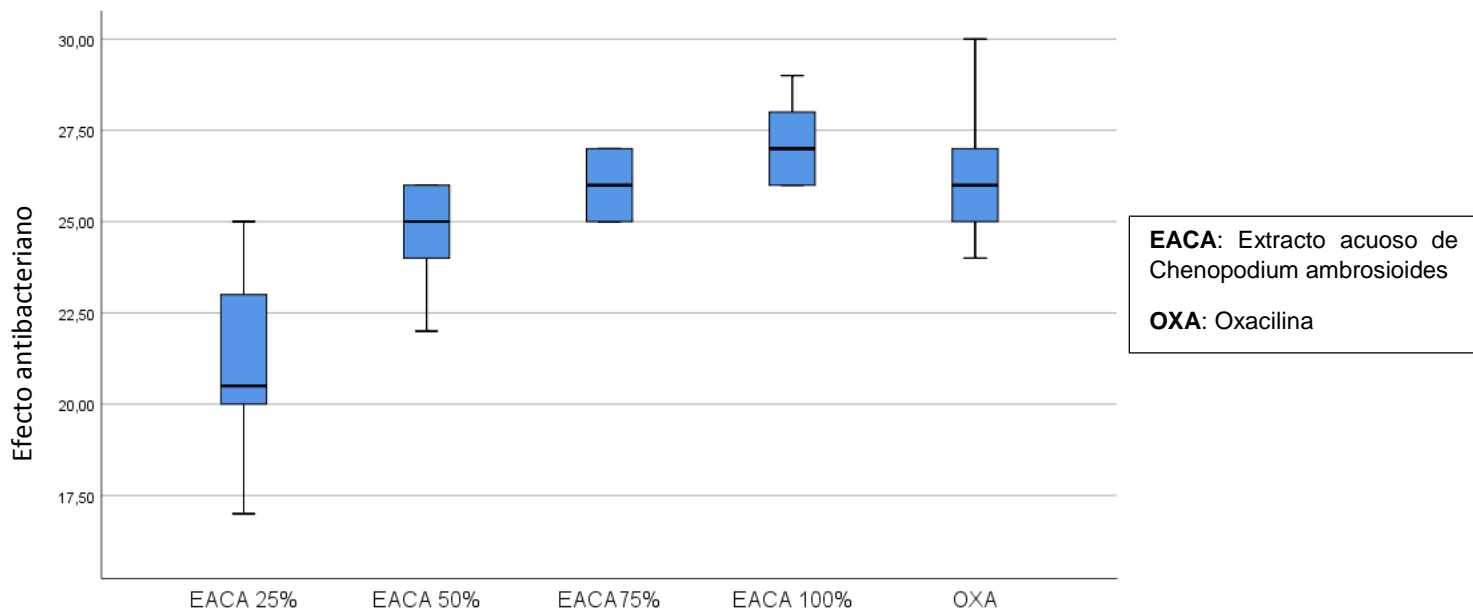
TABLA N°01: Eficacia antibacteriana de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* comparado oxacilina 1ug sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *in vitro*.

Extracto acuoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i>	N	Media	Desviación	Error	IC(95% confianza)		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
25%	10	21,2000	2,34758	,74237	19,5206	22,8794	17,00	25,00
50%	10	24,8000	1,22927	,38873	23,9206	25,6794	22,00	26,00
75%	10	26,1000	,87560	,27689	25,4736	26,7264	25,00	27,00
100%	10	27,0000	1,05409	,33333	26,2459	27,7541	26,00	29,00
Oxacilina 1ug	10	26,3000	1,88856	,59722	24,9490	27,6510	24,00	30,00

Fuente: Datos obtenidos de los halos de inhibición en las placas Petri. Laboratorio de Microbiología, octubre 2020.

Existe diferencia entre los promedios de los halos de inhibición de los diferentes tratamientos, siendo la concentración de *Chenopodium ambrosioides* al 100% (27mm, \pm 1,05 - IC 95%) superior al tratamiento con oxacilina de 1ug (26,3mm, \pm 1,88 – IC95%).

GRÁFICO N°01: Eficacia antibacteriana de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* y oxacilina sobre *Staphylococcus aureus*.



Fuente: Tabla N° 01

Se observa que el extracto acuoso del *Chenopodium ambrosioides* al 100% presenta un mayor efecto que las demás concentraciones y que la oxacilina de 1ug.

TABLA N° 02: Análisis de varianza de las medias de los halos de inhibición del extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* y oxacilina frente *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *in vitro*

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	213,480	4	53,370	21,405	0,000
Dentro de grupos	112,200	45	2,493		
Total	325,680	49			

Fuentes: Datos obtenidos de la medida de los halos de inhibición en las placas Petri. Laboratorio de Microbiología, octubre 2020.

Existe diferencia entre los promedios de los halos de inhibición de al menos 2 grupos investigados al presentar una $p=0,000$

TABLA N° 03: Prueba HSD Tukey para comparar la eficacia antibacteriana de las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* y oxacilina 1ug frente *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *in vitro*

Extracto acuoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i>	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
25%	10	21,2000		
50%	10		24,8000	
75%	10		26,1000	26,1000
Oxacilina 1ug	10		26,3000	26,3000
100%	10			27,0000
Sig.		1,000	0,228	0,708

Fuentes: Datos obtenidos de la medida de los halos de inhibición en las placas Petri. Laboratorio de Microbiología, octubre 2020.

No existe diferencia significativa entre los grupos evaluados y se forman tres subconjuntos por grupo, siendo el EACA al 100% el que presentó un efecto antibacteriano superior a las concentraciones menores de *Chenopodium ambrosioides* y que oxacilina de 1ug.

TABLA N°04: Eficacia antibacteriana de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* comparado oxacilina 1ug sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *in vitro*.

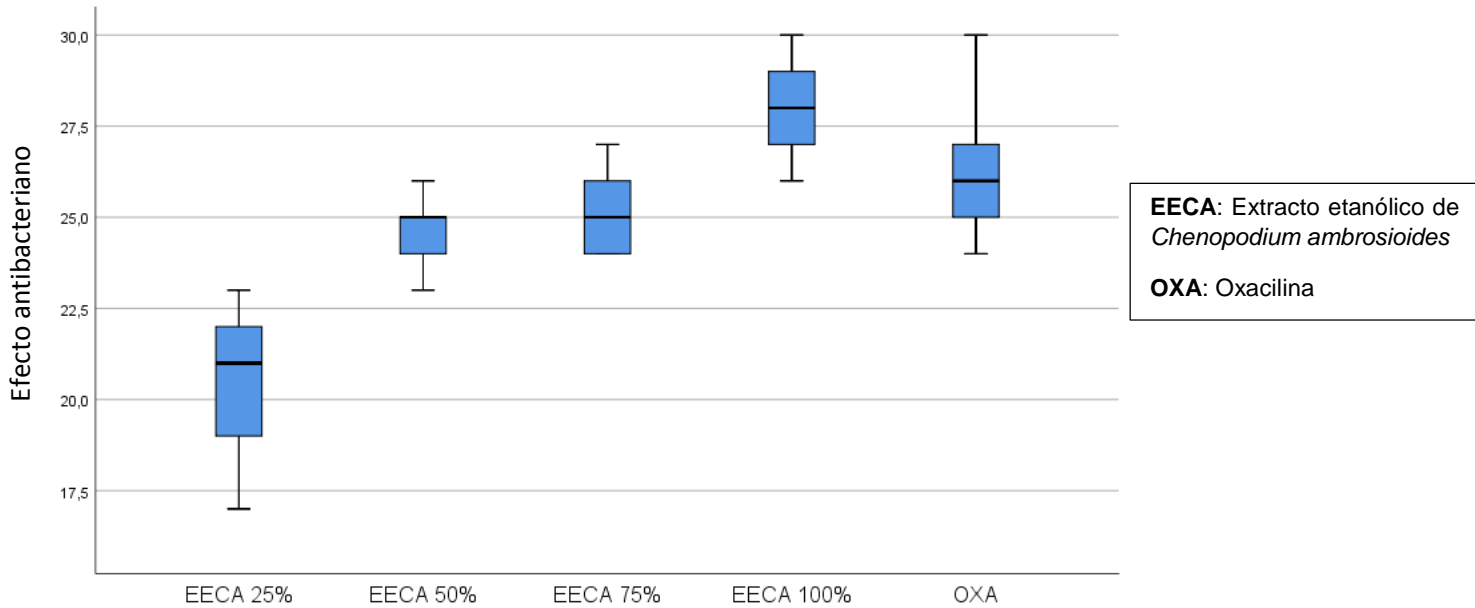
Halos de inhibición en mm

Extracto etanólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i>	N	Media	Desviación	Error	IC(95% confianza)		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
25%	10	20,50	2,121	,671	18,98	22,02	17	23
50%	10	24,60	1,075	,340	23,83	25,37	23	26
75%	10	25,20	1,135	,359	24,39	26,01	24	27
100%	10	28,10	1,449	,458	27,06	29,14	26	30
Oxacilina 1ug	10	26,30	1,889	,597	24,95	27,65	24	30

Fuente: Datos obtenidos de los halos de inhibición en las placas Petri. Laboratorio de Microbiología, octubre 2020

Existe diferencia entre las medias de los halos de inhibición de los diferentes tratamientos, sin embargo el extracto etanólico del *Chenopodium ambrosioides* al 100% (28mm, $\pm 1,45$ - IC 95%) fue superior al tratamiento con oxacilina 1ug (26,3mm, $\pm 1,88$ - IC 95%).

GRÁFICO N°02: Eficacia antibacteriana de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* y oxacilina sobre *Staphylococcus aureus*.



Fuente: Tabla N°04

Se observa que el extracto etanólico del *Chenopodium ambrosioides* (EECA) al 100% presenta un mayor efecto en comparación con concentraciones menores y que la oxacilina 1ug.

TABLA N° 05: Análisis de varianza de las medias de los halos de inhibición del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* y oxacilina frente *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *in vitro*

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	317,320	4	79,330	31,452	,000
Dentro de grupos	113,500	45	2,522		
Total	430,820	49			

Fuentes: Datos obtenidos de la medida de los halos de inhibición en las placas Petri. Laboratorio de Microbiología, octubre 2020.

Existe diferencia altamente significativa entre los promedios de los halos de inhibición de al menos 2 grupos investigados al presentar una $p=0,000$

TABLA N° 06: Prueba HSD Tukey para comparar la eficacia antibacteriana e las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* y oxacilina 1ug frente *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *in vitro*

Extracto etanólico de Chenopodium ambrosioides	Halos de inhibición			
	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
25%	10	20,50		
50%	10		24,60	
75%	10		25,20	
oxacilina	10		26,30	26,30
100%	10			28,10
Sig.		1,000	0,136	0,101

Fuentes: Datos obtenidos de la medida de los halos de inhibición en las placas Petri. Laboratorio de Microbiología, octubre 2020.

No existe diferencia significativa entre los grupos evaluados y forman tres subconjuntos por grupo, siendo el EECA al 100% el que presentó una eficacia antibacteriana superior a las concentraciones menores de *Chenopodium ambrosioides* y que oxacilina de 1ug.

TABLA N° 07 Eficacia antibacteriana de oxacilina a 1ug sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *in vitro*

IC(95% confianza)								
	N	Media	Desviación	Error	Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
OXACILINA	10	26,30	1,889	,597	24,95	27,65	24	30

Fuente: Datos obtenidos de los halos de inhibición en las placas Petri. Laboratorio de Microbiología, octubre 2020.

Se observa que la media de oxacilina (grupo control) es de 26.30mm \pm 1.89 – IC 95%.

V. DISCUSIÓN

La resistencia bacteriana a múltiples medicamentos es una problemática en salud pública y *Staphylococcus aureus* es una de las bacterias Gram positivas que han desarrollado dicha resistencia a través de mecanismos moleculares que inactivan al antibiótico. Por ello, muchos investigadores buscan alternativas de tratamiento basadas en la herbolaria para tratar diversas infecciones ya que en algunos estudios se han evidenciado compuestos biológicos activos como antibacterianos.^{5, 7, 35}

En este estudio se encontró que existe diferencia entre los promedios de los halos de inhibición de los diferentes tratamientos, siendo la concentración de extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* al 100% (media de 27mm, $\pm 1,05$ - IC 95%), superior al tratamiento con oxacilina 1ug (Tabla 1). Este resultado es comparable al estudio de Singh K. et al ¹³ (India, 2011) quienes evidenciaron el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* frente a *Staphylococcus aureus* a una concentración del 100% obteniendo halo de inhibición de 25 mm. En ambos estudios se empleó el método de Kirby-Bauer para determinar la actividad antibacteriana que es otorgada por los componentes fitoquímicos de la planta, sin embargo la variación de halos podría deberse a la concentración en la que está el extracto de los diferentes estudios (170mg/mL y 150mg/mL respectivamente).

En ambas investigaciones se demostró que el *Chenopodium ambrosioides* a una concentración del 100% presenta eficacia antibacteriana al cumplir con los criterios de sensibilidad del CLSI (se considera sensible si el halo de inhibición es ≥ 22 mm).³⁴ Por otro lado Rojas N y Del Castillo C ¹⁷ (Perú, 2016) utilizaron extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* para determinar la eficacia antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* utilizando concentraciones de 6mg/mL y 12mg/mL, sin embargo no obtuvieron resultados favorables (halos de inhibición de 00mm) para ambas concentraciones. Esta diferencia se

debe a que los investigadores emplearon concentraciones muy pequeñas de *Chenopodium ambrosioides* a diferencia de nuestra investigación donde se utilizaron concentraciones de 170mg/mL para lograr la eficacia antibacteriana.

El efecto *antibacteriano* del extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* se debe a sus diversos componentes fitoquímicos, tales como: α -terpineno, p-cimeno, flavonoides, alcaloides y taninos gálicos,³⁹ debido a que poseen la facultad de hidrofobicidad permitiéndoles fraccionarse en la membrana y mitocondria de la célula bacteriana, modificando su estructura y volviéndolas permeables, de esta manera ocasiona fuga de iones y otros contenidos celulares.⁴⁰

Para comparar la eficacia antibacteriana de los diferentes tratamientos empleados en este estudio, se empleó el análisis de varianza, que indica que existe diferencia entre los promedios de los halos de inhibición de al menos 2 grupos investigados al presentar una $p=0,000$ (Tabla 2). Haciendo referencia que entre las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% del extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* y oxacilina de 1ug hay diferencia de diámetro entre los halos de inhibición de al menos dos de ellas. Para ello, se ha empleado la prueba post hoc Tukey para determinar la significancia de los grupos de estudio, donde se identificó que no existe diferencia significativa ($p>0.05$) entre los grupos evaluados ni entre los subconjuntos por grupo (Tabla 3). Resultados comparables con la investigación de Hameed S. et al¹¹ (Pakistán, 2014), quienes utilizaron análisis de varianza, encontrando que existe diferencia significativa entre los grupos estudiados con una $p=0,000$.

Por otro lado en el presente estudio se observó que existe diferencia entre los promedios de los halos de inhibición de las distintas concentraciones del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* y de la oxacilina, siendo la concentración del extracto etanólico del *Chenopodium ambrosioides* al 100% (28mm $\pm 1,45$ -IC 95%) superior a las concentraciones menores y al tratamiento con oxacilina de 1ug (Tabla 4).

Este resultado es comparable con la investigación de Zegeye N, et al ⁵ (Etiopía, 2020) quienes evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* sobre *Staphylococcus aureus* a una concentración del 100% presentando halo de inhibición de 20mm. En ambos estudios se empleó la técnica de difusión en agar, sin embargo la diferencia de halos podría deberse al tipo de solvente empleado (etanol 96° usado en la presente investigación y éter de petróleo, etanol y cloroformo usado por la investigación de Zegeye N, et al y al proceso del filtrado (doble filtrado con gasa estéril y papel filtro y filtro al vacío respectivamente).

Con ello se demostró que existe eficacia antibacteriana al cumplir con los criterios de sensibilidad del CLSI (sensible si el halo de inhibición es $\geq 22\text{mm}$).³⁴ Así mismo Itelima J, et al³⁷ (Nigeria, 2018) evaluaron las propiedades antimicrobianas del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* a concentraciones de 200 mg/ml, 100 mg/ml, 50 mg/ml y 25 mg/ml frente a *Staphylococcus aureus*, obteniendo halos de 14mm, 12mm, 10mm, 9mm respectivamente. Esta diferencia podría deberse a que se empleó como disolvente para el extracto etanólico diferentes grados de etanol (96° y 70° respectivamente), así como al grado de calor al que estuvo expuesto el extracto (45° y 70° respectivamente)

Por su parte Izquierdo S ¹⁹ (Trujillo, 2016) determinó la actividad antibacteriana de distintas concentraciones de extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* comparado con ciprofloxacino, encontrando un halo de inhibición de 14.26 mm a una concentración del 100%, demostrando que existe actividad antibacteriana solo a esta concentración al cumplir con los criterios de sensibilidad establecidos para ciprofloxacino ($\geq 13\text{mm}$); sin embargo difiere con nuestros resultados debido a que se empleó como grupo control diferente fármaco (Oxacilina). Independientemente de los diferentes criterios de

sensibilidad, se demostró el efecto antibacteriano de *Chenopodium ambrosioides*.

El extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* tiene propiedades antibacterianas debido a sus componentes fitoquímicos como taninos, flavonoides, saponinas, alcaloides, carbohidratos, esteroides, glucósidos cardíacos, terpenos y en especial a compuestos fenólicos (rutinina, quercetina y la crisina), los cuales se pueden verificar mediante el análisis de la cromatografía líquida (HPLC), quienes a través de la permeación y desestabilización de la membrana bacteriana alteran la fuerza motriz del protón, el flujo de electrones y la fuga del contenido celular, causando así efecto bactericida.^{6 y 37}

Así mismo en este estudio se aplicó el análisis de varianza, indicando diferencias entre las medias de los halos de inhibición de al menos 2 grupos investigados al presentar una $p=0,000$ (Tabla 5), haciendo referencia que entre las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% del extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* y oxacilina de 1ug hay diferencia de diámetro entre los halos de inhibición de al menos dos de ellas. Se empleó la prueba post hoc Tukey para determinar la significancia de los grupos de estudio, donde no se evidenció diferencia significativa entre los grupos evaluados (Tabla 6). Resultados comparables con la investigación de Lezama M¹⁴ (Perú, 2019), quién empleó en su estudio el análisis de varianza, encontrando diferencia significativa entre los grupos evaluados con una $p=0,000$, a su vez empleó la T-Student para determinar la diferencia significativa entre las medias de dos grupos, encontrando un $p<0,01$.

A su vez, en este estudio se tuvo en consideración evaluar la actividad antibacteriana de la oxacilina (grupo control) donde se observó que existe tal efecto frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923 al presentar una halo de inhibición medio de $26.30\text{mm} \pm 1.89$ - IC 95% (Tabla 7). Este valor está considerado dentro de los criterios de sensibilidad del CLSI (halo $\geq 22\text{mm}$).³⁴

Con ello se demostró en la investigación que tanto el extracto acuoso como el extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* presentan efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923. De esta manera se confirma la hipótesis planteada.

VI. CONCLUSIONES

- 1.- El extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* a concentraciones mayor o igual de 50% presentan eficacia antibacteriana frente *Staphylococcus aureus* ATCC25923.
- 2.- El extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* a concentraciones mayor e igual de 50% presentan eficacia antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923.
- 3.- La oxacilina de 1ug presenta eficacia antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923
- 4.- Tanto el extracto acuoso como el extracto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* a concentraciones del 100% presentaron eficacia antibacteriana superior a la Oxacilina de 1ug sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar posteriores investigaciones con la finalidad de comparar los efectos antibacterianos del extracto acuoso y etanólico de *Chenopodium ambrosioides* a sus diferentes concentraciones.
- Realizar estudios sobre distintos extractos de *Chenopodium ambrosioides* y sus propiedades antimicrobianas.
- Realizar investigaciones sobre terapias combinadas de extractos de *Chenopodium ambrosioides* con fármacos antibacterianos.

REFERENCIAS

1. Moncayo M. La resistencia a los antibióticos y la falta de interés de la industria farmacéutica. Infectio Asociación Colombiana de Infectología. 2014; 18(2): p. 35 - 36. Disponible desde <https://core.ac.uk/download/pdf/82381723.pdf>
2. Bussman R, Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia: La flora mágica y medicinal del norte del Perú. Perú. 2015; 15 (1): p. 7 -11. Disponible desde: https://www.researchgate.net/profile/Rainer_Bussmann/publication/283355334_PLANTAS_MEDICINALES_DE_LOS_ANDES_Y_LA_AMAZONIA_-_La_Flora_magica_y_medical_del_Norte_del_Peru/links/563a6f7808ae405111a5883f/PLANTAS-MEDICINALES-DE-LOS-ANDES-Y-LA-AMAZONIA-La-Flora-magica-y-medical-del-Norte-del-Peru.pdf
3. Sanchez S, Curitima E. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcoholico de hojas de *Chenopodium ambrosioides* (Paico) por el método de macrodilución en caldo frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. (Tesis Pregrado). Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016. Disponible desde: <http://repositorio.unapikitos.edu.pe/handle/UNAP/3864>
4. Osuna L, Tapia M, Aguilar A. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales, estudio etnobotánica, fitoquímico y farmacológico. Publicaciones y Ed. de la Universidad de Barcelona. España; 2005. Pg: 25. Disponible desde: <http://www.publicacions.ub.es/refs/indices/06499.pdf>
5. Zegeye N, Taddese S, Zenebe T, Dires K, Tedla A, Mengiste B, et al. In vitro antimicrobial activity of six Ethiopian medicinal plants against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. Editorial Elseiver. Etiopía, 2020.
6. Jesus R, Piana M, Freitas R, Brum, Alves C, Belke B. Actividad antimicrobiana y antimicobacteriana in vitro y detección por HPLC-DAD de fenólicos de *Chenopodium ambrosioides* L. Braz. J. Microbiol. vol.49 no.2 São Paulo Abr./Jun. 2018. Disponible desde:

https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1517-83822018000200296&lng=en&nrm=iso

7. Oliveira C, Relison S, Limaverde P, Figueredo F, Campina F, Da Cunha F, et al. Inhibición del aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. y α -terpineno en la bomba de flujo NorA de *Staphylococcus aureus*. Editorial ELSEIVER. Rev. Food Chemistry, Volumen 262, 1 de octubre de 2018, páginas 72-77. Disponible desde: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461830654X>
8. Fdil R, Derhail S, Maliki S, Filali N, Zefzoufi M, Abbouyi A, et al. Comparative analysis, antibacterial and antiradical activities of essential oils in leaves and fruits of *Chenopodium ambrosioides* of Morocco. Res J Pharm Biol Chem Sci. Marruecos, 2017.
9. Ajaib M, Hussain T, Farooq S, Ashiq M. Analysis of Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Chenopodium ambrosioides*: An Ethnomedicinal Plant. Pakistan. BMC Chem; 2016. Vol 16, p: 3-5. Disponible desde: <https://www.hindawi.com/journals/jchem/2016/4827157//>
10. Andrade J, Gracas M, Batista L, Castro E, Teixeira M, Ferreira M. Essential oil from *Chenopodium ambrosioides* L.: secretory structures, antibacterial and antioxidant activities. Acta Scientiarum. Biological Science. Maringá, v. 38, n. 2, p. 139-147. Basil, 2016.
11. Hameed S, Muhammad N, Muhammad S, Nafees B. Antimicrobial studies of the crude extracts from the roots of *Chenopodium ambrosioides* s linn. Institute of Chemical Sciences, University of Peshawar, Pakistan. May 2014. Disponible desde: http://www.academicjournals.org/article/article1401275147_Shah%20et%20al.pdf
12. Hameed S. Antibacterial and antifungal activities of the crude extracts from the stem of *Chenopodium ambrosioides* linn, an indiginous medicinal plant. Institute of Chemical Sciences, University of Peshawar, Pakistan. February 2014. Disponible desde: http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1393947956_Shah.pdf

13. Singh K, Kumar A, Dhakre G. Evaluation of antibacterial activities of *Chenopodium album* L. Department of Botany, R.B.S.College, Agra (India). September; 2012. Vol: 2: Disponible desde: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.401.9419&rep=rep1&type=pdf>
14. Lezama M. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Chenopodium ambrosioides* L. (paico) sobre *Staphylococcus aureus*. (Tesis pregrado). Perú: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2019. Disponible desde: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/11058/ACEITE_%20ESENCIAL_LEZAMA_PAREDES_MIRELY.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. 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 Pregrado). Perú: Universidad Nacional del Altiplano; 2017. Disponible desde: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/6069/Aquino_Apaza_Edwin.pdf?sequence=1&isAllowed=y
16. Chambi D, Pacheco K. Evaluación del Efecto Antimicrobiano In Vitro del Extracto y el Aceite Esencial de las Hojas de *Chenopodium Ambrosioides* L. "Paico" en Cepas de *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermidis*, *Escherichia Coli*, *Pseudomona Aeruginosa* y *Cándida Albicans*. (Tesis Pregrado). Perú: Universidad Católica de Santa María; 2017. Disponible desde: <https://core.ac.uk/download/pdf/198121281.pdf>
17. Rojas N, Del castillo C. Actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso y etanólico de las hojas de *Chenopodium ambrosioides* (Paico), frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, mediante los métodos de difusión en agar y macrodilución. (Tesis Pregrado). Perú: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016. Disponible desde: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/3861>
18. 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 Pregrado). Perú: Universidad Nacional de San Antonio de Abad del Cuzco; 2016. Disponible desde: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/1063>
19. Izquierdo S. Eficacia antibacteriana de los extractos etanólicos de Chenopodium ambrosioides I. "Paico" y el Pimpinella anisum I. "Anis" comparado con ciprofloxacino sobre cepa de escherichia coli: un estudio in vitro. Perú: Universidad César Vallejo; 2016. (Tesis pregrado). Disponible desde: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/570/izquierdo_sh.pdf?sequence=1&isAllowed=y
20. Taroco R, Seija, V. Vignol. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica Temas de bacteriología y virología médica. Oficina del libro FEFMUR. Uruguay; 2006: Vol 36(1), Pag: 665-668. Disponible desde: <http://www.higiene.edu.uy/bacvir/materiales/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>
21. Larry M, Maria T. Infecciones por estafilococos. En: Robert S, Richard B, Karen T, et al, editores. Manual MSD. 2019. Disponible desde: <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/cocos-grampositivos/infecciones-por-estafilococos?query=staphylococcus%20aureus>
22. The Center for Food Security y Public Health. Staphylococcus aureus resistente a meticilina. 2011. Disponible desde: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/mrsa-es.pdf>
23. Romero R. Microbiología y parasitología humana. 3° edición. Editorial médica Panamericana. Mexico. Pag 689-670, 2007. Disponible desde: <https://books.google.com.pe/books?id=Wv026CUhR6YC&pg=PA689&dq=patolog%C3%ADa+que+produce+el+staphylococcus+aureus&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjSvurpwOrhAhXtt1kKHQrvDRUQ6AEIPjAE#v=onepage&q=patolog%C3%ADa%20que%20produce%20el%20staphylococcus%20aureus&f=false>

24. Mensa J, Soriano A, Llinares P, Barberán J, Montejo M, Salavert M. Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. Rev Esp Quimioter 2013; 26 (Supl. 1):1-84. Disponible desde: <https://seq.es/seq/0214-3429/26/sup/guia.pdf>
25. Gil D. Staphylococcus aureus: Microbiología y aspectos moleculares de la Resistencia a meticilina. Rev Chil Infect (2000); 17 (2): 145-152. Disponible desde: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v17n2/art10.pdf>
26. Calvo D. Oxacilina. Departamento general de farmacoepidemiología. Cuba. Disponible desde: <http://fnmedicamentos.sld.cu/index.php?P=FullRecord&ID=126>
27. Ardanu C, I Cercenado, Morosini M, Torres C. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en grampositivos. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2011. Disponible desde: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia39.pdf>
28. Castellanos G, Rubén J. Epazote (*Chenopodium ambrosioides*). Revisión a sus características morfológicas, actividad farmacológica, y biogénesis de su principal principio activo, ascaridol Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, vol. 7, núm. 1, 2008, pp. 3- 9. Chile: Disponible desde: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85670103.pdf>
29. MEJIA K, Rengifo. Plantas medicinales de uso popular en la amazonia peruana. Segunda edición. Perú, 2000, pag 141. Disponible desde: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>
30. Biopat-Perú. Paico. (Internet). Año 1, N° 11 Noviembre 2015. P: 1-2. Disponible desde: <https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/202940/Bolet%C3%ADn+N%C2%BA+11+%E2%80%93Tema+PAICO/6ff56ee5-e260-4342-b8d4-31dae98a46f9>
31. Gupta, M. Planta Medicinales Iberoamericanas. Editorial presencia. Colombia, 2008. Disponible en: <http://aprendeonlinea.udea.edu.co/ova/?q=node/681>

32. Organización Mundial de la Salud. Declaración de Rio sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo. Departamento de Asuntos Económicos y Sociales. División del Desarrollo Sostenible. Rio de Janeiro; 3-14 de junio de 1992.
33. Protocolo de Cartagena sobre Seguridad de la Biotecnología del Convenio sobre la Diversidad Biológica. Nairobi; mayo de 1992 Montreal: Secretaría del Convenio sobre la Diversidad Biológica. 2000.
34. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 29th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2019. Disponible desde: <https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fwww.techstreet.com%2Fmss%2Fproducts%2Fpreview%2F2031512%3Ffbclid%3DIwAR3TM68myyGEniAUF65GyhPeRFF8H2vI2Dzp6alIH4QjRITiF4UsUBIY80&h=AT2ysHP0SnDUwWTPHqgV9YOhVtNP4tZy0k-5HN4n2BZ3rSvmsLNbXa7UqlD3bdIVKP5TWiVs4vVHJjKO3uVTKrs4L5kfEDQtnQFz0Zw1JJ36t0HkMh0pdC2kYOTL6vj1baK>
35. Lima F, Faustino F, Oliveira A, Mattos L, et al. Biological activities of extracts from *Chenopodium ambrosioides* Lineu and *Kielmeyera neglecta* Saddi. Sousa et al. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 2012.
36. Moreno M., Parada E., Mejía J., Espinoza P. Toxicología subcrónica de infusión de *Chenopodium ambrosioides* (epazote) por administración oral en ratones NIH. *Rev. Cubana Plant Med.* Vol.18 No.1 ene.-mar. 2013.
37. Itelima, J, Okoroigwe, J, Eluma, M. Assessment of Antimicrobial and Antioxidant Properties of Ethanolic Extracts of the Leaves of *Dysphania ambrosioides* (L.) *Tithonia diversifolia* (hemsly) A Gray and *Laggera alata* (D. Don). *Direct Res. J. Biol. Biotechnol. Sci.* Vol.4 (5), pp. 68-80, August 2018
38. Picazo J. Métodos básicos para el estudio de sensibilidad a los antimicrobianos. Recomendaciones de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. 1er ed. España: 2003. cap. 11, p: 15. Disponible desde: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
39. Althobaiti F. Evaluation of the *Chenopodium Ambrosioides* Leaf Extract from Taif Region, Saudi Arabia on Antimicroorganisms and the Assessment of its

- Genetic Diversity using the RAMP Assay. *Biomedical & Pharmacology Journal*. Vol. 13(2), p. 725-736. 2020
40. Boutkhil S, El Idrissi M, Amechrouq A, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of crude, aqueous, ethanol extracts and essential oils of *Dysphania ambrosioides* (L.). *Acta Botanica Gallica: Botany Letters* 156 (2), 201-209. 2014.
41. Servicio Nacional forestal y de fauna silvestre. Ley Forestal y de Fauna Silvestre Ley N° 29763 y sus Reglamentos. Perú; 2015.

ANEXOS

Anexo 1 Operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I. Extractos de <i>Chenopodium ambrosioides</i>	El extracto es la sustancia con fitocomponentes activos, obtenido por métodos de extracción por maceración, decocción, infusión etc. utilizando solventes. ¹⁹	La evaluación de los extractos de <i>Chenopodium ambrosioides</i> se hará a 4 concentraciones: 100% 75% 50% 25% Oxacilina DMSO	G ₁ G ₂ G ₃ G ₄ G ₅ G ₆	Cualitativo - Nominal
V. D. Eficacia antibacteriana	Facultad que posee una sustancia química de actuar contra diferentes microorganismos inhibiendo su crecimiento. ³³	Se evalúa por el método de Kirby-Bauer cuya evidencia será la formación de zonas de inhibición. Se considerará los criterios del CLSI ³⁴ Sensible ≥ 22 mm Resistente ≤ 21 mm	Eficaz No eficaz	Cualitativo - Nominal

ANEXO 2

Ficha de recolección de datos

Zonas de inhibición (mm)									
N° Repet.	Extracto etanólico de <i>Chenopodium ambrosioides</i>				Extracto acuoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i>				OXACILINA
	100%	75%	50%	25%	100%	75%	50%	25%	
1	26	25	25	21	26	26	24	20	25
2	28	27	26	18	27	25	25	21	30
3	30	24	24	22	27	27	26	24	27
4	28	26	25	19	29	26	26	22	24
5	27	27	26	23	28	27	22	25	26
6	28	24	23	22	26	25	25	23	26
7	26	25	24	23	26	26	24	20	25
8	30	25	25	17	27	27	26	17	26
9	29	24	23	19	28	27	25	20	29
10	29	25	25	21	26	25	25	20	25

Anexo 3

Identificación taxonómica de *Chenopodium ambrosioides* por el Herbarium Truxillense HUT-HUT de la Universidad Nacional de Trujillo.



CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO



Calidad y profesionalismo el servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha cedido *ad honorem* sus instalaciones, en donde HELLEN LISETH RIVAS YZQUIERDO, estudiante de Medicina de la Universidad

César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Eficacia antibacteriana in vitro de extractos de *Chenopodium ambrosioides* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con oxacilina.", durante los días 07 al 11 de octubre de 2020, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime

Abelardo Polo Gamboa.

Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 27 días del mes de octubre de 2020.


José Luis Caila Quevedo
BIÓLOGO - MICROBIÓLOGO
C.B.P. 0301

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo

Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo

☎ 769999 - 📞 948649844

✉ sanjoselabs@hotmail.com

🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/

Anexo 4

Tratamiento de la muestra

Obtenida la planta fresca de *Chenopodium ambrosioides* “paico”, se trasladó al laboratorio, donde se seleccionó los ejemplares en buenas condiciones, aproximadamente 4kg, luego se extrajeron las hojas, se desinfectaron con agua clorada y se enjuagaron con agua destilada. Se pusieron sobre papel absorbente hasta quitarles toda el agua, posteriormente se colocaron en cartulina dúplex y se llevó al horno a deshidratar a 45°C durante 48 horas. Después, se trituroó manualmente y se conservó en un recipiente oscuro.

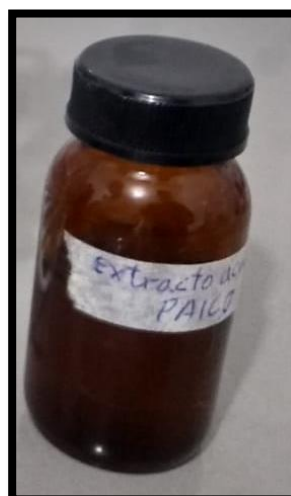


Obtención de los extractos de *Chenopodium ambrosioides*

Obtención del extracto acuoso por el método de decocción con agua

Se elaboró por el método de decocción; para lo cual, se agregó en un matraz Erlenmeyer 20 g de la muestra y 200 ml de agua destilada; se llevó a una cocina y se hizo hervir por 15 minutos. Se retiró del calor y se dejó enfriar. Después, se realizó una doble filtración. Primero con una gasa estéril y después con papel filtro Whatman N°41. De este modo, se obtuvo el extracto acuoso (EA) al 100%; el cual, se conservó en un recipiente de vidrio ámbar a 6°C hasta su utilización³⁴.

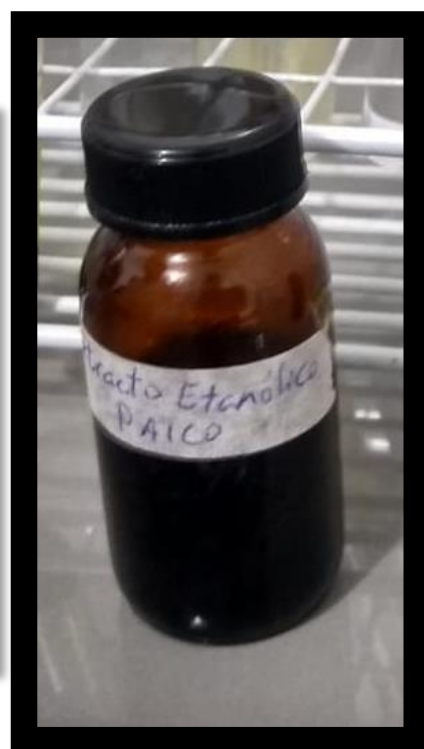
EA al 100% presenta una concentración = 170 mg/ml, lo que significa que cada ml de EA al 100% contiene 170 mg de fitoquímicos de paico.



Obtención del extracto etanólico por el método de maceración

Se elaboró por el método de maceración en etanol de 96°; para ello, se agregó en un recipiente de vidrio 20 g de la muestra y 100 ml de etanol, se cerró el frasco y se envolvió absolutamente con papel aluminio. Luego, se llevó al horno a 45°C por 8 días con agitación de 4 veces diarias. Después, se realizó una doble filtración. Primero con gasa estéril y después con papel filtro Whatman N°41. De este modo, se obtuvo el extracto etanólico (EE) al 100%; el cual, se conservó en un envase de vidrio ámbar a 6°C hasta su utilización³⁴

EE al 100% presenta una concentración = 142 mg/ml, lo que significa que cada ml de EE al 100% contiene 142 mg de fitoquímicos de paico.



Anexo 5

Cultivo de *Staphylococcus aureus*

Se empleó agar Mueller-Hinton, el cual se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Después, se vertió en placas petri 18 ml de medio de cultivo, dejándolas reposar hasta que solidifiquen.



Anexo 6

Evaluación del efecto antibacteriano por el método de difusión con disco

Prueba de susceptibilidad

Se utilizó el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar, considerando los criterios del CLSI. Así mismo se tuvo en consideración los estándares M02 y M100.

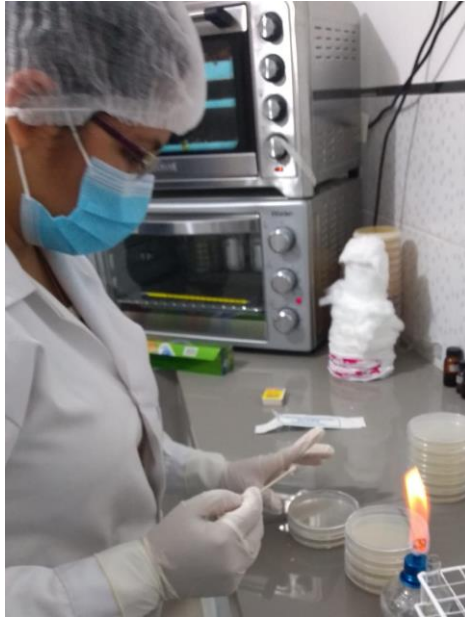
a) Preparación del inóculo

Se agregó 3 ml de solución salina en un tubo de ensayo estéril, al cual se le añadió una alícuota de *Staphylococcus aureus*, cultivado hace 24 horas, observándose una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.)



b) Siembra del microorganismo

Se embebió un hisopo estéril en el inóculo y se extendió sobre toda la superficie del medio de cultivo (siembra por estrías en superficie).



c) Preparación de las concentraciones del EE y EA

Del EE al 100% se prepararon 3 concentraciones (75%, 50% y 25%), empleando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 3 tubos de ensayo con las 3 concentraciones y se agregó 750 μL de EE y 250 μL de DMSO al tubo de 75%, 500 μL de EE y 500 μL de DMSO al tubo de 50%, y 250 μL de EE y 750 μL de DMSO al tubo de 25%. Se procedió de forma similar para el EA.





d) Preparación de los discos de sensibilidad con EE y EA

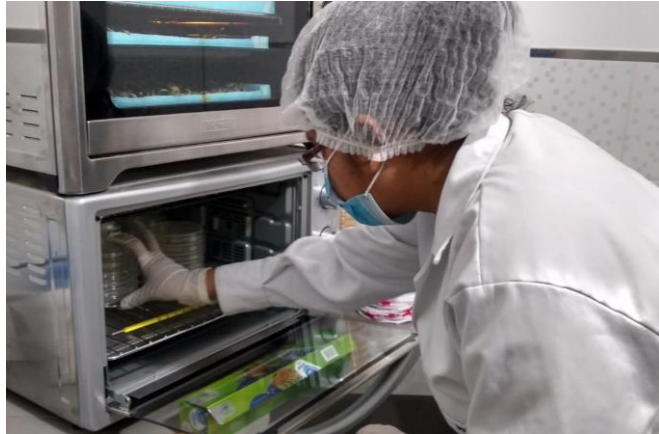
Se utilizó disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados, tomándose 10 μ L de EE al 25% y se agregó en un disco, 10 μ L de EE al 50% en otro disco, 10 μ L de EE al 75% en otro disco y 10 μ L de EE al 100% en otro disco. Repitiéndose por 10 veces. De forma similar se procedió con el EA.



e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con una pinza metálica estéril, se cogieron los discos de sensibilidad preparados con EE y se pusieron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la placa petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con Oxacilina. Se reposaron durante 15 min y después se incubaron las placas en la estufa a 37°C por 24 horas. Se realizó lo mismo con los discos preparados con EA.





f) Lectura e interpretación

Se observó y midió con una regla Vernier el diámetro de la zona de inhibición. Esta medición se empleó para cada una de las concentraciones de EE y EA de *Chenopodium ambrosioides* y para oxacilina, y se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el M100 del CLSI.³⁴

