



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

**EFEECTO ANTIMICROBIANO DEL *Citrus aurantium* COMPARADO
CON OXACILINA EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus coagulasa
positivo***

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR:

GRASSY ELVA

SIMON SCAMARONE

ASESORES:

DR. JAIME POLO GAMBOA

DRA. ANA PERALTA IPARRAGUIRRE

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

Trujillo - Perú

2018

DEDICATORIA

A mis padres, por ser el pilar fundamental en mi vida.

*A mis hermanos, por creer en mí y enseñarme más cosas
de las cuales yo pude aprender.*

*A mis maestros por reforzar mi carácter e intervenir en mi
preparación académica y sensibilidad humana.*

*A ti, por el apoyo incondicional y comprensión que
siempre me has brindado, porque este esfuerzo y logro
también es tuyo.*

AGRADECIMIENTO

A mis asesores, que muy pacientemente me guiaron en este camino, por el tiempo brindado.

A mis maestros, Dr. Jaime Polo, Dr. Gabriel Pérez, Dra. Evelyn Goicochea, Dra. Anita Peralta y Dr. Carlos Tapia, que hicieron de esto lo mejor con cada consejo y corrección.

A todas las personas que creyeron en mí, especialmente a mi familia y amigos.

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo Grassy Elva Simon Scamarone con Documento nacional de identidad N° 47937125 a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas - Escuela de Medicina, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, Noviembre 2018

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada Efecto antimicrobiano del *Citrus aurantium* comparado con Oxacilina en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

ÍNDICE

Tabla de contenido

DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	4
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	5
PRESENTACIÓN	6
ÍNDICE	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
I. INTRODUCCIÓN	10
1.1 Realidad Problemática	10
1.2 Trabajos previos	11
1.3 Teorías relacionadas al tema	13
1.4 Formulación del Problema	16
1.5 Justificación del estudio	16
1.6 Hipótesis	16
1.7 Objetivos	17
II. MÉTODO	18
2.1 Diseño de Investigación	18
2.2 Variables, Operacionalización	18
2.3 Población y muestra	21
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	22
2.5 Métodos de análisis de datos	25
2.6 Aspectos éticos	25
III. RESULTADOS	26
IV. DISCUSIÓN	30
V. CONCLUSIONES	32
VI. RECOMENDACIONES	33
VII. PROPUESTA	34
REFERENCIAS	35
ANEXOS	38

RESUMEN

El control de patógenos resistentes representa un gran desafío en la disminución de la morbimortalidad en Latinoamérica. Los esfuerzos convencionales han sido insuficientes, por lo que la investigación se ha dirigido en los últimos años a tratamientos alternativos. Este estudio investiga el efecto antibacteriano del *Citrus aurantium* comparado con Oxacilina contra cepas de *St. aureus*. Este estudio experimental ejecutado en el laboratorio de la Universidad César Vallejo, Perú. Con muestra de 16 repeticiones por cada grupo de estudio y siembras de *St. aureus* en placas Petri; se agruparon en Cepas tratadas con extracto de epicarpio y semillas del *Citrus aurantium* al 100%, 75%, 50% respectivamente y Cepas tratadas con Oxacilina. A través del método Kirby Bauer se obtuvo que el extracto etanólico de epicarpio del *Citrus aurantium* a concentraciones de 100% y 75% mostraron mayor actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, mientras que el de semillas tuvo una mínima actividad antimicrobiana, sin llegar a ser eficaz.

Palabras Claves: *Citrus aurantium*, *Staphylococcus aureus*, efecto antimicrobiano, resistencia bacteriana, Oxacilina.

ABSTRACT

The pathogenus resistance control have a big challenge in the Latinoamerica morbimortality disminution. The conventionals effort were inssufficient, for this reason, the investigation has a new direction in the last years to alternative treatments. This study search the Citrus aurantium's antibacterial effect compared with Oxacillin against strains of Staphylococcus aureus. This experimental study ejecuted in the laboratory of César Vallejo University, Peru. A sample of 16 repetitions per each study group and strains of S. aureus cultures in Petri plaque, They was agrupated with Citrus aurantium's peel and seeds extract treatment 100%, 75%, 50% respectively and Oxacillin treatment. Through the Kirby Bauer method, obtained that the ethanol extract of the Citrus aurantium's epicarp at concentrations of 100% and 75% showed greater antimicrobial activity against S. aureus, while that of seeds had a minimal antimicrobial activity, without being effective..

Keywords: *Citrus aurantium*, *Staphylococcus aureus*, antimicrobial effect, bacterial resistency, Oxacillin..

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Realidad Problemática

Con el avance del tiempo, se concibe la idea de aparición de patologías de carácter infeccioso antes no conocidas, por el desarrollo de resistencia bacteriana contra los medicamentos de uso frecuente e indiscriminado, incluso en aquellos casos que no lo ameritan.¹

Estos padecimientos han sido vistos como principales causas de morbimortalidad a nivel mundial, con resaltante mención en Latinoamérica, en donde sobresale el Perú, ya que la preocupación radica en la creciente resistencia de los gérmenes a los antibióticos, por lo que es necesario recurrir a medidas alternativas y desarrollo de nuevas sustancias no convencionales para la erradicación de infecciones, por medio del uso de plantas cuya actividad profiláctica antimicrobiana es eficaz.²

En los últimos años, varios investigadores se han centrado en las combinaciones de fármacos como un nuevo enfoque en el control de patógenos resistentes. Por lo tanto, la mezcla de los componentes cítricos puede conducir a ampliar la sensibilidad de las bacterias.³

Dentro de los cítricos más importantes tenemos al *Citrus aurantium*, cuyo extracto obtenido a partir del epicarpio y semillas del mismo, son consideradas igualmente potentes que los antibióticos utilizados hoy en día contra cepas de *Staphylococcus aureus*.⁴

En el *Citrus aurantium* se encuentra la presencia de fitoconstituyentes que poseen efectos beneficiosos sobre la salud humana, tales como: policompuestos fenólicos, carotenoides, flavonoides, limonoides, alcaloides, acridona; especialmente el epicarpio del *Citrus aurantium* contiene: hesperósido, ácido 2-hidroxiopropano-1,2,3-tricarboxílico, 2, 2-difenilo y monoterpenos; los cuales le confieren su actividad antibacteriana.⁵

Los estafilococos poseen medidas de resistencia antibiótica que no son fáciles de percibir. La interpretación de resistencia a oxacilina, medicamento usado con frecuencia, es distinto de acuerdo al agente bacteriano. Por lo que resulta imprescindible determinar la especie bacteriana y con ello reducir los índices de resistencia.⁶

Es de esperarse que la resistencia a la oxacilina siga en aumento, lo que implica una vigilancia activa desde el laboratorio de bacteriología y supone un compromiso mayor desde el punto de vista de comunicación entre profesionales de la salud, a fin de fomentar el control de la resistencia a antimicrobianos y, por otro lado, la actualización constante de los datos por parte del laboratorio y la socialización de los mismos, así también la generación de nuevos agentes antimicrobianos.⁷

1.2 Trabajos previos

1.2.1 INTERNACIONAL

Tumane et al.⁴ (India, 2014) el objetivo principal de esta investigación experimental fue estudiar la actividad antibacteriana y potencia profiláctica del extracto de piel de *Citrus aurantium* y *Citrus medica* en solución de etanol, metanol, petróleo, acetona y n-hexano; aplicándolo en cultivos de *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*, *Pr. vulgaris*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus spp.*, *S. aureus*, *S. epidermidis* y *Streptococcus spp*; las mismas que fueron aisladas de pacientes con heridas infectadas. En los resultados, el *Citrus aurantium* mostró una considerable actividad antibacteriana contra todas las bacterias probadas, obteniendo mayor acción sobre *Streptococcus spp.* con un halo de inhibición de 24 mm, seguido por *Pr. mirabilis* (22mm), *Ps. aeruginosa* (21mm) y para *S. aureus* 19 mm en solución de etanol y metanol. Concluyeron que los componentes bioactivos contribuyeron para la actividad antimicrobiana.

Soković et al.⁸ (Serbia, 2010) realizaron un estudio experimental cuyo objetivo era determinar la actividad antibacteriana de diversos aceites esenciales como del *Citrus aurantium* frente a microorganismos gram positivos y gram negativos a través del método de difusión en agar (1.0 ug/mL), resultando un alto porcentaje de actividad antimicrobiana por parte del *Citrus aurantium* contra la mayoría de bacterias gram positivas, encontrándose zonas de inhibición de 14mm. para *St. aureus*, 14mm. para *St. epidermidis*, 8 mm para *L. monocytogenes*, 18mm. para *Bacillus subtilis* y 19 mm

para *M. flavus*. Concluyeron que los diferentes medicamentos antimicrobianos usados para el control de procesos infecciosos y patologías en el ser humano, cuyo uso ha sido indiscriminado, pueden ocasionar reacciones de hipersensibilidad y resistencia de los mismos. Es por ello que la efectividad del *Citrus aurantium* y otros aceites esenciales, podrían permitir la sustitución de fármacos antiguos por novedosos, con uso a concentraciones promedio y no resultar tóxicos para el organismo, contribuyendo a la terapéutica de enfermedades.

Madhuri et al.⁹ (India, 2014) enfocaron su estudio experimental a la búsqueda del efecto antimicrobiano del extracto de cáscara del *Citrus sinensis* y *Citrus aurantium* respectivamente, a través del método de difusión en agar contra cepas de *Bacillus cereus*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae* y *Colletotrichum capsici*; el cual mostró eficacia antibacteriana y anti fúngica a través de la inhibición de los crecimientos de colonias antes mencionadas, evidenciándose una inhibición de más del 70% de *C. capsici* mediado por el *Citrus aurantium*, a comparación del extracto de *C. sinensis* que obtuvo 59.37%. Concluyeron que las cáscaras de estos frutos cítricos poseen metabolitos secundarios activos que pueden explicar la eficacia antimicrobiana, permitiendo su uso para patologías con carácter infeccioso.

1.2.2 NACIONAL

Maguiña et al.¹⁶ (Perú, 2003) realizaron una investigación para determinar la susceptibilidad de tres categorías de *S. aureus* de acuerdo a su sensibilidad a meticilina frente a diferentes antibióticos como la oxacilina y vancomicina, entre otras. 76 cepas de *S. aureus* fueron aisladas y obtenidas de pacientes y contribuyentes de salud de tres especialidades del Hospital Honorio Delgado de Arequipa, resultando que 36 fueron sensibles a meticilina (MSSA), 15 presentaron susceptibilidad “borderline” (BORSA) y 25 mostraron resistencia a la meticilina (MRSA). El único medicamento al cual todas las categorías mostraron susceptibilidad fue la vancomicina, mientras que la única categoría que mostró susceptibilidad a la oxacilina fueron los 36 MSSA; por otro lado, se halló diferencia en la concentración inhibitoria mínima a la oxacilina entre las cepas BORSA con las MRSA; ya que los BORSA presentaron MIC en rango de resistencia baja (mayor de 2 y menor de 8 u/ml) y los

MRSA obtuvieron rangos de resistencia elevada (mayor de 16 ug/ml). Concluyen que categorizar al *S. aureus* de acuerdo a su resistencia a meticilina (oxacilina) permite tomar mejores medidas respecto al enfoque terapéutico, con menor costo y manejo racional de recursos, evitando así el uso indiscriminado y la creciente resistencia antibiótica.

1.3 Teorías relacionadas al tema

El *Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram-positiva, que por su morfología se asemeja a racimos de uva. Este agente resulta ser de gran importancia médica, ya que posee características peculiares de virulencia y distintos mecanismos de resistencia contra los antibióticos, lo cual refleja un grave problema en la salud del paciente. Este microorganismo se encuentra ampliamente distribuido a nivel mundial con un fuerte impacto en la morbimortalidad. Es causante de varias enfermedades infecciosas, que por sus constantes mutaciones; se ha convertido sumamente resistente a la meticilina y otros medicamentos que anteriormente funcionaban con eficacia.¹⁶

En los años 80, Ogston estudió la enfermedad causada por estafilococos y su participación en la sepsis y formación de abscesos en infecciones de piel; así también, añadió la denominación de *Staphylococcus*, que provienen del griego “staphyle”, el cual significa “racimo de uvas”. Por más de 100 años, este agente es considerado aún como uno de los patógenos que afecta con mayor incidencia al ser humano.¹⁷

Las especies del *Staphylococcus aureus*, se encuentran clasificadas según sus características esenciales del gen, como *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*, la cual recibe dicha denominación por su capacidad de producir ácido a partir de glucosa y cuyas colonias visualmente colorean de amarillo por la hemólisis que producen ante la presencia de agar sangre, gracias a sus toxinas: hemolisina- α (H1a), hemolisina- β , así también es catalasa positivo; este tipo de bacteria es la responsable de lesiones infecciosas dermatológicas, por otro lado,

está el *Staphylococcus aureus coagulasa negativo*, cuya presencia es notoria como causante de infecciones protésicas cardíacas y valvulares.¹⁷

Anteriormente la penicilina tenía efecto contra las infecciones estafilocócicas; pero en 1940 surgieron cepas de *S. aureus* productoras de penicilinasa y su prevalencia se incrementó drásticamente desde aquella fecha. Para afrontar este problema, en 1959, fue creado el β -lactámico semisintético meticilina, sin embargo, en 1961, se detectó el surgimiento de *S. aureus* resistente a meticilina (SARM).¹⁸

Uno de los mecanismos de resistencia a meticilina (oxacilina) por parte del *S. Aureus* radica en generar una proteína de unión a la penicilina (PUP) adicional, la PUP2a, que, de acuerdo a su capacidad funcional, no tiene afinidad con los antibióticos β -lactámicos. La codificación de la proteína es dada por el gen *mecA*, que se encuentra localizado en un elemento genético móvil denominado casete cromosómico estafilocócico *mec* (SCC*mec*). Dentro de lo más resaltante del *S. aureus* es su capacidad generar distintas toxinas cuyo objetivo son las células de la sangre humana. Las toxinas son: la hemolisina- α (Hla), hemolisina- β y hemolisina- γ , la leucocidina de Panton Valentine.¹⁹

Por otro lado, en el continente occidental se conoce el amplio uso de compuestos que nacen a partir del procesamiento de plantas medicinales, las cuales han demostrado ser eficientes para el tratamiento de diversas enfermedades, a largo y corto plazo. Inicialmente se innovó utilizando extractos de estas plantas, los cuales consisten en la síntesis vegetal adquirida por remoción de sus componentes activos con un solvente pertinente, diluidas en distintos insumos, lográndose obtener resultados sorprendentes, en donde se afirmaba la actividad farmacológica de estos elementos.¹⁵

El descubrimiento de las propiedades beneficiosas del *Citrus*, en especial del *Citrus aurantium*, dio paso al estudio del mismo, siendo esta ya conocida previamente en distintos continentes como la “naranja agria” de uso empírico. El *Citrus aurantium* pertenece a la familia de *Rutaceae*, que con frecuencia se localiza en: Sudáfrica y Suramérica; cuya familia posee más de 30 especies, 10 de ellas pertenecen al género *Citrus*. Las partes del *Citrus aurantium* está

diferenciada por: epicarpio o flavedo, mesocarpio exterior, albedo o mesocarpio interior, endocarpio y semillas; el epicarpio corresponde a la parte externa del fruto, rico en monoterpenos de hidrocarburo y cuyo constituyente principal es el limoneno (98%), seguido de α -pineno (0.48%) y β -pineno (0.176%), mientras que La composición de las semillas del *Citrus aurantium* está dada por ácidos grasos como: palmítico (23.7%), esteárico (5.0%), oleico (27.1%), linoleico (35.6%) y linolénico (8,6%), así también presenta tocoferoles como alfa tocoferol en mayor proporción que Y- tocoferol.^{12, 21, 23, 25, 26}

Por otro lado, este fruto, especialmente su epicarpio, zumo y semillas poseen compuestos que contribuyen a la aromatización de fragancias, con participación en la industria alimentaria como saborizante, en la industria farmacológica por sus propiedades antioxidantes, pérdida de peso a través de la aromaterapia, uso en el tratamiento de cáncer, y recientemente por su actividad antimicrobiana. Se entiende como efecto aquello que sigue por virtud de una causa, como resultado de la aplicación de un fármaco y/o sustancia, como es el caso de la aplicación del *Citrus aurantium* sobre cepas de *St. aureus coagulasa positivo*, por lo que el efecto antimicrobiano es aquel cuya sustancia posee la capacidad de inhibición del crecimiento de colonias de bacterias que permite su eliminación sin afectar al huésped.^{11,10}

Sobre el mecanismo de acción, previos estudios sugieren que el *Citrus aurantium* actúa a nivel de la membrana celular, a medida que la célula infectada es tratada, la bacteria muestra pérdida progresiva de la integridad celular con incremento de la permeabilidad y reducción importante de ATP provocando la lisis bacteriana.⁵ Esto se logra evidenciar mediante la visualización de los halos inhibitorios, donde se realiza la medida del diámetro de inhibición el cual se traduce a la medida del espacio donde no ha existido crecimiento bacteriano alrededor del disco de antibiótico y/o sustancia en estudio.¹⁴

1.4 Formulación del Problema

¿Cuál es el efecto antimicrobiano del *Citrus aurantium* comparado con Oxacilina en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*?

1.5 Justificación del estudio

La creciente incidencia de infecciones bacterianas dermatológicas, provocadas por el *Staphylococcus aureus*, me motivó a realizar la presente investigación, cuya finalidad radica en contribuir a un nuevo enfoque sobre el uso de plantas medicinales, como el *Citrus aurantium*, para la elaboración de medicamentos con efecto antimicrobiano a raíz del extracto de este fruto; la visualización a futuro es su incursión en la industria farmacéutica como coadyuvante para el tratamiento de estas lesiones, hasta llegar al uso mono terapéutico.

Así también se espera que este estudio sea fuente útil para futuras investigaciones y permita la resolución de problemas y reducción de costos a causa de las infecciones bacterianas.

1.6 Hipótesis

Hipótesis de investigación (Hi): El extracto de epicarpio y semillas de *Citrus aurantium* tiene igual o mayor efecto antibacteriano comparado con Oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*.

Hipótesis nula (Ho): El extracto de epicarpio y semillas de *Citrus aurantium* tiene menor efecto antibacteriano comparado con Oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*.

1.7 Objetivos

Objetivo General:

- Determinar el efecto antimicrobiano del extracto de epicarpio y semillas de *Citrus aurantium* comparado con Oxacilina en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*.

Objetivos Específicos:

- Precisar el efecto antimicrobiano del extracto de epicarpio y semillas de *Citrus aurantium* en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*.

- Precisar el efecto antimicrobiano de Oxacilina en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*.

- Comparar las diferencias de los resultados obtenidos en el estudio.

II. MÉTODO

2.1 Diseño de Investigación

La presente investigación será experimental con comparaciones múltiples.²⁴

FORMULA

RG1:	X1	-	O1
RG2:	X2	-	O2
RG3:	X3	-	O3
RG4:	X4	-	O4

R: Asignación al azar

G: Placas Petri con *Staphylococcus aureus*

X₁₋₃: tratamiento con extracto de *Citrus aurantium*

X₄: tratamiento con Oxacilina

O₁₋₃: observación post tratamiento con extracto de *Citrus aurantium*

O₄: observación post tratamiento con Oxacilina

2.2 Variables, Operacionalización

VARIABLE

Variable independiente:

- ❖ Tratamiento antimicrobiano con extracto de epicarpio y semillas del *Citrus aurantium*.

Variable dependiente:

Eficacia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*.

OPERACIONALIZACION

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<p>Variable Independiente:</p> <p>Tratamiento antimicrobiano con extracto de <i>Citrus Aurantium</i>.</p>	<p>Extracto obtenido a partir del <i>Citrus Aurantium</i> combinado en solución de etanol, que se utiliza para inhibir el crecimiento bacteriano en el organismo⁴.</p>	<p>Se realizará la medición considerando la concentración del extracto, en relación a las diluciones realizadas:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Extracto de epicarpio del <i>Citrus aurantium</i> al 100% y extracto de semilla del <i>Citrus aurantium</i> al 100% -Extracto de epicarpio del <i>Citrus aurantium</i> al 75% y extracto de semilla del <i>Citrus aurantium</i> al 75% -Extracto de epicarpio del <i>Citrus aurantium</i> al 50% y extracto de semilla del <i>Citrus aurantium</i> al 50% -Tratamiento estándar con oxacilina (STAT) 	<p>RG1</p> <p>RG2</p> <p>RG3</p> <p>RG4</p>	<p>Cuantitativa discreta</p>

<p>Variable Dependiente: Eficacia antimicrobiana en cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i></p>	<p>Capacidad de inhibición del Extracto de <i>Citrus Aurantium</i> sobre el crecimiento y desarrollo de cepas de <i>Staphylococcus aureus Coagulasa Positivo</i>.¹⁰</p>	<p>Se precisará la eficacia antimicrobiana, a través de la medición del diámetro del halo de inhibición en las placas con cultivo de <i>Staphylococcus aureus</i> en las que se aplicó el extracto, considerando.²⁰</p> <p>EFICAZ</p> <p>Sensible: ≥ 13 mm</p> <p>NO EFICAZ</p> <p>Intermedio: 11 – 12 mm</p> <p>Resistente: <11 mm</p>	<p>Eficaz: ≥13mm</p> <p>No eficaz: <12mm</p>	<p>Cualitativa Nominal</p>
---	--	--	---	--------------------------------

2.3 Población y muestra

Población: Estuvo constituida por conjunto de cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo* obtenidas del Laboratorio de la Universidad César Vallejo.

Tamaño de Muestra: Fueron 16 repeticiones. El tamaño de muestra estuvo en función de las características del estudio, para ser medido cuantitativamente mediante análisis de medias. Se empleó la siguiente fórmula

$$n = \frac{(z\alpha + z\beta)^2 \delta^2}{(x1 - x2)^2}$$

Esta fórmula es para estudios que pretenden comparar 2 promedios, con una sola cola. (T de Students)

Dónde:

Z α = 1.96; con un nivel de confianza del 95%

Z β = 0.84; con una potencia del 80%

$\delta^2 = \text{Varianza} = 2.31 \text{ mm}$

X1= Promedio del "*Citrus Aurantium*" = 12.3 mm

X2= Promedio de la Oxacilina = 13mm

Entonces: Para la presente investigación, se trabajó con 16 repeticiones.

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 (7.9)^2}{(13 - 12.3)^2} = 16 \text{ como mínimo}$$

Se trabajó con 16 repeticiones (por cada concentración del extracto más oxacilina).

Unidad Muestral: Cada placa Petri con cultivo de cepas de *Staphylococcus aureus Coagulasa Positivo*.

Método de muestreo: El presente estudio fue un muestreo no probabilístico.

Unidad de análisis: Estuvo constituida por cada cepa de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*.

Criterios de Selección:

Criterios de inclusión:

Cultivos de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo* fisiológicamente iguales.

Criterios de exclusión:

Placas que presenten contaminantes y/o presencia de otras bacterias.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

1.7.1 Técnica: Fue a través de la observación directa de campo, se observó los cultivos de cepas del *Staphylococcus aureus* donde se había añadido el extracto de epicarpio y semillas del *Citrus aurantium*, a parte de la oxacilina, midiéndose finalmente el diámetro del halo de inhibición.

1.1.1 Instrumento: Se elaboró una ficha de recolección de datos donde se consigna: número de placa, diluciones y tratamiento, donde se anotó el diámetro del halo de inhibición. (Anexo 1).

1.1.2 Procedimiento:

Recolección del *Citrus aurantium*:

Fueron procedentes del Distrito de Charat, Provincia de Otuzco de la región La Libertad, verificados en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo, y trasladados al Laboratorio de la Escuela de Medicina de la Universidad César vallejo.

Preparación del Extracto de *Citrus aurantium*: Se elaboró con 25 gr. de epicarpio y 12.5 gr. de semillas de *Citrus aurantium*, cuya extracción se ejecutó mediante la maceración con etanol al 96%.

Inicialmente se lavaron los *Citrus aurantium* con agua destilada, luego se procedió a despojar el epicarpio y semillas del *Citrus aurantium*.

El epicarpio fue colocado en hoja kraft y posteriormente puesto en estufa a temperatura de 40° para el secado correspondiente por 7 días; aplicándose el mismo procedimiento para las semillas.

Posteriormente, se retiraron los epicarpios y semillas de la estufa para colocarlos en el mortero por separado y continuar con la trituración de los mismos, hasta lograr obtener finas partículas.

Cada 25 g del epicarpio del *Citrus aurantium* se mezcló en 100 ml de etanol al 96%. El extracto se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos a 25° C. Fueron evaporadas a 80° C en el evaporador rotatorio. Todas las muestras del extracto se disolvieron en etanol previamente medido en probeta milimetrado, por separado a la concentración final de 100 %, 75% y 50%. Se realizó la mezcla de ambos componentes, recubriéndose el matraz para evitar la evaporación del etanol. Finalmente se colocó el matraz en la estufa a una temperatura de 40° para maceración del extracto de epicarpio del *Citrus aurantium* por 5 días.

Por otro lado, después de la trituración de semillas de *Citrus aurantium* y de haber obtenido las finas partículas, se procedió a pesar 12,5 gr. del mismo, para luego colocarlo en matraz de 500 ml, añadiéndose posteriormente 50 ml de alcohol etanólico de 96%, previamente medido en probeta milimetrada. Posterior a ello, se ejecutó la mezcla de ambos, cubriéndose el matraz para evitar la evaporación. Luego de ello, se colocó el matraz en la estufa a una temperatura de 40° para maceración del extracto de semillas del *Citrus aurantium* por el mismo número de días del extracto de epicarpio.

Técnica de difusión en Agar:

El antibiograma se realizó mediante la técnica de Kirby Bauer en pocillos, para lo cual se utilizó 50µL del extracto de epicarpio y semillas del *Citrus aurantium* a una concentración de 100%, 75% y 50% correspondientemente, por otro lado, se utilizó discos de Oxacilina preelaboradas en cada placa Petri conteniendo Agar Mueller-Hinton.

Se preparó una suspensión de *S. aureus* reactivado en 3 mL de suero fisiológico con una turbidez equivalente a la mitad del tubo N° 1 de la escala de McFarland (aproximadamente 1.5×10^8 UFC/mL). Luego 20 uL de dicha suspensión se inoculó en las superficies de cada una de las placas Petri conteniendo Agar Mueller Hinton, utilizando el asa digralsky.

Se practicaron 7 pocillos equidistantes en cada placa Petri, en los cuales se agregará 50 uL del extracto de epicarpio y semillas del *Citrus Aurantium* al 100 %, 75% y 50 % respectivamente; y oxacilina.

Los diámetros de los halos de inhibición de cada muestra se midieron con ayuda de una regla milimetrada llamada Vernier después de 24 horas de haber sido aplicados los extractos. Para determinar el porcentaje de inhibición, se realizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ efecto de inhibición} = \frac{x \text{ diámetro halo de inhibición del extracto}}{x \text{ diámetro halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

Lectura de los resultados

VALORES DE REFERENCIA DE SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIÓTICOS	<i>Staphylococcus aureus</i> según CLSI (ex NCCLS) es : Diámetro de inhibición (mm)		
	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
OXACILINA	≥ 13	11-12	<11

Instrumento de recolección de muestra:

Ficha de recolección de datos fue elaborado por la autora, cuya validación se realizó mediante la opinión del experto, quien manifestó la pertinencia del instrumento. (Anexo 1)

2.5 Métodos de análisis de datos

El procesamiento de datos con respecto a las variables de estudio se realizó mediante el uso de la prueba de análisis de varianza (ANOVA) para contraste de hipótesis, análisis Adove, prueba de Tukey, caja y bigotes, que permitieron calcular los datos estadísticos necesarios para el estudio.

2.6 Aspectos éticos

Para el desarrollo de la presente investigación se respetó el artículo 48 del capítulo 6 “Del trabajo de investigación” perteneciente al Código de Ética y Deontología del Colegio Médico del Perú.¹⁵

III. RESULTADOS

Tabla 1. Efecto antimicrobiano del extracto de epicarpio y semillas de *Citrus aurantium* comparado con Oxacilina en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*. (Resumen estadístico descriptivo)

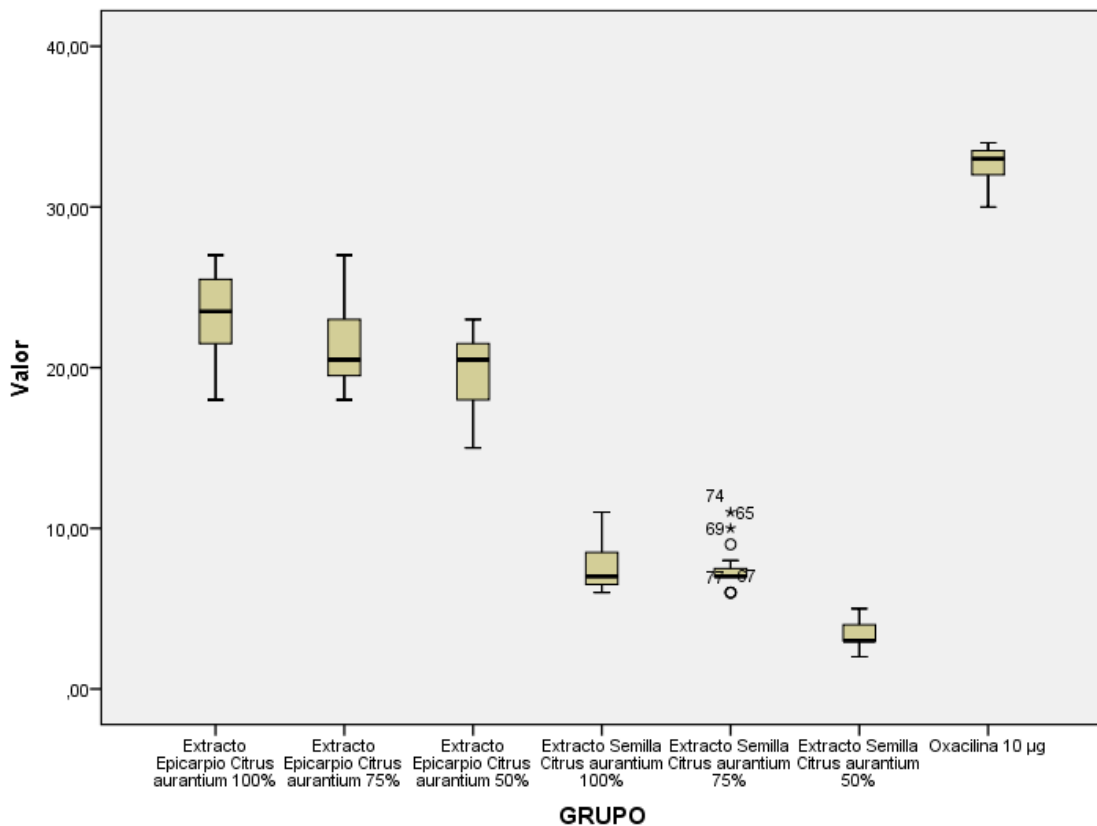
	Concentración	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Cuartil 1	Cuartil 2	Cuartil 3
Extracto etanólico de epicarpio de <i>Citrus aurantium</i>	100%	16	23.4	2.6	18	27	22	24	25
	75%	16	21.4	2.5	18	27	20	21	23
	50%	16	19.9	2.3	15	23	18	21	21
	Oxacilina	16	32.6	1.2	30	34	32	33	33
	Total	64	24.3	0.6	15	34			
Extracto etanólico de semillas de <i>Citrus aurantium</i>	100%	16	7.6	1.6	6	11	6.75	7	8.3
	75%	16	7.4	1.4	6	11	7	7	7.25
	50%	16	3.3	0.9	2	5	3	3	4
	Oxacilina	16	32.6	1.2	30	34	32	33	33.3
	Total	64	12.7	0.3	2	34			

Fuente: Elaborado por la autora.

El extracto etanólico de **epicarpio** de *Citrus aurantium* al 100% tuvo una media del halo de inhibición sobre las cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo* de 23.4, siendo el del mayor efecto entre todas las concentraciones de su grupo; mientras que el extracto etanólico de **semillas** de *Citrus aurantium* al 100% tuvo una media del halo de inhibición de 7.6 siendo el de mayor efecto entre todas las concentraciones de su grupo; mientras que la Oxacilina obtuvo una media de 32.6, siendo la de mayor efecto en comparación de todos los grupos. (Ver Figura 1).

Por otro lado, se observa que la Oxacilina obtuvo mayor efecto antibacteriano en cepas de *S. aureus* (halo de inhibición promedio: 32.6mm) a comparación de los extractos etanólicos de epicarpio y semillas del *Citrus aurantium*.

Figura 1. Comparación del efecto antimicrobiano del *Citrus aurantium* y Oxacilina en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*



Fuente: Elaborada por la investigadora.

Aquí se aprecia que el extracto etanólico de epicarpio del *Citrus aurantium* al 100% fue quien obtuvo mayor efecto antimicrobiano a comparación de las otras concentraciones de extractos (halo de inhibición promedio: 23.4mm), seguido por extracto etanólico de epicarpio del *Citrus aurantium* al 75% (halo de inhibición promedio: 21.4mm); mientras que los extractos etanólicos de semillas presentaron un mínimo efecto antimicrobiano en todas sus concentraciones. Finalmente fue la Oxacilina quien obtuvo mayor efecto antibacteriano en cepas de *S.aureus* a comparación de los extractos etanólicos del *Citrus aurantium* (halo de inhibición promedio: 32.6mm).

Tabla 2. Comparación del efecto antimicrobiano inhibitorio del extracto etanólico del *Citrus aurantium* y oxacilina en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*, según el ANOVA.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	10813.464	6	1802.244	505.302	0.000
Dentro de grupos	374.500	105	3.567		
Total	11187.964	111			

Fuente: Instrumento de recolección de datos

El valor de significancia (P) es menor < 0.05 , por lo que se rechaza la hipótesis nula; se traduce en que existe diferencia significativa entre el extracto del *Citrus aurantium* y Oxacilina.

Para poder visualizar en efecto más óptimo se realizó las comparaciones múltiples de Tukey (Ver Tabla 3)

La diferencia de medias resultó ser muy significativa entre las diferentes concentraciones sobre el halo de inhibición, siendo las máximas en el grupo de Oxacilina, seguida del grupo de concentración de extracto etanólico de **epicarpio** del *Citrus aurantium* al 100%, mientras que el uso del extracto de **semillas** de *Citrus aurantium* en general mostraron menor resultado en comparación a todos.

Tabla 3. Comparación de resultados obtenidos de la aplicación de extracto de epicarpio y semillas de *Citrus aurantium* sobre cepas de *S. aureus coagulasa positivo*

HSD Tukey^a				
Epicarpio de <i>Citrus aurantium</i>	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
50	16.0	19.9		
75	16.0	21.4	21.4	
100	16.0		23.4	
oxacilina	16.0			32.6
Sig.		0.2	0.1	1.0
<hr/>				
Semillas de <i>Citrus aurantium</i>				
50	16.0	3.3		
75	16.0		7.4	
100	16.0		7.6	
oxacilina	16.0			32.6
Sig.		1.0	1.0	1.0

Fuente. Instrumento de recolección de datos.

Se evidencian las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Mientras que se evidencia diferencia significativa entre subconjuntos.

IV. DISCUSIÓN

El uso de plantas y frutos, especialmente los *Citrus*, se ha visto en aumento gracias a sus propiedades beneficiosas para la salud por acción de sus diversos metabolitos activos como el limoneno, a. linoleico, antioxidantes fenólicos y tocoferoles, incursionando en la medicina complementaria y farmaindustria. El presente estudio se centró en la búsqueda del efecto antimicrobiano del extracto etanólico del epicarpio y semillas del *Citrus aurantium* aplicado en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*, comparado dicho efecto con la oxacilina.

En la tabla 1, el extracto etanólico de epicarpio de *Citrus aurantium* al 100% tuvo una media de halo de inhibición sobre las cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo* de 23.4mm, resultado que supero al obtenido en la investigación realizada hace cuatro años por Tumane P. et al en Nagpur⁴, donde este extracto en solución de etanol y metanol mostró un diámetro de inhibición promedio de 19 mm respectivamente, afirmando su capacidad antibacteriana; esta variación pudo haber sido afectada por la geografía de donde se encuentra el objeto en estudio y el volumen de solución etanólico, así como el origen de las cepas, mientras que Soković et al. en Serbia⁸ obtuvieron en su estudio que la actividad antimicrobiana por parte del *Citrus aurantium* está presente contra la mayoría de bacterias gram positivas, encontrándose zonas de inhibición de 14mm. para *St. aureus*.

En cuanto a la Oxacilina (Tabla 1), su diámetro del halo de inhibición estandarizado sobre cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo* según el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) es de 13 mm a comparación de nuestro estudio cuyo resultado promedio post aplicación fue de 32 mm, mostrando una gran diferencia significativa, por lo que dicha variación pudo ser por la diferencia de origen de las bacterias, considerando que las cepas utilizadas en el estudio son meticilino sensibles, lo cual guarda relación con el estudio que realizo Maguiña et al¹⁶ donde señala que la única categoría que mostró susceptibilidad a la oxacilina fueron los 36 MSSA de su estudio, afirmando la

importancia que tiene categorizar al *S. aureus* de acuerdo a su resistencia a meticilina (oxacilina).

Al comparar el efecto de ambos productos (Tabla 2), se observa que hay diferencias del diámetro inhibitorio entre las diversas concentraciones del extracto etanólico de epicarpio y semillas del extracto del *Citrus aurantium* y Oxacilina. Se aprecia que el efecto sobre los promedios del halo inhibitorio que se tuvo con la Oxacilina es estadísticamente mayor al del extracto etanólico de epicarpio del *Citrus aurantium* al 100%; por otro lado, las concentraciones del 100% y 75% del extracto etanólico de epicarpio del *Citrus aurantium*, tienen similitud estadística entre ellas, mientras que los resultados obtenidos del extracto etanólico de semillas del *Citrus aurantium* en todas sus concentraciones mostraron una mínima actividad antimicrobiana resultando no eficaz. Por lo antes descrito se puede deducir que los extractos etanólicos de epicarpio del *Citrus aurantium* poseen un mejor efecto que el de las semillas.

V. CONCLUSIONES

El presente estudio concluye que:

1. El extracto etanólico de epicarpio de *Citrus aurantium* en todas sus concentraciones es eficaz contra cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo* in vitro.
2. El extracto etanólico de semillas de *Citrus aurantium* no es eficaz en ninguna de sus concentraciones contra cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo* in vitro.
3. La oxacilina posee un eficaz efecto antimicrobiano, siendo mayor que el extracto de epicarpio del *Citrus aurantium*.
4. El extracto etanólico de epicarpio de *Citrus aurantium* en todas sus concentraciones posee efecto antimicrobiano eficaz a comparación del extracto etanólico de semillas cuyo efecto es no eficaz, todo ello comparado con la Oxacilina, la cual posee mayor efecto que los extractos antes mencionados.

VI. RECOMENDACIONES

Realizar pruebas piloto para evitar contratiempos durante la ejecución del proyecto y validar método.

VII. PROPUESTA

1. Se sugiere ampliar el estudio por medio de la implementación de nuevos solventes como metanol, así también, considerar utilizar otras bacterias distintas al *Staphylococcus aureus coagulasa positivo*, ya que los datos obtenidos son muy prometedores para la comunidad científica.
2. Por otro lado, resultaría conveniente incluir a futuro, el estudio del zumo del *Citrus aurantium*, en comparación con diferentes especies de *Citrus*.
3. Evaluar la posibilidad de aplicar el objeto en estudio para evidenciar la respuesta tisular en ratas albinas Holtzman y según ello, proyectar su uso farmacológico para el tratamiento de lesiones dermatológicas.

REFERENCIAS

1. Prats M, Braga F, Flichtentrei D. ¿Cómo imaginan los médicos el futuro? Estudio de prospectiva médica con metodología Delphi. Intramedic. Buenos Aires. Argentina. 2007.
2. Echevarria J e Iglesias D. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. Programa de Residencia en Infecciosas y Medicina Tropical. Dirección de Post-Grado. Facultad de Medicina Alberto Hurtado. Departamento de Enfermedades Transmisibles y Dermatológicas. Hospital Nacional Cayetano Heredia. Perú. 2003.
3. Wessal Ouedrhiri et al. Chemical composition of Citrus aurantium L. leaves and zest essential oils, their antioxidant, antibacterial single and combined effects. Department of VIA, National Institute of Medicinal and Aromatic Plants, University of Sidi Mohamed Ben Abdellah, Atlas-Fez, Morocco. 2015.
4. Tumane P, Meshram V. and Wasnik D. Comparative Study of Antibacterial Activity of Peel Extracts of Citrus Aurantium L. (Bitter Orange) and Citrus Medica L. (Lemon) against Clinical Isolates from Wound Infection. Post Graduate Department of Microbiology. Nagpur University. 2014.
5. Coelho O, Rabelo M, Bispo R, Aparecida P y Olavo C. The antimicrobial effects of Citrus limonum and Citrus aurantium essential oils on multi-species biofilms. Department of Biosciences and Oral Diagnosis, Institute of Science and Technology, Universidade Estadual Paulista - UNESP, São José dos Campos. Brazil. 2014.
6. Palavecino E. Métodos recomendados para el estudio de susceptibilidad en *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Staphylococcus saprophyticus*: Nuevos puntos de corte e interpretación de resultad. R. Rev. chil. infectol. v.19 supl.2 Santiago, Chile. 2002.
7. Irala J. Progresión de la resistencia de *Staphylococcus aureus* a Oxacilina en el Instituto de Medicina Tropical de Asunción. Paraguay. 2012.
8. Soković M, Glamočlija J, Marin P, Brkić D. and van Griensven. Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an in Vitro Model. University of Belgrade. Serbia. 2010.
9. Madhuri S, Ashwini et al. Antimicrobial Activity of Citrus Sinensis and Citrus Aurantium Peel Extracts. Department of Microbiology, College of Applied Sciences, N.E.S Campus, Shivamogga, Karnataka, India. 2014.
10. Katzung B, Masters S, Trevor A. Farmacología Básica y clínica. 12ª edición. San Francisco. Editorial McGraw- Hill/Interamericana Editores. 2013. Pág. 807-814.

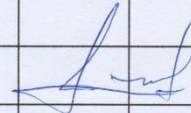
11. Hamell L, Boyce J. Evolution of new selective medium BD, BBI, Chromagar MRSA II, for detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*. 2010.
12. Shiva Ramayoni C. Estudio de la actividad antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. Universitat Autònoma de Barcelona. España. 2007.
13. Thuelow L, Sauri S, Richardson J. Virulence strategies of the dominant USA300 lineage of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *FEMS Immun Med Microbiol* 2012.
14. Diccionario de la Real Academia Española. 23.ª edición. 2015.
15. Código de Ética y Deontología. Colegio Médico del Perú. Lima- Perú. 2007.
16. Mendoza C, Velásquez R, Maguiña C. et al. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* sensible, con sensibilidad "Borderline" y resistentes a la metilina. *Rev. Med. Hered. Lima- Perú*. 2013.
17. Lowy F. *Staphylococcus aureus* infections. *N Eng J Med*. 1998; 339:520-32. August 20, 1998 DOI: 10.1056/NEJM199808203390806.
18. Ardura M. *Staphylococcus aureus*: old bug with new tricks [editorial]. 2009. Chile
19. Jevons M. 'Celbenin'-resistant staphylococci. *Br Med J*. 1961; 1:124-5
20. Siddique et al. Volatile components, antioxidant and antimicrobial activity of *Citrus aurantium var. bitter orange* peel oil. *Pharmacology online* 2: 499-507. 2011.
21. Sharma R, Verma S, Rana S, Rana A. Rapid screening and quantification of major organic acids in citrus fruits and their bioactivity studies. *Journal of Food Science and Technology*. India, 2018.
22. Shaw C, Stitt J, and Cowan S. Staphylococci and their Classification. *Journal of genetic. Microbiology*. 5, 1010-1023. United Kingdom. 1951.
23. Sutar I, Khan H, Patel S, Celano R, and Rastrelli L. An Overview on *Citrus aurantium L.*: Its Functions as Food Ingredient and Therapeutic Agent. Hindawi Limited. United Kingdom. 2018.
24. Hernandez R. Fernández C, y Baptista P. Metodología de la Investigación. McGraw-Hill/Interamericana Editores. 6ª Edición. México. 2014.
25. Radan M, Parčina A. and Burčul F. Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil Obtained from Bitter Orange Peel (*Citrus aurantium L.*) Using Two Methods. *Croatia Chemica Acta*. University of Split. Croatia. 2018.

26. Fahad A, Bertrand M, Mehmet Ö. and Kashif G. The physico-chemical properties of some citrus seeds and seed oils. Z. Naturforsch. Max Rubner-Institut. Germany. 2016.

ANEXOS

EFECTO ANTIMICROBIANO DEL *Citrus aurantium* COMPARADO CON
OXACILINA EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* Coagulasa Positivo

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

MUESTRA S PLACA PETRI N°	TRATAMIENTO						
	Extracto de <i>Citrus aurantium</i>						ATB
	Extracto Epicarpio <i>Citrus aurantium</i> 100%	Extracto Epicarpio <i>Citrus aurantium</i> 75%	Extracto Epicarpio <i>Citrus aurantium</i> 50%	Extracto Semilla <i>Citrus aurantium</i> 100%	Extracto Semilla <i>Citrus aurantium</i> 75%	Extracto Semilla <i>Citrus aurantiu m</i> 50%	Oxacilina 10 µg
1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							
11							
12							
13							
14							
15							
16							
Promedio (Halo inhibitorio)							 Jaime A. Polo Camba MICROBIOLOGO CBP 695

ANEXO 2: MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO: EFECTO ANTIMICROBIANO DEL <i>Citrus aurantium</i> COMPARADO CON OXACILINA EN CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i>							
AUTORA: GRASSY ELVA SIMÓN SCAMARONE							
PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES				
			VARIABLE INDEPENDIENTE: Tratamiento antimicrobiano con extracto de <i>Citrus Aurantium</i> .				
			DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	
¿Cuál es el efecto antimicrobiano del <i>Citrus aurantium</i> comparado con Oxacilina en cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i> ?	<p>Objetivo General:</p> <p>Determinar el efecto antimicrobiano del extracto de <i>Citrus aurantium</i> comparado con Oxacilina en cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i>.</p> <p>Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Precisar el efecto antimicrobiano del extracto de <i>Citrus aurantium</i> en cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i>. ➤ Precisar el efecto antimicrobiano de Oxacilina en cepas de <i>Staphylococcus</i> 	<p>H1: El extracto <i>Citrus aurantium</i> tiene igual o mayor efecto antibacteriano comparado con Oxacilina sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i>.</p> <p>H2: El extracto de <i>Citrus aurantium</i> tiene menor efecto antibacteriano comparado con Oxacilina sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i>.</p>	Extracto de <i>Citrus Aurantium</i> que se utiliza para inhibir el crecimiento bacteriano en el organismo. ⁴	Se realizará la medición considerando la concentración del extracto; se dividen en 7 grupos de control, en relación a las diluciones realizadas:	RG1	Cuantitativa discreta	
				-Extracto de epicarpio del <i>Citrus aurantium</i> al 100% y Extracto de semilla del <i>Citrus aurantium</i> al 100%			RG2
				-Extracto de epicarpio del <i>Citrus aurantium</i> al 75% y Extracto de semilla del <i>Citrus aurantium</i> al 75%			RG3
				- Extracto de epicarpio del <i>Citrus aurantium</i> al 50% y Extracto de semilla del <i>Citrus aurantium</i> al 50%			RG4
				-Tratamiento estándar con oxacilina (STAT)			

	<p><i>aureus coagulasa positivo.</i></p> <p>➤ Comparar las diferencias de los resultados obtenidos en el estudio.</p>		<p>VARIABLE DEPENDIENTE: Eficacia antimicrobiana en cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i></p>			
			<p>DEFINICIÓN CONCEPTUAL</p>	<p>DEFINICIÓN OPERACIONAL</p>	<p>INDICADORES</p>	<p>ESCALA DE MEDICIÓN</p>
			<p>Capacidad de inhibición del Extracto de <i>Citrus Aurantium</i> sobre el crecimiento y desarrollo de cepas de <i>Staphylococcus Aureus Coagulasa Positivo</i>¹⁰</p>	<p>Se precisará la eficacia antimicrobiana, a través de la medición del diámetro del halo de inhibición en las placas con cultivo de <i>Staphylococcus Aureus</i> en las que se aplicó el extracto, considerando:</p> <p>EFICAZ Sensible: ≥ 13 mm</p> <p>NO EFICAZ Intermedio: 11 – 12 mm Resistente: <11 mm</p>	<p>Eficaz: ≥13mm</p> <p>No eficaz: <12mm</p>	<p>Cualitativa Nominal</p>

TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	POBLACIÓN Y MUESTRA	TÉCNICA E INSTRUMENTOS	Métodos de análisis de datos
<p>TIPO: Básica</p> <p>DISEÑO: La presente investigación será experimental con comparaciones múltiples.</p>	<p>POBLACIÓN: Estuvo constituida por conjunto de cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i> obtenidas del Laboratorio de la Universidad César Vallejo.</p> <p>TAMAÑO DE MUESTRA: Fueron 16 repeticiones. El tamaño de muestra estuvo en función de las características del estudio, para ser medido cuantitativamente mediante análisis de medias. Se empleó la siguiente fórmula</p>	<p>Técnica: Fue a través de la observación.</p> <p>Instrumento: Se elaboró una ficha de recolección de datos donde se consigna: número de placa, diluciones y tratamiento, donde se anotó el diámetro del halo de inhibición. Ficha de recolección de datos fue elaborado por la autora, cuya validación se realizó mediante la opinión de experto, quien manifestó la pertinencia del instrumento.</p>	<p>El procesamiento de datos con respecto a las variables de estudio se realizó mediante el uso de la prueba de análisis de varianza (ANOVA) que permitieron calcular los datos estadísticos necesarios para el estudio. Contraste de hipótesis anova, análisis adove, prueba de tukey, caja y bigotes.</p>

RESULTADOS	CONCLUSIONES
<p>Tabla 1. El extracto etanólico de epicarpio de <i>Citrus aurantium</i> al 100% tuvo una media del halo de inhibición sobre las cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i> de 23.4, siendo el del mayor efecto entre todas las concentraciones de su grupo; mientras que el extracto etanólico de semillas de <i>Citrus aurantium</i> al 100% tuvo una media del halo de inhibición de 7.6 siendo el de mayor efecto entre todas las concentraciones de su grupo; mientras que la Oxacilina obtuvo una media de 32.6, siendo la de mayor efecto en comparación de todos los grupos. Por otro lado, se observa que la Oxacilina obtuvo mayor efecto antibacteriano en cepas de <i>S. aureus</i> (halo de inhibición promedio: 32.6mm) a comparación de los extractos etanólicos de epicarpio y semillas del <i>Citrus aurantium</i>.</p> <p>Tabla 2. El valor de significancia (P) es menor < 0.05, por lo que se rechaza la hipótesis nula; se traduce en que existe diferencia significativa entre el extracto del <i>Citrus aurantium</i> y Oxacilina. Para poder visualizar en efecto más óptimo se realizó las comparaciones múltiples de Tukey (Ver Tabla 4) La diferencia de medias resulto ser muy significativa entre las diferentes concentraciones sobre el halo de inhibición, siendo las máximas en el grupo de Oxacilina, seguida del grupo de concentración de extracto etanólico de epicarpio del <i>Citrus aurantium</i> al 100%, mientras que el uso del extracto de semillas de <i>Citrus aurantium</i> en general mostraron menor resultado en comparación a todos.</p> <p>Tabla 3. Se evidencian las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Mientras que se evidencia diferencia significativa entre subconjuntos.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. El extracto etanólico de epicarpio de <i>Citrus aurantium</i> en todas sus concentraciones es eficaz contra cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i> in vitro. 2. El extracto etanólico de semillas de <i>Citrus aurantium</i> no es eficaz en ninguna de sus concentraciones contra cepas de <i>Staphylococcus aureus coagulasa positivo</i> in vitro. 3. La oxacilina posee un eficaz efecto antimicrobiano, siendo mayor que el extracto de epicarpio del <i>Citrus aurantium</i>. 4. El extracto etanólico de epicarpio de <i>Citrus aurantium</i> en todas sus concentraciones posee efecto antimicrobiano eficaz a comparación del extracto etanólico de semillas cuyo efecto es no eficaz, todo ello comparado con la Oxacilina, la cual posee mayor efecto que los extractos antes mencionados.

ANEXO 3:

Tabla 4.

Efecto antimicrobiano del extracto etanólico del *Citrus aurantium* sobre la inhibición en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo* según concentraciones.

EFECTO	Epicarpio de <i>Citrus aurantium</i>						Semillas de <i>Citrus aurantium</i>					
	100%		75%		50%		100%		75%		50%	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
RESISTENTE	0	0	0	0	0	0	15	93.8%	15	93.8%	16	0%
INTERMEDIO	0	0	0	0	0	0	1	6.3%	1	6.3%	0	0%
SENSIBLE	16	100%	16	100%	16	100%	0	0.0%	0	0.0%	0	0%
EFICACIA	EFICAZ		EFICAZ		EFICAZ		NO EFICAZ		NO EFICAZ		NO EFICAZ	

Fuente: Instrumento de recolección de datos

El efecto antimicrobiano del extracto etanólico de **epicarpio** del *Citrus aurantium* sobre la inhibición en cepas de *Staphylococcus aureus coagulasa positivo* resultó eficaz en un 100% en todas sus concentraciones, a comparación del extracto etanólico de **semillas** de *Citrus aurantium*, el cual resultó no eficaz frente a las mismas cepas en todas sus concentraciones.

ANEXO 4:

Tabla 5. Comparaciones múltiples

Variable dependiente:						
HSD Tukey						
(I) GRUPO		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Extracto Epicarpio Citrus aurantium 100%	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 75%	1,93750*	0,66771	0,066	-0,0698	3,9448
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 50%	3,50000*	0,66771	0,000	1,4927	5,5073
	Extracto Semilla Citrus aurantium 100%	15,75000*	0,66771	0,000	13,7427	17,7573
	Extracto Semilla Citrus aurantium 75%	15,93750*	0,66771	0,000	13,9302	17,9448
	Extracto Semilla Citrus aurantium 50%	20,06250*	0,66771	0,000	18,0552	22,0698
	Oxacilina 10 µg	-9,18750*	0,66771	0,000	-11,1948	-7,1802
Extracto Epicarpio Citrus aurantium 75%	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 100%	-1,93750	0,66771	0,066	-3,9448	0,0698
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 50%	1,56250	0,66771	0,235	-0,4448	3,5698
	Extracto Semilla Citrus aurantium 100%	13,81250*	0,66771	0,000	11,8052	15,8198
	Extracto Semilla Citrus aurantium 75%	14,00000*	0,66771	0,000	11,9927	16,0073
	Extracto Semilla Citrus aurantium 50%	18,12500*	0,66771	0,000	16,1177	20,1323
	Oxacilina 10 µg	-11,12500*	0,66771	0,000	-13,1323	-9,1177
Extracto Epicarpio Citrus aurantium 50%	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 100%	-3,50000*	0,66771	0,000	-5,5073	-1,4927
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 75%	-1,56250	0,66771	0,235	-3,5698	0,4448
	Extracto Semilla Citrus aurantium 100%	12,25000*	0,66771	0,000	10,2427	14,2573
	Extracto Semilla Citrus aurantium 75%	12,43750*	0,66771	0,000	10,4302	14,4448
	Extracto Semilla Citrus aurantium 50%	16,56250*	0,66771	0,000	14,5552	18,5698
	Oxacilina 10 µg	-12,68750*	0,66771	0,000	-14,6948	-10,6802
Extracto Semilla Citrus aurantium 100%	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 100%	-15,75000*	0,66771	0,000	-17,7573	-13,7427
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 75%	-13,81250*	0,66771	0,000	-15,8198	-11,8052
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 50%	-12,25000*	0,66771	0,000	-14,2573	-10,2427
	Extracto Semilla Citrus aurantium 75%	0,18750	0,66771	1,000	-1,8198	2,1948
	Extracto Semilla Citrus aurantium 50%	4,31250*	0,66771	0,000	2,3052	6,3198
	Oxacilina 10 µg	-24,93750*	0,66771	0,000	-26,9448	-22,9302

Extracto Semilla Citrus aurantium 75%	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 100%	- 15,93750*	0.66771	0.000	-17.9448	-13.9302
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 75%	- 14,00000*	0.66771	0.000	-16.0073	-11.9927
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 50%	- 12,43750*	0.66771	0.000	-14.4448	-10.4302
	Extracto Semilla Citrus aurantium 100%	-0.18750	0.66771	1.000	-2.1948	1.8198
	Extracto Semilla Citrus aurantium 50%	4,12500*	0.66771	0.000	2.1177	6.1323
	Oxacilina 10 µg	- 25,12500*	0.66771	0.000	-27.1323	-23.1177
Extracto Semilla Citrus aurantium 50%	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 100%	- 20,06250*	0.66771	0.000	-22.0698	-18.0552
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 75%	- 18,12500*	0.66771	0.000	-20.1323	-16.1177
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 50%	- 16,56250*	0.66771	0.000	-18.5698	-14.5552
	Extracto Semilla Citrus aurantium 100%	-4,31250*	0.66771	0.000	-6.3198	-2.3052
	Extracto Semilla Citrus aurantium 75%	-4,12500*	0.66771	0.000	-6.1323	-2.1177
	Oxacilina 10 µg	- 29,25000*	0.66771	0.000	-31.2573	-27.2427
Oxacilina 10 µg	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 100%	9,18750*	0.66771	0.000	7.1802	11.1948
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 75%	11,12500*	0.66771	0.000	9.1177	13.1323
	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 50%	12,68750*	0.66771	0.000	10.6802	14.6948
	Extracto Semilla Citrus aurantium 100%	24,93750*	0.66771	0.000	22.9302	26.9448
	Extracto Semilla Citrus aurantium 75%	25,12500*	0.66771	0.000	23.1177	27.1323
	Extracto Semilla Citrus aurantium 50%	29,25000*	0.66771	0.000	27.2427	31.2573

ANEXO 5:

Tabla 6. Comparaciones múltiples

	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 100%	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 75%	Extracto Epicarpio Citrus aurantium 50%	Extracto Semilla Citrus aurantium 100%	Extracto Semilla Citrus aurantium 75%	Extracto Semilla Citrus aurantium 50%	Oxacilina 10 µg
Extracto Epicarpio Citrus aurantium 100%		Igual Efecto	Efecto diferente	Efecto diferente	Efecto diferente	Diferente efecto	Diferente efecto
Extracto Epicarpio Citrus aurantium 75%	Igual Efecto		Igual Efecto	Efecto diferente	Efecto diferente	Diferente efecto	Diferente efecto
Extracto Epicarpio Citrus aurantium 50%	Efecto diferente	Igual Efecto		Efecto diferente	Efecto diferente	Diferente efecto	Diferente efecto
Extracto Semilla Citrus aurantium 100%	Efecto diferente	Efecto diferente	Efecto diferente		Igual efecto	Diferente efecto	Diferente efecto
Extracto Semilla Citrus aurantium 75%	Efecto diferente	Efecto diferente	Efecto diferente	Igual efecto		Diferente efecto	Diferente efecto
Extracto Semilla Citrus aurantium 50%	Efecto diferente	Efecto diferente	Efecto diferente	Efecto diferente	Efecto diferente		Diferente efecto
Oxacilina 10 µg	Efecto diferente	Efecto diferente	Efecto diferente	Efecto diferente	Efecto diferente	Diferente efecto	

ANEXO 6:
FOTOGRAFÍAS DE EJECUCIÓN DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

Recolección de producto en estudio:
Citrus aurantium



Previo lavado, recolección de epicarpio y
semillas del *Citrus aurantium*



Secado en estufa a 40° , del epicarpio del
Citrus aurantium



Trituración de epicarpio del *Citrus aurantium* en mortero



Trituración de semillas de *Citrus aurantium* en mortero



Calibración y peso exacto del objeto de estudio



Herramientas de laboratorio: Etanol de 96°, Probeta, Matraz.



Mezcla de etanol y epicarpio de *Citrus aurantium*, así también de semillas.



Proceso de reposo y maceración en estufa, sellado para evitar la evaporación del objeto en estudio.



Reposo en estufa del extracto del *Citrus aurantium*

