



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA**

Eficacia bactericida del aceite esencial y extracto etanólico del
Cúrcuma longa sobre *Staphylococcus aureus* TCC 25923 respecto a
Oxacilina, in vitro

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Médico Cirujano

AUTORA:

Santa Cruz Obeso, Mireya Yasmin (ORCID: 0000-0002-2849-5530)

ASESORES:

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

Dra. Chian García, Ana Maria (ORCID: 000-0003-0907-5482)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades infecciosas y transmisibles

TRUJILLO – PERÚ

2020

Dedicatoria

El presente trabajo de investigación es dedicado principalmente a Dios, por darme la inspiración y fortaleza en este largo camino para obtener uno de mis grandes anhelos.

A mis padres, Jaime y Marleny, por el sacrificio, trabajo y amor brindado durante estos largos años, gracias a ellos he podido lograr llegar hasta aquí. Sintiendo orgullo y privilegio por tener a los mejores padres.

A mis hermanos porque siempre me han brindado su apoyo en todo momento, dándome palabras de aliento cuando más lo necesitaba.

Santa Cruz Obeso Mireya

Agradecimiento

Agradezco a mi Dra. Chian, por ser mi maestra en el desarrollo de la presente investigación. Dándome las herramientas necesarias y los consejos guiados para poder culminarla.

Agradezco al Dr. Jaime Gamboa, por ser mi mejor asesor, con su ayuda se pudo culminar con los objetivos propuestos.

Santa Cruz Obeso Mireya

Índice de contenidos

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
Índice de tablas	v
Índice de gráficos y figuras	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
I. INTRODUCCIÓN	9
II. MARCO TEÓRICO	12
III. METODOLOGÍA	18
3.1. Tipo y diseño de investigación	18
3.2. Variables y operacionalización	19
3.3. Población, muestra, muestreo	19
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	19
3.5. Procedimiento	20
3.6. Métodos de análisis de datos	20
3.7. Aspectos éticos	20
IV. RESULTADOS	22
V. DISCUSIÓN	26
VI. CONCLUSIONES	30
VII. RECOMENDACIONES	31
REFERENCIAS	32
ANEXOS	39

Índice de tablas

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de la media de la eficacia bactericida, según halos de inhibición del aceite esencial y extracto etanólico del <i>Cúrcuma longa</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i> TCC 25923 respecto a Oxacilina, in vitro.....	22
Tabla 2.1 Análisis de varianza de las medias de la eficacia bactericida del aceite esencial y extracto etanólico del <i>Cúrcuma longa</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i> TCC 25923 respecto a oxacilina, in vitro	23
Tabla 2.2 Test de Levence	23
Tabla 3 Comparación múltiple de las medias de los halos de inhibición con las pruebas de Tukey entre aceite esencial, extracto etanólico y oxacilina, sobre <i>Staphylococcus aureus</i> TCC 25923	24

Índice de gráficos y figuras

Gráfico 1. Gráfico de medias de los halos de inhibición entre los 05 grupos de estudio.	25
Figura 1. Diagrama de caja de los halos de inhibición por grupos de estudio.	25

RESUMEN

En la investigación, el objetivo fue evaluar la eficacia bactericida del aceite esencial y extracto etanólico del *Cúrcuma longa* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923 respecto a oxacilina a 1 ug en estudio in vitro, para lo cual se formó 06 grupos de estudio (aceite esencial al 100% y 75%, extracto etanólico al 100% y 75%, oxacilina y suero fisiológico); se midió la sensibilidad bactericida con el método Kirby Bauer. Los resultados mostraron; la media de los halos de inhibición del aceite esencial al 100% fue de 32.80 mm (DS: ± 1.398), siendo eficaz según el CLSI (≥ 13 mm), el aceite esencial al 75% fue de 29.60 mm (DS: ± 1.265), el extracto etanólico al 100% fue de 27.90 mm (DS: ± 3.143), el extracto etanólico al 75% fue de 16.90 mm (DS: ± 1.449), y la oxacilina fue de 30.10 mm (DS: ± 0.738). El análisis ANOVA demostró que existe diferencias significativas entre los promedios de los halos de inhibición ($p= 0,000$); el post ANOVA de Tukey con comparaciones múltiples se demostró que el mejor grupo en estudio que tuvo efecto bactericida es el aceite esencial al 100%, superando a las medidas con el fármaco en comparación. Se concluye que el aceite esencial al 100% tiene eficacia bactericida, superando al control positivo que fue la oxacilina a 1 ug.

Palabra clave: *Staphylococcus aureus*, *Curcuma longa*, oxacilina

ABSTRACT

In the research, the objective was to evaluate the bactericidal efficacy of the essential oil and ethanolic extract of *Turmeric longa* on *Staphylococcus aureus* ATCC25923 concerning oxacillin at 1 ug in an in vitro study, for which 06 study groups were formed (100% and 75% essential oil, 100%, and 75% ethanolic extract, oxacillin and physiological serum); bactericidal sensitivity was measured with the Kirby Bauer method. The results showed; the average of the inhibition halos of the essential oil at 100% was 32.80 mm (SD: \pm 1.398), being effective according to the CLSI (\geq 13 mm), the essential oil at 75% was 29.60 mm (SD: \pm 1.265), the ethanolic extract at 100% was 27.90 mm (SD: \pm 3.143), the ethanolic extract at 75% was 16.90 mm (SD: \pm 1.449), and the oxacillin was 30.10 mm (SD: \pm 0.738). The ANOVA analysis showed that there are significant differences between the averages of the inhibition halos ($p= 0.000$); Tukey's post ANOVA with multiple comparisons showed that the best study group that had a bactericidal effect is the essential oil at 100%, exceeding the measures with the drug in comparison. It is concluded that the 100% essential oil has bactericidal efficacy, surpassing the positive control that was oxacillin at 1 ug.

Keyword: *Staphylococcus aureus*, *Curcuma longa*, oxacillin

I. INTRODUCCIÓN

La incidencia de infecciones por *Staphylococcus aureus* ha aumentado notablemente, convirtiéndose en una de las principales afecciones a nivel dérmico, que se manifiestan como una foliculitis, celulitis, entre otras; hasta llegar a causar enfermedades de gran riesgo para la salud como las producidas a nivel intrahospitalaria, sobre todo a personas con estado inmunológico deprimido. A nivel mundial, estas afecciones nosocomiales generan problemas en la salud pública, de trascendencia económica y social, debido a que conllevan a altas tasas de morbilidad, altos costos y mayor tiempo de duración de hospitalización.¹

En 1880, Alexander Ogston, médico cirujano, identificó al *S. aureus* por primera vez en un absceso. Normalmente se encuentra incluida en la flora de la nariz, faringe, tracto intestinal, piel y genitourinario, siendo su localización más frecuente, la zona nasal. Esta ubicación le permite penetrar con facilidad a través de alguna discontinuidad de la piel, llegando al torrente sanguíneo.²

Los antibióticos constituyen la piedra angular en el manejo de diversas infecciones. Desde sus inicios se pensó erróneamente que con estos se tenía asegurada la erradicación de dichas patologías. Hoy en día el mal uso y abuso de ciertos fármacos contra microorganismos determinados, incluyendo hongos y parásitos, ha incrementado la tasa de resistencia a los mismos, siendo *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM), lo que es favorecido las causas ya mencionadas anteriormente. Este problema de salud se ha incrementado con el tiempo a nivel global, y Perú no es indiferente a dicha situación, es por ello que se realizan investigaciones en busca de nuevas sustancias que cumplan con las expectativas, ya que *S. aureus* se aísla con más frecuencia tanto en infecciones comunitarias y nosocomiales.³

En el año 2014, en el “Reporte global sobre la vigilancia de la resistencia antimicrobiana” publicado a través de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se muestra prevalencia en 50% o más de resistencia contra *S. aureus* en los cinco continentes.⁴

Aproximadamente un 70% de las infecciones nosocomiales, presentan resistencia a uno de sus antibióticos usados con regularidad. Un estudio en Europa, el *S. aureus* meticilino resistente (SAMR), mostró mayor resistencia tanto en UCI (42%) como en hospitalización (27%), en comparación con Latinoamérica (35%) y Estados Unidos (21-51%).⁵

El INS presentó un informe acerca de la resistencia antimicrobiana en hospitales del Perú, estudio que fue realizado en el año 2012 y nos indica que el porcentaje de SAMR en pacientes hospitalizados fue de 84%, siendo entre los fármacos con mayor resistencia la penicilina (99%), eritromicina (80%) y clindamicina (75%).⁶

Nuevas investigaciones en la búsqueda de alternativas a los problemas ya existentes como es la resistencia enfocan su atención en productos naturales. Solo un 10% de todas las plantas a nivel mundial se han usado para innumerables infecciones, sin embargo, solo el 1% han sido reconocidas, por lo que se necesita mayores aportes que contribuyan a evidenciar las ventajas para su uso, como es la disponibilidad de la misma y mínimas reacciones adversas a comparación de fármacos ya existentes que mayormente pueden ser tóxicos.⁷

El *Cúrcuma longa*, de la familia de las Zingiberaceae, es una de las plantas estudiadas, aunque poco documentadas, originaria de la India, siendo su principal fuente de uso medicinal muy antiguo. Esta planta crece en la Amazonía del Perú, la cual es una gran reserva de recursos con fines terapéuticos. En algunas comunidades utilizan para el tratamiento de lesiones en piel, infecciones diarreicas, malaria y hepatitis.⁸

El objeto de estos estudios ha sido el rizoma del *Cúrcuma longa*, que en diferentes preparados se han podido encontrar principios fitoquímicos activos, entre los compuestos se mencionan carbohidratos, aceites esenciales, ácidos grasos y curcuminoides(entre ellos la curcumina). La curcumina es un compuesto fenólico, que le da el color llamativo y característico a sus rizomas, al cual se le atribuye su actividad biológica. Aunque algunos estudios respaldan que dicha acción es parte de los terpenos que se encuentran dentro de los aceites esenciales de la misma.⁹

De la revisión anterior, podemos plantearnos la siguiente pregunta. ¿Tiene eficacia bactericida el aceite esencial y extracto etanólico del *Cúrcuma longa* en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente a oxacilina a 1 ug, in vitro?

El presente experimento tiene la justificación centrada en la búsqueda de nuevas alternativas con actividad antimicrobiana contra *S. aureus*, un microorganismo que causa innumerables enfermedades infecciosas desde leves a graves, y principalmente de lesiones dérmicas; es por ello que se recurre a medicina natural por su principal ventaja de menos reacciones adversas frente a fármacos tradicionales, con el fin de encontrar drogas naturales que sirvan como prototipo a futuras investigaciones, y más aún en una sociedad donde la resistencia antimicrobiana va en aumento.

Siendo el objetivo general: Evaluar la eficacia bactericida del aceite esencial y extracto etanólico del *Cúrcuma longa* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923 respecto a Oxacilina a 1 ug en estudio in vitro.

Y los objetivos específicos: Identificar la eficacia bactericida del aceite esencial del *Cúrcuma longa* al 100% y 75% sobre *Staphylococcus aureus*; identificar la eficacia bactericida del extracto etanólico del *Curcuma longa* al 100% y 75% sobre *Staphylococcus aureus*; e identificar la eficacia bactericida de la Oxacilina a 1 ug sobre *Staphylococcus aureus*.

Como hipótesis se plantea: H1: El aceite esencial y extracto etanólico del *Cúrcuma longa* tienen eficacia bactericida sobre *Staphylococcus aureus* comparado con Oxacilina a 1 ug en estudio in vitro y H0: El aceite esencial y extracto etanólico del *Cúrcuma longa* no tienen eficacia bactericida sobre *Staphylococcus aureus* comparado con Oxacilina a 1 ug en estudio in vitro.

II. MARCO TEÓRICO

Deshmukh¹⁰ (India, 2014), en su trabajo experimental titulado “efecto antimicrobiano de *Cúrcuma longa* frente a diferentes patógenos entéricos”, cuyo objetivo fue poner a prueba el potencial de los diferentes extractos de la cúrcuma en varios patógenos, incluyendo a *S. aureus*, cuyos resultados en donde el extracto acuoso variaba su zona de inhibición según su concentración, siendo esta entre 12 mm a 23 mm, esta última correspondiendo a una concentración de 100%. Otro extracto que se observa con mayor zona de inhibición, es el extracto con etanol, cuyo resultado fue de 20 mm.

Chiarman¹¹ (India, 2015), en su investigación cuyo objetivo fue demostrar actividades antimicrobianas del tinte de *Cúrcuma longa* en diferentes textiles, demostrando que el extracto puro de *C. longa* tiene eficacia inhibitoria contra cepas de *S. aureus*, a través de diferentes concentraciones de 20 µl, 40 µl, 60 µl y 80 µl, encontrando zonas de inhibición para esta última concentración de 12.00 +/- 0.57 mm.

Pratap et al.¹² (India, 2011), en su trabajo experimental, cuyo objetivo fue demostrar la actividad antibacteriana del aceite esencial y del extracto etanólico del *Cúrcuma longa* frente a diferentes microorganismos, incluyendo bacterias y hongos, los resultados mostraron diferencias potenciales mayores en el extracto que el aceite, específicamente para el *S. aureus* tuvieron un diámetro de inhibición de 17 mm y 10 mm respectivamente.

Aslam et al.¹³ (Pakistán, 2010), en su investigación experimental, el objetivo fue demostrar actividad antimicrobiana de las diferentes variedades del *Cúrcuma longa* frente a diversos patógenos, cuyas variedades del *C. longa* (*Kasur*, *Faisalabad*, *Bannu*) demostraron actividad tanto como extracto y aceite esencial frente a *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Azotobacter* y *Bacillus macerans*, concluyendo que la variedad Kasur mostró mayor actividad antimicrobiana, cuya MIC fue entre 4 y 28 mg/dl, a diferencia de los otros dos y el *B. subtilis* fue el más sensible de todos.

Lawhavit et al.¹⁴ (Pakistán, 2010), en su trabajo experimental, el objetivo fue demostrar el efecto inhibitorio que tiene el aceite esencial, extracto de etanol y

extracto de hexeno del *Cúrcuma longa* frente a diferentes 24 patógenos que se encuentran el pollo y camarones, los resultados fueron que los 24 fueron sensibles a los extractos y 8 al aceite esencial, presentando mayor actividad frente las primeras preparaciones anteriormente mencionadas, para *S. aureus* tuvo un diámetro de inhibición de 16.55 +/- 0.42 mm en el extracto de etanol, un halo de 9.87 +/- 0.11 mm en el extracto de hexano y un halo de 11.12 +/- 0.23 mm en el aceite esencial.

Pranay et al. ¹⁵ (India, 2009), en el trabajo experimental que realizaron, el objetivo fue demostrar la actividad inhibitoria de los diferentes acuosos vegetales (*cúrcuma*, *menta*, *pimienta negra*, *jengibre* y *neem*) frente a *E. coli* y *B. asubtilis*, concluyendo que *Azadirachta indica*, *Zingiber officinali* y *Curcuma longa* fueron eficaces frente a estos microorganismos; *Piper nigrum* solo mostró actividad contra *B. asubtilis*; y *Mentha arvensis* a ninguno de los dos, donde los halos de inhibición del *Cúrcuma longa* fue de 7 mm para *E.coli* y de 8 1 10 mm para *B. asubtilis*.

Malo¹⁶ (Ecuador, 2018), en su estudio experimental, el objetivo fue comparar a los aceites esenciales de *Zingiber officinali* y *Cúrcuma longa* frente a *Staphylococcus aureus*, los resultados demostraron que ambos aceites tuvieron un pH ácido, siendo este necesario para la actividad antimicrobiana. Se registró que el *Cúrcuma longa* al 100% presentó un diámetro de inhibición en 7,56 mm y el *Zingiber officinale* al 50% alcanzó 7,11 mm; demostrando con esto dicha actividad ya mencionada.

Mendez et al. ¹⁷ (Colombia, 2016), en su estudio usó extracto etanólico y aceites esenciales de la *Curcuma longa*, sobre diferentes cepas bacterianas nosocomiales, incluyendo *S. aureus*. Para el extracto etanólico uso concentraciones de 100 ppm, 500 ppm y 1000 ppm y evaluando mediante el método de microdilución, los resultados fueron inhibición del crecimiento bacteriano a medida que crecían las concentraciones, aunque esto fue menos del 50%, en comparación de la demás cepa. Los aceites esenciales también demostraron reducción del crecimiento bacteriano, la mayor inhibición de 43% fue una concentración de 1000 ppm. Demostrando con esto la inhibición del crecimiento bacteriano, siendo mayor con el extracto etanólico.

Torres¹⁸ (Argentina, 2014), en su tesis de trabajo experimental, para obtener el AE de *Curcuma longa*, mediante la técnica de hidrodestilación, le permitió tener una extracción más pura de sus componentes más volátiles. En su estudio determinó en diferentes cepas, incluyendo en esta *S. aureus*, Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) y Concentración Bactericida Mínima (CBM), siendo de 8 ug/mL y 32 ug/mL respectivamente, para lo cual demostró la efectividad como antimicrobiano mediante esta técnica de extracción.

Falco et al.¹⁹ (Venezuela,2010), en su trabajo realizado con el objetivo de determinar la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) como efecto antimicrobiano de los extractos *Cymbopogon citratus* y *Curcuma longa*, observaron que la última planta resultó ser efectiva contra *E. coli* y *S. aureus*, cuyos CIM fueron de 1,55 mg/mL y 0,75 mg/mL respectivamente.

Mego²⁰ (Perú, 2019), realizaron un estudio experimental, con el objetivo fue demostrar la actividad antimicrobiana del *Cúrcuma longa* y oxacilina frente a *S. aureus*, donde los resultados en sus dos concentraciones etanólicas de 100% y 75%, obtuvieron diámetros de inhibición con medidas de 18.10 mm y 15.2 mm respectivamente, aunque fue notoriamente mayor con oxacilina la cual obtuvo 40 mm de diámetro.

Aguirre⁷ (Perú, 2017), en su estudio in vitro, cuyo objetivo fue demostrar la actividad inhibitoria de los aceites esenciales del *Cúrcuma longa* sobre *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, encontrándose como resultados que fue efectivo sobre *C. albicans* y *S. aureus*, esta última presentó los siguientes diámetros de inhibición: 8.7 mm (al 25% de concentración), 9.65 mm (al 50% de concentración) y 10 mm (al 100% de concentración).

Espinoza et al²¹ (Perú, 2017), el objetivo del estudio fue determinar la CIM del extracto en etanol de *Curcuma longa l.* sobre el agente patógeno *S. aureus* encontrando que dicha medida fue de 3.83 ± 0.2 mg/mL, lo que difiere de la CBM que fue 5.00 ± 0.00 mg/mL necesitando para este último concentraciones altas; concluyeron que a pesar de estar inhibir el crecimiento, para la muerte de la bacteria requiere mayor concentración.

Curcuma longa L. conocido en la India como una hierba importante relacionada con la medicina, es considerado a la vez como un símbolo de prosperidad y limpieza del alma y cuerpo. También se usan para trastornos alimenticios como es la anorexia, enfermedades del hígado, heridas de piel secundario a Diabetes mellitus descompensada, problemas osteoarticulares y cardiovasculares, entre otros. Por su color y sabor característico es de uso mundial en las cocinas. ²²

Antiguamente en la Amazonía peruana, se usaban en el tratamiento del Píán, actualmente ya erradicada, causada por el *Treponema perpetenue*, provocando erupciones papuloedematosas de manera crónica. Actualmente es empleada como antiinflamatorio y antioxidante. En la medicina asiática, justifican su uso para la mejora en la absorción y digestión de alimentos ricos en grasos, en la resolución de úlceras gástricas y como uso externo en heridas en piel. ²²

La cúrcuma pertenece a la familia botánica de Zingiberaceae, conocido vulgarmente como palillo o erróneamente como azafrán. Es una planta que puede crecer hasta 1 m de altura, tiene hojas oblongas y acuminadas de 30-50 cm. Sus flores amarilladas agrupadas en una espiga hojuela, el tallo es un rizoma que se encuentra a nivel subterráneo, dividido en una central (bulbo) y los brotes de color amarillo-naranja, donde se puede encontrar desde rizomas nuevos y viejos en la misma planta. ²³

Originariamente de Sangli (sur de la India) y Vietnam, crece en zonas cálidas y húmedas en abundantes lluvias, necesita de temperaturas de 20 a 30° C, en campos abiertos para aprovechar la luz solar al máximo y en suelos con pH entre 5 y 6, es decir ligeramente ácidos. En Perú, se puede encontrar en la zona de la Amazonía, en la selva alta y baja debido a que son zonas fértiles y con terrenos arcillo-limosos. ²³

Entre los componentes de esta planta encontramos: carbohidratos, en un 4.7 – 82%; aceites esenciales, con un 2.44%; ácidos grasos, entre 1.7-3.3 % y los curcuminoides, en un 2% aproximadamente, aunque puede llegar entre 2.5 a 5.0% en peso en seco. Este último compuesto a la vez por curcunina, demetoxicurcumina y bisdemetoxicurcumina, forman el complejo diferuloilmetano o 1,7-bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6- heptadieno-3,5diona, conocido como azafrán indio. ²⁴

Los curcuminoides presentan grupos fenólicos en su estructura, a estos se les han atribuido su actividad bactericida a bajas concentraciones, causando daño en las membranas de las bacterias gram positivas, a la vez inactivan a las oxidasas y deshidrogenas, con esto desnaturalizan a las proteínas de la membrana.²⁵

La inhibición de enzimas lisosomales justificaría su actividad antiinflamatoria. Así mismo, la capacidad de unirse a metales pesados (cadmio y plomo), le confiere un efecto neuroprotector.²⁵

Los *Staphylococcus*, son un gran grupo de bacterias cocos gram positivas que además se caracterizan por ser aerobios y anaerobios facultativos, inmóviles, no forman esporas, cuyo diámetro varía entre 0.5 - 2 µm. Agrupados en racimos, catalasa positiva. Naturalmente se encuentran formando parte de las mucosas y piel. Hasta ahora se han reportado 3 especies y 17 subespecies, una de las más importantes es el *Staphylococcus aureus*, responsable desde infecciones en piel hasta en torrente sanguíneo, siendo además una bacteria que puede producir enfermedades serias al transmitirse también por el consumo de alimentos procesados en deficientes condiciones de higiene.²⁶

Es también conocido como estafilococo dorado, cuya característica está justificada por su coloración amarillenta no difusible, también se le confiere su propiedad de fermentar el manitol, y coagulasa positiva. En su pared celular, se detectaron 30 proteínas, siendo el más destacado el polisacárido A, contiene polímeros de fosfato de ribitol y ácidos teicoicos, llevando esto a la creación de anticuerpos. Otra proteína, la proteína A, también forma parte de su pared celular actuando como un potente antigénico.²⁷

La patogenicidad del *S. aureus* depende de muchos factores entre ellos: antígenos presentes en la pared celular, como el polisacárido A y proteína A, que inducen a la quimiotaxis formando estructuras piógenas; otros son las toxinas, entre ellas están las exotoxinas o hemolisinas que tienen la función de lisis de eritrocitos, toxinas exfoliativas, que resultan en graves eritemas en piel y por último las enterotoxinas A, B y D, responsables de intoxicaciones alimentarias; y en el grupo de fermentos, encontramos la coagulasa, fibrinolisin y las penicilinasas, estos últimos crean cierta resistencia a antibióticos betalactámicos. La forma de

penetración determinará el proceso de infección, ya sea de manera directa, provocando cuadros supurativos y necrotizantes; o de manera indirecta, que actúan a través de enterotoxinas, causando en su mayoría daño a nivel digestivo. A nivel de tejido tegumentario provoca cuadros inflamatorios e infecciosos, pudiendo terminar en forúnculos y/o abscesos. También se reportan afectación sistémica como artritis, pleuritis, meningitis y por último las intoxicaciones alimentarias que en frecuencia se encuentra en alimentos con alto contenido de hidratos de carbono provocando gastroenteritis con episodios de diarrea y vómitos en grandes cantidades.²⁸

El tratamiento depende de la resistencia del *S. aureus*, en infecciones de la piel y anexos clasificándolas como SASM en afectaciones leves incluyen el grupo de penicilinas (amoxicilina, cefalexina, oxacilina) y lincosamidas (clindamicina) y en graves a cloxacilina más clindamicina o linezolid; en infecciones SARM en leves incluye clindamicina, linezolid clotrimazol y en graves Linezolid, daptomicina, vancomina y teicoplanina.²⁹

La oxacilina es un bactericida del grupo de las penicilinas, familia de los betalactámicos. El mecanismo de acción consiste en la unión a las proteínas ligadas a penicilinas (PBP) usados para para la transpeptidación de peptidoglucanos, y con ello queda inhibido la formación de la pared celular, resultando en una lisis posterior de la bacteria. La resistencia bacteriana se debe a las mutaciones de las mismas, en el caso del *S. aureus* se ve resistencia a penicilinas.³⁰

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básica.³¹

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN: Experimental con repeticiones múltiples, post prueba ³¹

RGA	X-A	01
RGB	X-B	02
RGC	X-C	03
RGD	X-D	04
RGE	X-E	05
RGF	X-F	06

Donde:

RG: grupos de estudio: 06

X-A: AE del *Cúrcuma longa* 100%

X-B: AE del *Cúrcuma longa* 75%

X-C: EE del *Cúrcuma longa* 100%

X-D: EE del *Cúrcuma longa* 75%

X-E: Oxacilina 1 ug

X-F: Suero fisiológico

O: Halos de inhibición

3.2. Variables y operacionalización (Anexo 1)

Independiente: Agente bactericida para cepas de *Staphylococcus aureus*

- Agente bactericida no farmacológico: AE y EE de *Cúrcuma longa*
- Agente bactericida farmacológico: Oxacilina 1 ug

Dependiente: Eficacia bactericida ³²

- Si eficacia bactericida: igual o mayor a 13 mm
- No eficacia bactericida: menor a 13 mm

3.3. Población, muestra y muestreo

Población: Todas las cepas de *Staphylococcus aureus*, utilizando sus medios de cultivos para ser usadas en el departamento de microbiología de la UCV.

- Criterios de inclusión: Cultivos de *S. aureus* perfectamente viables.
- Criterios de exclusión: Cultivos adulterados, contaminados y/o dañados por temperaturas inadecuadas.

Muestra: Empleando la fórmula estadística, se obtuvo como resultado 10 repeticiones necesarias por cada uno de los grupos definidos. ³³ (Anexo 2)

Muestreo: el tipo de muestreo que se usó es el no probabilístico, por conveniencia.

Unidad de análisis: Cada cultivo con halos inhibitorios de *S. aureus*.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica: Empleando la observación de forma directa a los cultivos en las placas Petri.

Instrumento: Se usó una hoja de recolección de datos que permitieron registrar las medidas de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones. (Anexo 3)

Validación y confiabilidad del instrumento: Fue revisado y aprobado por tres profesionales para garantizar que los datos obtenidos en la investigación, sean

registrados de manera adecuada para cumplir los objetivos plasmados en esta investigación. (Anexo 4)

3.5. Procedimiento

Se seguirán los procesos según la siguiente descripción:

- a) La identificación de los rizomas se realizó en el herbario de la Universidad Nacional de Trujillo. (Anexo 5)
- b) Se adquirió las cepas de *Staphylococcus aureus*.
- c) A través de la técnica de arrastre de vapor, se obtuvo los AE. ^{34,35} (Anexo 6)
- d) A través de la técnica de maceración con etanol al 96%, se obtuvo el EE. ³⁶ (Anexo 7)
- e) Se utilizó como medio de cultivo el de agar Muller – Hinton. Las pruebas de susceptibilidad se realizaron mediante el disco de difusión, mediante el método de Kirby-Bauer (en base al Manual de procedimientos del Ministerio de salud). ^{37,38,39}(Anexo 8)
- f) Los resultados observados se evaluaron según estándares susceptibilidad antibacteriana establecidos por el Instituto Nacional del Perú en su Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana. ³⁹(Anexo 9)

3.6. Métodos de análisis de datos

Los resultados fueron tabulados en una hoja de cálculo Excel y posteriormente analizados en el programa SPSS versión 25. Nos ayudamos con los gráficos de diagrama de cajas. Para la evaluación de diferencias significativas entre los diámetros de las zonas de inhibición, se usó la prueba estadística de análisis de varianza ANOVA, con un nivel de significancia de 0,000 . Y para la identificación de la dilución con mayor halo de inhibición, se aplicó la prueba Post ANOVA de Tukey con comparaciones múltiples.

3.7. Aspectos éticos

Se trabajó teniendo en consideración las medidas de bioseguridad del Ministerio de Salud, donde se encuentra detallado los cuidados básicos para el desarrollo de las actividades en el laboratorio. ⁴⁰

Adicionalmente, según el capítulo 6 del código de ética del Colegio Médico del Perú, se respetó los principios para el desarrollo del trabajo, en especial de suma importancia el art 48. ⁴¹

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Estadísticos descriptivos de la media de la eficacia bactericida, según halos de inhibición del aceite esencial y extracto etanólico del *Cúrcuma longa* sobre *Staphylococcus aureus* TCC 25923 respecto a Oxacilina, in vitro

TRATAMIENTO	N	Media	Desv. Desviación	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
AE100	10	32.80	1.398	31.80	33.80	30	35
AE75	10	29.60	1.265	28.70	30.50	27	31
EE100	10	27.90	3.143	25.65	30.15	21	33
EE75	10	16.90	1.449	15.86	17.94	14	19
OXA	10	30.10	0.738	29.57	30.63	29	31

Fuente: Reporte SPSS 25ta versión.

AE100: Aceite esencial de *Cúrcuma longa* al 100%

AE75: Aceite esencial de *Cúrcuma longa* al 75%

EE100: Extracto etanólico de *Cúrcuma longa* al 100%

EE75: Extracto etanólico de *Cúrcuma longa* al 75%

OXA: Oxacilina

Esta tabla se interpreta de la siguiente manera:

- El aceite esencial al 100% tuvo una media de 32.80.
- El aceite esencial al 75% tuvo una media de 29.60.
- El extracto etanólico al 100% tuvo una media de 27.90.
- El extracto etanólico al 75% tuvo una media de 16.90
- La oxacilina tuvo una media de 30.10

Tabla 2.1 Análisis de varianza de las medias de la eficacia bactericida del aceite esencial y extracto etanólico del *Cúrcuma longa* sobre *Staphylococcus aureus* TCC 25923 respecto a oxacilina, in vitro

ANOVA

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1517.720	4	379.430	117.998	0.000
Dentro de grupos	144.700	45	3.216		
Total	1662.420	49			

Fuente: Reporte SPSS 25ta versión.

Este cuadro se interpreta de la siguiente manera:

Nivel de significancia p 0.000: es altamente significativo, demostrando que hay diferencia entre los grupos, significa que las medias de los grupos nos son iguales.

Tabla 2.2 Test de Levene

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,384	4	45	,065

Este cuadro se interpreta de la siguiente manera:

El p-valor es 0.065 por lo tanto no se puede rechazar la hipótesis de homogeneidad de las varianzas, es decir que los cinco grupos tienen varianzas iguales y no varía entre los grupos.

Tabla 3 Comparación múltiple de las medias de los halos de inhibición con las pruebas de Tukey entre aceite esencial, extracto etanólico y oxacilina, sobre *Staphylococcus aureus* TCC 25923

	(I) trata	(J) trata	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	Aceite100	Aceite75	3,200*	,802	,002	,92	5,48
		Eta100	4,900*	,802	,000	2,62	7,18
		Eta75	15,900*	,802	,000	13,62	18,18
		Oxac	2,700*	,802	,013	,42	4,98
	Aceite75	Aceite100	-3,200*	,802	,002	-5,48	-,92
		Eta100	1,700	,802	,230	-,58	3,98
		Eta75	12,700*	,802	,000	10,42	14,98
		Oxac	-,500	,802	,971	-2,78	1,78
	Eta100	Aceite100	-4,900*	,802	,000	-7,18	-2,62
		Aceite75	-1,700	,802	,230	-3,98	,58
		Eta75	11,000*	,802	,000	8,72	13,28
		Oxac	-2,200	,802	,063	-4,48	,08
	Eta75	Aceite100	-15,900*	,802	,000	-18,18	-13,62
		Aceite75	-12,700*	,802	,000	-14,98	-10,42
		Eta100	-11,000*	,802	,000	-13,28	-8,72
		Oxac	-13,200*	,802	,000	-15,48	-10,92
	Oxac	Aceite100	-2,700*	,802	,013	-4,98	-,42
		Aceite75	,500	,802	,971	-1,78	2,78
		Eta100	2,200	,802	,063	-,08	4,48
		Eta75	13,200*	,802	,000	10,92	15,48

Este cuadro se interpreta de la siguiente manera:

Hay diferencias significativas entre el AE al 100% con los 04 grupos restantes.

Hay diferencias significativas entre el EE al 75% con los 04 grupos restantes

Gráfico 1. Gráfico de medias de los halos de inhibición entre los 05 grupos de estudio.

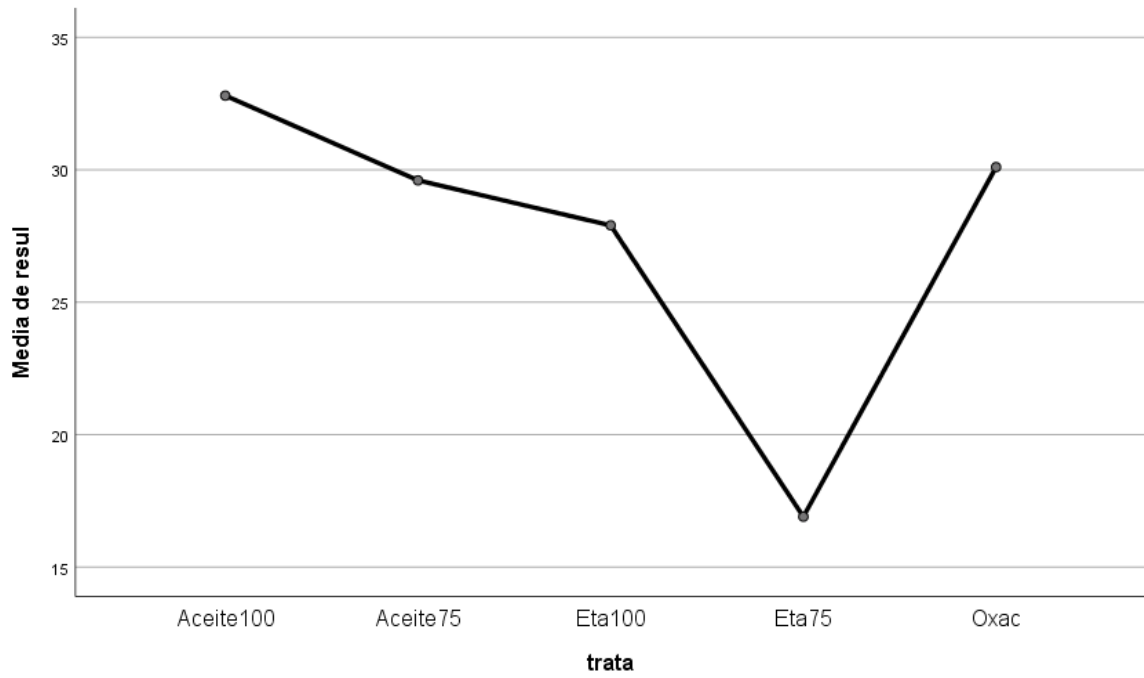
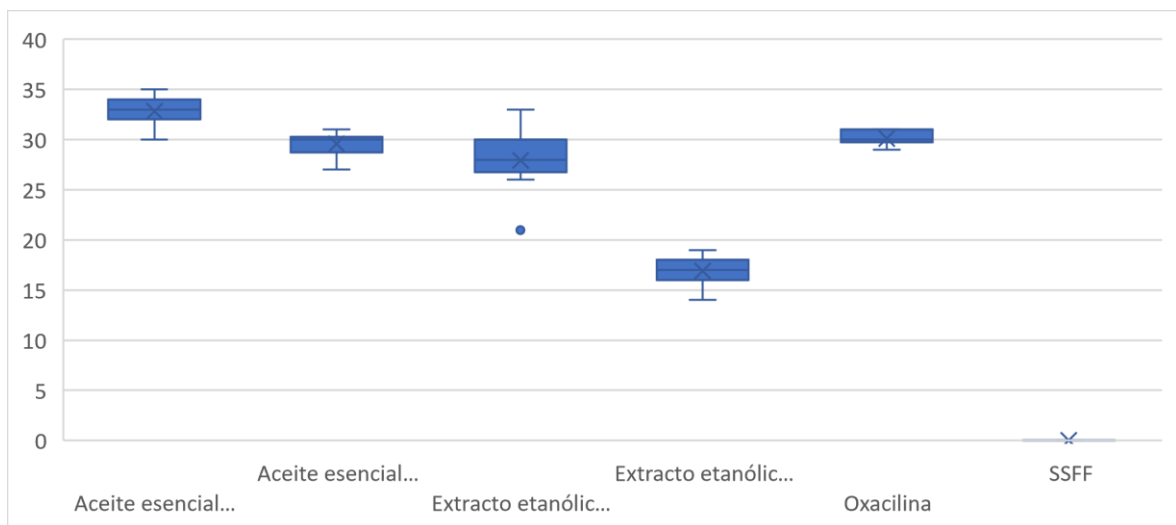


Figura 1. Diagrama de caja de los halos de inhibición por grupos de estudio.



V. DISCUSIÓN

La infección por *Staphylococcus aureus* es de notable aumento, aún más a nivel dérmico, siendo también una de las principales infecciones a nivel intrahospitalario, conllevando esto a altas tasas de morbimortalidad, así como mayores costos y mayor tiempo de hospitalización de los pacientes.¹

Desde la existencia de los antibióticos, se pensaba erróneamente que aseguraban la erradicación de las infecciones, sin embargo, es importante mencionar que el abuso de estos, ha originado niveles altos de resistencia de los diferentes patógenos, y *S. aureus* no es excepción, ya que el incremento de su resistencia se reporta a nivel mundial y nacional. Es por ello, que es necesario realizar una búsqueda de nuevas alternativas como enfoque terapéutico.³

Tras evaluar la eficacia bactericida del aceite esencial y extracto etanólico del *Cúrcuma longa L.* y la oxacilina, sobre *Staphylococcus aureus* in vitro, se observaron los siguientes resultados:

Los resultados observados en la **Tabla 1**, se muestra la actividad antimicrobiana de las muestras utilizadas, evidenciándose el efecto bactericida del aceite esencial del *Cúrcuma longa L.* en su concentración de 100% cuyos halos de inhibición tuvieron una media de 32.80 mm (DS: ± 1.398 , IC 95% 31.80 a 33.80, Rango: 30-35 mm) y la concentración en 75% demostró una media de 29.60 mm (DS: ± 1.265 , IC 95%: 28.70 a 30.50, Rango: 27 a 31 mm). Estos resultados pueden interpretarse, indicando que ambas concentraciones tuvieron el efecto deseado, la eficacia bactericida se pudo demostrar ya que superó a los ≥ 13 mm según lo establecido por el CLSI.

Estos resultados fueron superiores a los hallados en el estudio de **Aguirre et al.⁷ (Perú, 2017)**, quienes encontraron una media de los halos de inhibición del aceite esencial al 100% en 10 mm, lo cual es inferior a lo que establece el CLSI respecto a la oxacilina, sin embargo, es necesario hacer hincapié que dicho estudio no fue de comparación con el medicamento en mención. A la vez, no menciona la procedencia de la planta en estudio, por lo que puede ser un factor fundamental en

el momento de la obtención de los metabolitos del *Cúrcuma Longa*, por las mismas condiciones ambientales en las que estuvo expuesta durante su crecimiento.

En la **tabla 1**, también se puede observar la eficacia bactericida del extracto etanólico del *Curcuma longa L*, evidenciándose que en la concentración de 100% , los halos de inhibición tuvieron una media de 27.90 mm (DS: \pm 3.143, IC 95%: 25.65 a 30.15, Rango: 21 a 33 mm) y en la concentración de 75%, la media de los halos de inhibición fueron de 16.90 mm (DS: \pm 1.449, IC 95 15.86 a 17.94, Rango: 14 a 19 mm). Estos resultados evidencian que ambas concentraciones efectivamente tienen actividad bactericida.

Así lo demuestra **Mego²⁰ (Perú, 2019)**, en su investigación cuya media para la concentración de 100% fue de 18.10 mm y para la concentración de 75% fue de 15.20 mm, usando la misma técnica de maceración para la extracción del extracto etanólico. En este estudio se menciona la procedencia de la planta, siendo Tingo María, sin embargo, al comparar, se observa que el presente estudio los halos de inhibición fueron mayores a los obtenidos por el autor en mención. Al igual que el estudio de **Deshmukh¹⁰ (India, 2014)**, su trabajo obtuvo una media de los halos de inhibición del extracto etanólico de 20 mm. Ambos autores concluyen que el extracto etanólico del *Curcuma longa*, tiene eficacia bactericida. La diferencia entre los resultados en esta investigación y de los autores en mención, puede ser por el lugar de procedencia y las condiciones necesarias para su crecimiento. ^{20, 22, 23}

En la tabla 1, los halos de inhibición de la oxacilina tuvieron una media de 30.10 mm (DS: \pm 0.738, IC 95 29.57 a 30.63, Rango: 29 a 31 mm). Sin embargo, es evidente que el aceite esencial es superior al medicamento en mención.

Estos resultados se basan en el mecanismo de acción como bactericidas, en el caso de la oxacilina su unión a la proteínas ligadas a penicilinas, conocidas como PBP, son usados en la transpeptidación de peptidoglucanos; es por ellos que se inhibe en la formación de la pared celular de la bacteria, provocándole lisis; en el caso del *Curcuma longa*, la eficacia reside en los curcuminoides, las cuales presentan grupos fenólicos en su estructura, causando daño en las membranas gram positivas, inactivando oxidasas y deshidrogenas, a la vez desnaturalizan a las proteínas de la membrana. ^{24,25}

En la **Tabla 2**, ANOVA, nos indica un p 0,000, siendo este altamente significativo, demostrando que hay diferencia entre los grupos, por lo tanto, las medias de los grupos no son iguales. Esto se interpreta que hipótesis alternativa es aceptada, indicando que, sí hay una eficacia bactericida de los aceites esenciales y los extractos etanólicos extraídos de los rizomas *Curcuma longa L.* frente al *S. aureus*, como agente infeccioso.

En el trabajo de **Pratap et al.¹² (India, 2011)**, encontraron la media de los halos de inhibición del aceite esencial en 17 mm y del extracto etanólico en 10 mm; con la primera se puede afirmar que, si tuvo eficacia bactericida, al igual de lo encontrado en el presente estudio, aunque el segundo resultado no superó para determinar su eficacia. Estas diferencias pueden ser debido a la manera de obtención del aceite esencial, Pratap usó el método de hidrodestilación para la obtención de los aceites esenciales, y posteriormente realizó la maceración adicionalmente con 600 ml de etanol al 95%. Mientras que el presente estudio utilizó la técnica de arrastre de vapor para la obtención de los aceites esenciales, y la técnica de maceración con etanol al 96%. Estas diferencias en las técnicas utilizadas, se evidencia en los resultados anteriormente mencionados.

La **tabla 3**, nos muestra comparaciones múltiples tras la prueba de Tukey, donde se evidencia que, si comparamos la concentración de media de los halos de inhibición, en el primer grupo del aceite esencial al 100% con los 04 grupos restantes, se observa que hay significancia estadística; el segundo grupo al comparar el aceite esencial al 75%, se observa significancia estadística con el aceite esencial al 100% y el extracto etanólico al 75%. Muy parecido a los resultados obtenidos en el trabajo de **Puelle⁴³ (Perú, 2018)**, quien utilizó el aceite esencial del tallo de *Curcuma longa L.*, encontrándose la media de los halos de inhibición a una concentración de 100% fue de 18.20 y la de 75% fue de 15.25 mm contra *S. aureus*. Ambas concentraciones mostraron eficacia bactericida, sin embargo, los resultados del presente estudio fueron superiores, esto es debido a que en el estudio de Puelle utilizó el tallo de Cúrcuma, mientras que en mi investigación se utilizó los rizomas. Esto es una posibilidad en las diferencias encontradas al comparar los resultados

Con los grupos restantes, también muestran significancias estadísticas, sin embargo, el grupo con mayor significancia es la del aceite esencial al 100%, afirmando que si existe eficacia bactericida. Los resultados demuestran sobre una nueva posibilidad como alternativa terapéutica, diferente a la de primera línea, en este contexto, la oxacilina.

VI. CONCLUSIONES

- El aceite esencial de *Cúrcuma longa L.*, a la concentración de 100% y 75%, demostraron eficacia bactericida contra *S. aureus*, siendo la concentración de 100% con mayor halo inhibitorio, llegando a superar a la oxacilina.
- El extracto etanólico del *Cúrcuma longa L.*, a concentración de 100% y 75%, demostraron También tener eficacia bactericida contra *S. aureus*, siendo la concentración de 100% con mayor halo inhibitorio, aunque ambas concentraciones no superaron a la oxacilina.
- La oxacilina, como control positivo, evidenció su eficacia bactericida frente a *S.aureus*.

VII. RECOMENDACIONES

- El aceite esencial *Cúrcuma longa*, por el método de arrastre de vapor, demostró ser igual de eficaz que la Oxacilina, por lo que podría nacer como una nueva alternativa para las infecciones por esta bacteria.
- Se recomienda realizar otro método de extracción del aceite esencial del *Cúrcuma longa*, para una mayor obtención de metabolitos y con ello obtener mayores halos de inhibición frente a otros antibióticos.
- Se recomienda complementar el estudio, realizando una sinergia con la oxacilina, para ver si se obtiene una eficacia superior a la demostrada en el estudio.
- Se recomienda, enfrentar al *Cúrcuma longa* a diferentes patógenos, para poder especificar su sensibilidad.
- Ejecutar investigaciones con animales en experimentación.

REFERENCIAS

1. Olaechea M, Luque P, J, Blanco, Insausti A. Epidemiology and impact of nosocomial infections. *Med Int (Esp)* 2010; 34 (4): 256-267. (Citado 24/07/19). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0210569109001673?via%3Dihub>
2. Lozano C, Benito D, Gomez E, Aspiroz C, Torrez Z, Zarazaga M. *Staphylococcus aureus* nasal carriage, virulence traits, antibiotic resistance mechanisms, and genetic lineages in healthy humans in Spain with detection of CC398 and CC97 strains. *Int J Med Microbiol (España)* 2011; 301 (4): 500-505. (Citado 24/05/19). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21570348>
3. Cervantes E, Salazar P, García R. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab (México D.F.)* 2014; 61 (1): 28-40. (Citado 24/05/19). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
4. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva: World Health Organization; 2014 (Citado el 24/07/19). Disponible en: <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>
5. Espinoza V, Muñoz F. Gérmenes bacterianos más frecuentes y su patrón de sensibilidades y resistencias en un Hospital Pediátrico de tercer nivel. [Tesis de postgrado]. Lima: UNMSM; 2011.
6. Ministerio de Salud. Informe de la resistencia antimicrobiana en bacterias de origen hospitalario. Lima: Ministerio de Salud; 2012. (Citado el 24/07/19). Disponible en: https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/informacion/INFORME_RESISTENCIA_ANTIMICROBIANA_2012.pdf
7. Aguirre W, Gutiérrez P. Determinación de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial extraído de la raíz del *Curcuma Longa L.* (cúrcuma) en *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Tesis de pregrado]. Trujillo: Biblioteca de farmacia y bioquímica, UNT; 2017. (Citado el 24/07/19). Disponible

en:

<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/5842/Aguirre%20Acevedo%20Yvan%20Willian%202017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

8. Rengifo L. Estudio preliminar etnofarmacológico en la comunidad nativa Bora de Brillo Nuevo, Distrito de Pevas, Loreto. Iquitos: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana; 2010. (Citado el 24/07/19). Disponible en: http://iiap.org.pe/Archivos/publicaciones/Publicacion_1587.pdf
9. Flores J. Efecto antimicrobiano in vitro del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Curcuma longa* sobre *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis de pregrado]. Trujillo: Dirección de sistemas y comunicaciones, UNT; 2017. (Citado el 24/07/19). Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/11260>
10. Deshmukh M. Investigation of antibacterial potential of Tumeric (*Curcuma longa*) on Enteric Patogens. IJAR (India) 2014; 4 (12): 556-558. (Citado: 10/10/2019). Disponible en: [https://www.worldwidejournals.com/indian-journal-of-applied-research-\(IJAR\)/file.php?val=December_2014_1418989169__173.pdf](https://www.worldwidejournals.com/indian-journal-of-applied-research-(IJAR)/file.php?val=December_2014_1418989169__173.pdf)
11. Chairman K. Vijilla R. Ranjit A. Jayamala M. Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Curcuma longa* Dye. General Med (India) 2015; 3 (2): 2-4. (Citado: 10/10/2019). Disponible en: <https://www.longdom.org/open-access/phytochemical-screening-and-antimicrobial-activity-of-curcuma-longa-natural-dye-2327-5146-1000171.pdf>
12. Pratap R. Jain A. Evaluation of Antimicrobial activity of Volatile Oil and total Curcuminoids extracted from Turmeric. Int.J. Chem Tech Res 2011; 3 (3): 1172-1178. (Citado el 06/08/19). Disponible en: [http://sphinxesai.com/Vol.3No.3/Chem/pdf/CT=26\(1172-1178\)JS11.pdf](http://sphinxesai.com/Vol.3No.3/Chem/pdf/CT=26(1172-1178)JS11.pdf)
13. Manzoor F, Aslam F, Jabeen S, Naz S, Ilyas S. Antibacterial activity of *Curcuma longa* varieties against different strains of bacteria. Pak. J. Bot 2010; 1 (42): 455 – 462. (Citado el 06/08/19). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/216321183_Antibacterial_activity_of_Curcuma_longa_varieties_against_different_strains_of_bacteria
14. Kongkathip N, Lawhavinit O, Kongkathip B. Antimicrobial Activity of Curcuminoids from *Curcuma longa* L on Pathogenic Bacteria of Shrimp and Chicken. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 2010; 1 (44): 364 – 371. (Citado el 06/08/19).

- Disponible en:
http://kasetsartjournal.ku.ac.th/kuj_files/2010/A1006240952405216.pdf
15. Pranay J, Pragma B, Dinesh B, Antibacterial activity of aqueous plant extracts against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. Drug Invention Today 2010; 2 (44): 220-222 (Citado el 06/08/19). Disponible en:
http://jprsolutions.info/article_detail.php?article_id=932
 16. Malo I. Evaluación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de Jengibre y Curcuma frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600. [Trabajo para obtener el título de ingeniería]. Cuenca: Repositorio institucional, Universidad Politécnica Salesiana; 2018. (Citado el 29/07/19). Disponible en:
<https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/15045>
 17. Méndez N, Contreras O, Angulo A. In vitro antibacterial activity of *Curcuma longa* (Zingiberaceae) against nosocomial bacteria in Montería, Colombia. Rev. biol. Trop (Colombia) 2016; 64 (3): 1201-1208. (Citado:14/08/2019). Disponible en:
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442016000301201&script=sci_abstract
 18. Torres E. Moreno R. Hermosilla R. Guillen Z. Tamayo Y. Estudio de la actividad antibacteriana del AE de los rizomas del *Curcuma Longa L.* Quimica Viva (Argentina) 2014; 13 (2): 123- 129. (Citado: 10/10/2019). Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/863/86331633006.pdf>
 19. Falco A, Rodríguez J, Sevillano E, Martínez W. Antimicrobial activity of ethanolic extracts of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and turmeric (*Curcuma longa*). Rev. Venez. Cienc. Tecnol. Aliment 2011; 2 (1): 85 - 93. (Citado el 29/07/19). Disponible en: <http://oaji.net/articles/2017/4924-1495327459.pdf>
 20. Mego W. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Cúrcuma longa L* sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, comparada con oxacilina, estudio in vitro [Tesis para obtener el título de médico cirujano]. Trujillo: UCV; 2019. (Citado el 14/08/19). Disponible en:
http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/35347/mego_tw.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 21. La Fuente K, Espinoza A. Efecto antimicrobiano, in vitro del extracto de *Curcuma longa L.* (palillo) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Escherichia coli*. [Tesis para título profesional Químico farmacéutico]. Arequipa:

- Repositorio de tesis, UCSM, 2017. (Citado el 29/07/19). Disponible en: <https://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/6315>
22. Navarro P, Velasco J. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcohólico de *Curcuma longa* (guisador), mediante el método de macrodilución frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. [Tesis para obtener el título de químico farmacéutico]. Iquitos: Repositorio Institucional Digital, UNAP; 2013. (Citado el 14/08/19). Disponible en: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/3662>
23. García C, Pacheco I, Benítez P, Cerezo O, Chávez B. Alternativa de Desarrollo Tecnológico para la recuperación de las fracciones extractables y caracterización de los componentes claves Curcumina y Cariofilino contenidos en el Rizoma de la Curcuma (*Curcuma longa*) para su agroindustrialización en Guatemala. Guatemala: Dirección general de Investigación, Universidad de San Marcos de Guatemala; 2001. (Citado el 14/08/19). Disponible en: <https://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/puidi/INF-2001-076.pdf>
24. Satyajit D. Bioactivity of Turmeric. En: Ravindran, P. Nirmal K. Sivaraman k. Turmeric: the genus *Curcuma*. New York: Taylor y Francis Group; 2007. 257-296 (Revisado 14/08/19). Disponible en: <http://www.alaalsayid.com/ebooks/Medicinal%20and%20Aromatic%20Plants%20-%20vol%2045%20-%20Turmeric-%20The%20Genus%20Curcuma.pdf>
25. García L, Sierra J, Padilla L, Olaya J. Biological activity of three curcuminoids from *Curcuma longa* L. (turmeric) grown in Quindío, Colombia. *Rev Cubana Plant Med (Quindio)* 2017; 22 (1) : 1-14. (Citado 14/08/19). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=76599>
26. Zendaja G, Soto M, Avalos H. General microbiology *Staphylococcus aureus*: Characteristics and methods of identifying pathogenicity. *Rev Biomed (Ciénega)* 2014; 25: 129-143. (Citado 14/08/19). Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>
27. Prats G. Bacteriología II. En: Prats G. Microbiología clínica. Madrid: Panamericana; 2006, p .34-69.
28. Granados R. Cocos aerobios y anaerobios facultativos. En; Granados R. Villaverde C. Microbiología. Bacteriología, características y clasificación

- bacteriana. Virología, características y técnicas bioquímicas. 1ed. Madrid: Parninfo S.A; 1997, p. 79-85.
29. Mensa J, Linares P, Soriano A, Montejo M, Barberán J, Salavert M. et al. Guidelines for antimicrobial treatment of the infection by *Staphylococcus aureus*. Rev Esp Quimioter (Barc) 2013; 26 (1): 1-84. (Citado 14/08/09). Disponible en: <https://seq.es/seq/0214-3429/26/sup/guia.pdf>
 30. UpToDate. Oxacilina: Drug information. UpToDate; 2019. (Citado 14/08/09). Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/oxacillin-drug-information>
 31. Sampieri H. Concepción o elección en el diseño de la investigación. En: Sampieri H, Baptista P, Fernández C. Metodología de la investigación. 6° Ed. México D.F.: McGraw Hill; 2016, p. 1520-1560.
 32. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement M100S. 19087 USA, 2016. (citado: 06/09/19). Disponible en: <http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
 33. García A, López C, Reding A. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. Inv Ed Med (México D.F.) 2013; 2(8): 217-224. (Citado el 27/09/19). Disponible en: http://riem.facmed.unam.mx/sites/all/archivos/V2Num04/07_MIE_CALCULO_DEL_TAMANO.PDF
 34. Peredo A, López A, Palou E. Aceites esenciales método de extracción. Temas selectos de ingeniería de alimentos. México: Departamento de Ingeniería Química y de Alimentos, Universidad de las Américas Puebla San Andrés Cholula; 2009, 3(1): 24- 32. (citado: 10/10/2019) Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)
 35. Servicio Nacional de Aprendizaje SENA. Introducción a la industria de los aceites esenciales de las plantas medicinales y aromáticas. Colombia: Servicio Nacional de Aprendizaje SENA. (citado: el 10/10/2019). Disponible en: https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/pdf/ACEITES%20ESENCIALES%20EXTRAIDOS%20DE%20PLANTAS%20MEDICINALES%20Y%20AROMATICAS.pdf

36. Infante A, Valera E, Sanabria E, Rodríguez A, Ulacio D, Efecto del tiempo y la temperatura de almacenamiento en la actividad de extractos etanólicos de *Lantana camara L.* y *Heliotropium indicum L.* sobre *Colletotrichum gloeosporioides*. *Acta Agron.* (Venezuela) 2015; 64(4): 363-367. (Citado: 10/10/2019). Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v64n4/v64n4a12.pdf>
37. Merck. Agar Muller Hinton. Ficha técnica. Lima: Merck. (citado: 10/10/2019). Disponible en: http://www.merckmillipore.com/PE/es/product/MUELLER-HINTON-agar,MDA_CHEM-105437#anchor_DS
38. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud; 2002. (Citado: 10/10/2019). Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
39. Malbrán C. Determinación de sensibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión: MIC testing. *Clinical and Laboratory Standard Institute* 2012; 32 (2). (citado: 10/10/2019). Disponible en: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>
40. Ministerio de Salud. Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre. Norma técnica N° 15. Lima: Dirección general de salud de las personas, MINSA; 2004. (Citado: 10/10/2019). Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>
41. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima: CMP; 2007. (citado: 10/10/2019). Disponible en: http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf
42. Obregon E. Análisis comparativo de la hidrodestilación con el arrastre a vapor para la extracción de aceites esenciales de la cascara de naranja. [Tesis de pregrado]. Huacho: UNJFSC; 2018. (Citado el 21/12/20). Disponible en: <http://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/UNJFSC/2088/OBREGON%20MARIANO%20EDWAR%20WILMAR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

43. Puelle F. Efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Ocimum Basilicum* y *Curcuma Longa* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923 comparado con Oxacilina. [Tesis de pregrado]. Trujillo: UCV; 2018. (Citado el 10/10/20). Disponible en: <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/25397>
44. Clapé O. Advances in the pharmacological and toxicological characterization of the herbal medicine *Curcuma longa* Linn. (Chile) 2012; 16(1): 97-114. Citado: 21/12/2020). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192012000100013
45. Paredes F. Roca J. Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. Revista offarm. 2004, 23 (3): 116-124. (Citado 14/08/09). Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-accion-los-antibioticos-perspectiva-medicacion-13059414>

ANEXOS
ANEXO 1:

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN
V.I: AGENTE BACTERICIDA	<p>Sustancias que producen la muerte de los microorganismos responsables del proceso infeccioso. ⁴⁵</p> <p>Agente antibacteriano no farmacológico: <i>Curcuma longa</i></p> <p>Agente antibacteriano farmacológico: Oxacilina.</p>	<p>Se consideran 06 grupos de experimentación:</p> <p>a. AE al 100%, 75%.</p> <p>b. EE al 100%, 75%.</p> <p>c. Oxacilina y suero fisiológico.</p>	<p>RGA</p> <p>RGB</p> <p>RGC</p> <p>RGD</p> <p>RGE</p> <p>RGF</p>	Cualitativo nominal
V.D: EFICACIA BACTERICIDA	<p>Es aquel que produce la muerte a un microorganismo, secundario a un agente bactericida. ⁴⁵</p>	<p>Según CLSI³²:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sensible: mayor o igual a 13 - Intermedio: 11 – 12 - Resistente: menor o igual a 10 	<p>-Eficaz: mayor o igual a 13</p> <p>- No eficaz: <13</p>	Cualitativo nominal

ANEXO 2:

TAMAÑO DE MUESTRA

Se estimará mediante la fórmula estadística ³³:

$$n = \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

$$N=6.39$$

Dónde:

$$Z_{\alpha} : 1,96$$

$$Z_{\beta}: 0,842$$

$$X_1: 13 \text{ mm. }^{41}$$

$$X_2: 18 \text{ mm }^{20}$$

$$\sigma: 3 \text{ mm}$$

**ANEXO 3:
INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

REPETICIONES	AE de C. longa		EE de C. longa		CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	100%	75%	100%	75%	Oxacilina 1ug	SSF
R-1						
R-2						
R-3						
R-4						
R-5						
R-6						
R-7						
R-8						
R-9						
R-10						

Firma y sello:

CBP: 6951


Jaime A. Polo Gamboa
 MICROBIOLOGO
 CBP 6951



Dra. Diana Guerra Díaz
 MÉDICO CIRUJANO
 CMP. 75963


 REGIÓN LA LIBERTAD
 GERENCIA REGIONAL DE SALUD
 U.E. 412 SALUD VIDA
Diana Flór Aredo Gaitán
 MÉDICO AUDITOR
 CMP 69999 RNE: A64789

ANEXO 4:

FICHA DE EVALUACIÓN INSTRUMENTO POR EXPERTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO <i>(Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)</i>		CONSTRUCTO <i>(Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)</i>		RELEVANCIA <i>(El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)</i>		COHERENCIA INTERNA <i>(El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)</i>		CLARIDAD <i>(El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)</i>		SUFICIENCIA <i>(Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)</i>	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	x		x		x		x		x		x	
2	x		x		x		x		x		x	
3	x		x		x		x		x		x	
4	x		x		x		x		x		x	
5	x		x		x		x		x		x	

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES			SI	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos			x		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación			x		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial			x		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir			x		
VALIDEZ					
APLICABLE	x	NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN	

Validado por:


Fecha: 30/05/2020

Firma y sello:

CBP: 6951


Jaime A. Polo Gamboa
 MICROBIÓLOGO
 CBP 6951


 Dra. Diana Guerra Díaz
 MÉDICO CIRUJANO
 CMP. 75963


 REGIÓN LA LIBERTAD
 GERENCIA REGIONAL DE SALUD
 U.E. 412 SALUD VHAU
 Diana Flór Aredo Gaitán
 MÉDICO AUDITOR
 CMP. 69899 RNE. A84789

**ANEXO 5:
IDENTIFICACIÓN DEL RIZOMA**



ANEXO 6:
OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Curcuma longa* ^{34, 35}

Los rizomas de la planta en estudio, se obtendrá de la provincia de Jaen, Departamento de Cajamarca. Aproximadamente serán unos 5 kg, posteriormente será llevado a los laboratorios de la UCV, para su respectiva selección con buenas condiciones. Los rizomas seleccionados se lavarán con agua clorada al 0.1% y posteriormente con agua destilada.

Los rizomas seleccionados deben ser cortados en trozos pequeños y se pesa 2 kg, para posteriormente colocarlos en una vasija con agua destilada, para calentarla hasta su punto de ebullición por dos o tres horas aproximadamente, repetir el procedimiento hasta la cantidad deseada.

Tras el proceso de condensación, vamos a obtener dos fases, tanto aceite esencial como agua, posteriormente se debe separar dicha mezcla. Deshidratar las impurezas con Na_2SO_4 anhidro, proceder a filtrar y reservar en un frasco, el cual debe ser color ámbar, así se evita la desnaturalización de los aceites, refrigerar a temperatura de 4°C.

ANEXO 7:
OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL *Curcuma longa L* ³⁶

Posterior a la limpieza y desinfección con agua clorada 0.1% de los rizomas seleccionados (en buenas condiciones), se procede a cortar en pequeños trozos, se procede a deshidratar por 48 horas con la estufa a 40°.

Por cada 20 g de rizomas deshidratados se colocará 100 ml de etanol al 96%., obteniéndose un total de 3 litros. Se dejará macerar a la oscuridad y con el frasco abierto.

El primer filtrado se realizará con doble gasa estéril, posteriormente en papel filtro Whatman n° 41, el producto final irá a la estufa a 45° por cuatro horas, para evaporar, obteniéndose la décima razón del EE de *C. longa L* a una concentración de 100%. Mantener enfriado entre 6 ° y 8° C.

ANEXO 8:
PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO^{41,42}

El agar Muller Hinton, considerado por la CLSI para el uso de forma rutinaria de antibiogramas en medios sólidos por sus componentes que favorecen al crecimiento de muchas bacterias.

En un matraz de Erlenmeyer 8 se colocará 800 ml de agua destilada y 52 g de agar M-H (marca Merk). Proceder a esterilizar por 15 minutos en autoclave a 121°. En cada Placa Petri (estériles y de plásticos desechable), colocar aproximadamente de 18 a 20 ml, dejar reposar para su solidificación completa.

ANEXO 9:
**PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR EL MÉTODO DE DISCO
DIFUSIÓN^{42,43}**

El método a utilizar será Kirby-Bauer de disco difusión en agar, considerándose los criterios del CLSI, tomándose en consideración los estándares M02- A12 y M100.

- *PREPARAR EL INÓCULO*

Colocar 3-4 ml de SSF en un tubo cilíndrico de cristal previamente esterilizado, adicionándose una proporción del microorganismo *Staphylococcus aureus*, previamente cultivado entre un rango de 18 a 20 horas. Se deberá observar una turbidez según escala de Mc Farland equivalente al tubo de 0,5.

- *SEMBRAR LAS CEPAS DE S. aureus*

La siembra se realizará por estrías en la superficie, con la ayuda de un hisopillo previamente empapado con el inóculo, el medio de cultivo ya dispuesto se deslizará sobre el área de las determinadas placas Petri

- *PREPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN AL 75% DEL ACEITE ESENCIAL (AE)*

Para la preparación de 75%, previamente rotular un tubo de ensayo estéril (13x100 mm), proceder a colocar 750 µL de AE y 250 µL de Dimetil Sulfóxido (DMSO).

- *PREPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN AL 75% DEL EXTRACTO ETANÓLICO (EE)*

Para la preparación de 75%, previamente rotular un tubo de ensayo estéril (13x100 mm), proceder a colocar 750 µL de EE y 250 µL de Dimetil Sulfóxido (DMSO).

- *PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD CON AE*

A partir de las concentraciones de 100% y 75% de los AE, se colocará 10 µL de dichas preparaciones en cada disco de papel filtro Whatman N° 1, con aproximadamente 6mm de diámetro (previamente estéril). Repetir el proceso 10 veces.

- *PREPARACIÓN DE LOS DISCOS DE SENSIBILIDAD CON EE*

A partir de las concentraciones de 100% y 75% de los EE, se colocará 10 µL de dichas preparaciones en cada disco de papel filtro Whatman N° 1, de aproximadamente 6mm de diámetro (previamente estéril). Repetir el proceso 10 veces.

- *COMPROBACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO*

Se ayudará con una tenaza metálica previamente estéril para tomar los discos de sensibilidad que ya deben estar preparados, tanto de ambas concentraciones, y colocarlos sobre el área del agar previamente inoculado con *S. aureus*. Los discos deberán quedar a 1 cm del borde la Placa Petri y de igual distancia. Colocar en otra placa, el disco tanto de la Oxacilina (control positivo) como el suero fisiológico (control negativo). Se dejará reposar por 15 min y posteriormente incubar en la estufa a temperatura entre 35°- 37° C por un tiempo de 18 a 20 horas.

- *LECTURA E INTERPRETACIÓN*

Se medirá el en mm la zona de inhibición con una regla Vernier, tanto a los preparados de AE y EE del Curcuma longa, Oxacilina y suero fisiológico. Según el Estándar M100 del CLSI, se procederá a interpretar como sensible o resistente.

ANEXO 10
FOTOS DEL PROCEDIMIENTO



Secado de los rizomas del *Curcuma longa* L.



Preparación de los materiales.



Obtención de aceites esenciales.



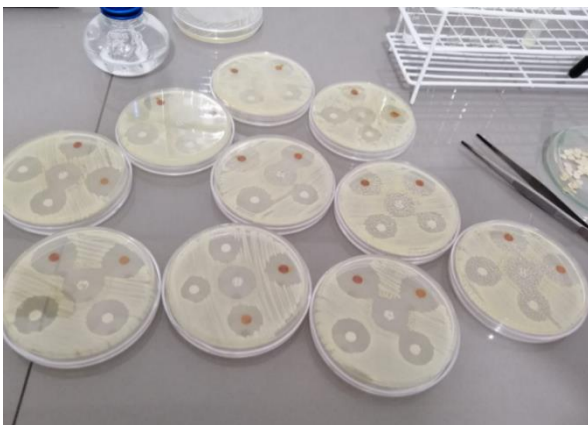
Obtención del extracto etanólico.



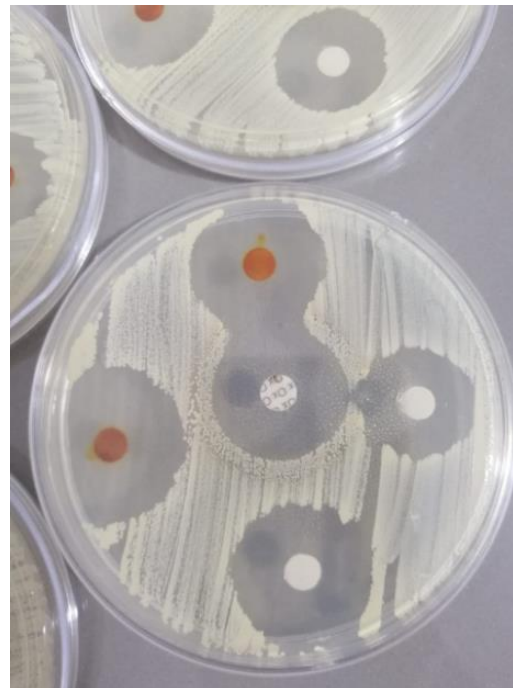
Inoculación de las placas.



Preparación de los aceites esenciales y extractos etanólicos.



Obtención de los grupos de grupos de estudio.



Medición de los halos de inhibición.