



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE
CHIMBOTE

FILIAL TRUJILLO

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL ACEITE
ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Schinus molle L.* (MOLLE)
FRENTE A CULTIVOS DE *Staphylococcus aureus.***

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR:

Bach. ENRIQUE EMANUEL REQUEJO QUISPE

ASESOR:

Mgtr. CÉSAR ALFREDO LEAL VERA

TRUJILLO - PERÚ

2018

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Miembro

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Docente Tutor Investigado

AGRADECIMIENTO

Con estas cortas palabras quiero agradecer a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y brindarme felicidad.

Agradecer a mis padres Enrique e Ida Luz por apoyarme en cada momento, formarme con buenos valores, darme la oportunidad de tener una buena educación y motivarme a ser mejor cada día.

A mi hermana Thania por ser parte importante de mi vida y motivarme día a día a obtener nuevos conocimientos y el esfuerzo que realiza a cada momento y sobre todo por llenar mi vida de alegría.

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor incondicional.

“Acepta los riesgos, toda la vida no es sino una oportunidad. El hombre que llega más lejos es, generalmente, el que quiere y se atreve a serlo. - Dale Carnegie”.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación fue de tipo cuantitativo transversal con diseño experimental. Se realizó con el propósito de buscar alternativas de actividad antibacteriana in vitro de *Schinus molle* (Molle) frente a *Staphylococcus aureus*, El aceite esencial fue extraído de hojas frescas utilizando el método de hidrodestilación, para la recolección de datos se distribuyeron en grupos de 5 placas: negativo, estándar farmacológico, Experimental N°1 (aceite esencial de *S. molle* al 50%), Experimental N°2 (aceite esencial de *S. molle* al 75%). En la tabla 01 se muestran los promedios por grupo de experimentación, se observó que el grupo blanco mostró halos de 6mm que corresponde al diámetro del disco es decir que no existió inhibición bacteriana, este grupo demuestra que el solvente DMSO a la concentración utilizada no tiene actividad antibacteriana frente a *S. aureus*. En el grupo 2 - estándar farmacológico Doxiciclina en sensidiscos (25ug/disco) los halos de inhibición fueron en promedio de 28.3 ± 0.47 mm valor que se encuentra dentro de lo reportado por la Sociedad Española de quimioterapia para *S. aureus*. Los halos de inhibición para los grupos experimentales N°1 (aceite esencial de *S. molle* al 50%) fue en promedio 31.0 ± 3.07 mm y el Experimental N°2 (aceite esencial de *S. molle* al 75%) fue de 25.1 ± 0.98 mm en promedio. Se concluye que el aceite esencial de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) posee actividad antibacteriana in vitro frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: Aceite esencial, Antibacteriano, Doxiciclina, *Staphylococcus aureus*, *Schinus molle* L.,

ABSTRACT

The present research work was of a transverse quantitative type with experimental design. The essential oil was extracted from fresh leaves using the hydrodistillation method, for data collection were distributed in groups of 5 plates: negative, pharmacological standard, Experimental N°1 (essential oil of *S. molle* at 50%), Experimental N°2 (essential oil of *S. molle* at 75%). Table 01 shows the averages by experimental group, it was observed that the white group showed halos of 6mm that corresponds to the diameter of the disc i.e. there was no bacterial inhibition, this group shows that the DMSO solvent at the concentration used has no antibacterial activity against *S. aureus*. In group 2 - standard pharmacological Doxycycline in sensidiscs (25ug/disc) the halos of inhibition were in average of 28.3 ± 0.47 mm value that is inside that reported by the Spanish Society of chemotherapy for *S. aureus*. The halos of inhibition for the experimental groups N°1 (essential oil of *S. molle* to 50%) was in average 31.0 ± 3.07 mm and the Experimental N°2 (essential oil of *S. molle* to 75%) was of 25.1 ± 0.98 mm in average. It is concluded that the essential oil of the leaves of *Schinus molle* L. (Molle) has antibacterial activity in vitro against *Staphylococcus aureus* cultures.

Keywords: Essential oil, Antibacterial, Doxycycline, *Staphylococcus aureus*, *Schinus molle* L.,

CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	01
II. REVISIÓN DE LITERATURA	08
2.1 Antecedentes.....	08
2.2 Bases teóricas.....	11
III. HIPOTESIS	17
IV. METODOLOGÍA	18
4.1 Diseño de la investigación.....	18
4.2 Población y Muestra.....	19
4.3 Definición y Operacionalización de variables.....	19
4.4 Técnicas e instrumentos.....	20
4.5 Plan de análisis.....	21
4.6 Matriz de consistencia.....	24
4.7 Principios éticos.....	25
V. RESULTADOS	26
5.1 Resultados.....	26
5.2 Análisis de resultados.....	27
VI. CONCLUSIONES Y ASPECTOS COMPLEMENTARIOS	29
6.1 Conclusiones.....	29
6.2 Recomendaciones.....	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
ANEXOS	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Actividad bacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) frente a cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> a 24 horas.....	26
Tabla 2	Prueba de Chapiro – Wilks para determinar la normalidad de los grupos de estudio.....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:	Determinación taxonómica de la planta <i>Schinus Molle</i> , realizada en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo.....	36
Figura 2:	Preparación de hojas para la extracción del aceite esencial por hidrodestilación.....	37
Figura 3:	Extracción de aceites esenciales de la planta <i>Schinus molle</i> realizada por hidrodestilación mediante el equipo de Clevenger.....	38
Figura 4:	Preparación de materiales para realización de sembrados de cepas de <i>S. aureus</i>	39
Figura 5:	Cultivo de <i>S. aureus</i> utilizado.....	39
Figura 6:	Siembra de la muestra de <i>S. aureus</i> y aplicación de discos del fármaco doxiciclina.....	40
Figura 7:	Preparación del aceite esencial <i>Schinus molle</i> en porcentajes de 50 y 75%.....	40
Figura 8:	Incubación de las placas con el sembrado inmediatamente a una temperatura 35°C – 37°C.....	41
Figura 9:	Medición de los halos formados por el grupo estándar y el aceite esencial al 50 y 75%.....	41
Figura 10:	Lectura y medida de los halos de inhibición de cada una de las placas.....	42

I. INTRODUCCIÓN:

Uno de los problemas más frecuentes en la comunidad son las patologías en relación con las infecciones, siendo estas las responsables de la mayoría de internamientos hospitalarios o del alargamiento de los periodos de permanencia por complicaciones, pero esta situación mejoro con la aparición de los antibacterianos. Estos han colaborado salvaguardando la salud y han contribuido con la medicina y las intervenciones quirúrgicas aumentando las probabilidades de supervivencia frente a patologías infecciosas ^(1,2).

En la actualidad, el problema de la resistencia a los medicamentos en patógenos humanos y animales plantea un grave desafío tanto para los países desarrollados como para los países en desarrollo. El consumo de más de una tonelada diaria de antibióticos en algunos países europeos ha resultado en la resistencia de las poblaciones bacterianas, lo que causa un grave problema de salud pública y se convierte en una de las principales causas de fracaso en el tratamiento de enfermedades infecciosas ⁽³⁾.

La aparición de infecciones resistentes a los antibióticos continúa afectando a la atención médica global, mientras tanto, se ha producido una disminución igualmente alarmante en la investigación y el desarrollo de nuevos antibióticos para hacer frente a la amenaza. Mientras tanto, las bacterias continúan haciéndose más resistentes, el suministro de antibióticos continúa disminuyendo y la mayoría de personas sigue sin darse cuenta de esta situación crítica. El resultado de una vigilancia, prevención y control insuficientes; actividades de investigación y desarrollo escasas; regulación inadecuada de los antibióticos en la agricultura y, en particular, para los animales de alimentación podría significar un retorno literal a la era preantibiótica para muchos tipos de infecciones ⁽⁴⁾.

El termino infección explica la presencia y proliferación de microorganismos en el cuerpo que pueden llevar a un estado patológico y es responsable de la aparición de un cuadro

clínico que puede poner incluso en peligro la vida del paciente. Existe una necesidad urgente de una correcta selección y uso apropiado de medicamentos antimicrobianos en los países desarrollados como los que se encuentran en vías de desarrollo ^(1,2,3).

Las bacterias del género *Staphylococcus* son una causa prominente de infecciones agudas y crónicas, *Staphylococcus aureus* es una bacteria que mediante lesiones cutáneas, traumáticas o quirúrgicas estas se benefician para poder penetrar a la piel y tejido profundos, produciendo supuraciones y abscesos. Por su amplia variabilidad pueden producir diferentes enfermedades de amplio espectro como infecciones invasoras complicadas como de la piel ^(2,4,6).

Staphylococcus aureus es un microorganismo patógeno en constante evolución, su patogenicidad se le debe a la rápida adaptación al medio donde se establece, así como a su sobrevivencia a los antibacterianos. Puesto que las cepas de *Staphylococcus aureus* continuamente colonizan la piel humana, son tratadas con todas las terapias de antibióticos. La capacidad para establecer biopelículas (biofilm) se ha relacionado con la persistencia de las infecciones crónicas, las biopelículas se pueden definir como conjuntos sésiles de células adheridas a la superficie encapsuladas en una matriz extracelular, y el tratamiento de las bacterias en este modo de crecimiento es desafiante debido a la resistencia de las estructuras del biofilm tanto a los antimicrobianos como a las defensas del huésped ^(7,8)

Aparecen entonces los microorganismos resistentes, las cuales son cepas de que se pueden expandir muy rápidamente en la población como una amenaza mundial los *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), (que son los resistentes a los antibióticos de primera línea como la ampicilina y penicilina). Y los *S. aureus* resistentes a la vancomicina (VRSA). En la cual los tratamientos para las infecciones por *S. aureus* se ven limitadas por la resistencia múltiple que hay cada en día ⁽⁹⁾.

La búsqueda de métodos naturales que son menos agresivos para los humanos ha aumentado considerablemente en los últimos años. Las plantas medicinales han sido un importante recurso terapéutico desde los albores del tiempo. La medicina herbal está creciendo, especialmente en los últimos años, sin embargo, a pesar del aumento de los estudios en esta área, los datos disponibles muestran que solo el 15 a 17% de las plantas fueron estudiadas por su potencial medicinal ⁽⁴⁾.

La Organización Mundial de la Salud ha recomendado la certificación científica y el uso popular de plantas medicinales en el tratamiento de varias enfermedades y como material de partida para el descubrimiento de nuevos fármacos. Esto incluye el desarrollo de drogas sintéticas y semisintéticas basadas en metabolitos de plantas, animales y microorganismos que exhiben alguna actividad biológica ⁽⁵⁾

La medicina natural es utilizada comúnmente por su confiabilidad relacionada con el empirismo, donde surgen consecuentemente los fitofármacos, que son utilizados para optimizar la calidad de vida del paciente a bajos costos en comparación con los medicamentos sintéticos, así como su toxicidad que ejerce sobre el cuerpo humano al administrarse, estos beneficios han captado la atención de grandes centros de estudios e investigación de todo el mundo ⁽⁶⁾.

La continua investigación de nuevas alternativas para el tratamiento de infecciones bacterianas, lleva a mirar a la botánica ya que gracias a la estructura química singular y la actividad biológica diversa que caracteriza a los constituyentes de los productos naturales, abre nuevos campos de exploración en los aspectos químico- farmacológico, farmacocinética y clínico ^(6,7).

Las plantas medicinales han sido utilizadas por el hombre, siempre ha tratado de encontrar su curación en los recursos que le ofrece la naturaleza para el alivio o curación de enfermedades; por eso el uso de plantas medicinales procede de épocas muy remotas

en toda la historia de la humanidad, para ser usados como remedios curativos y así solucionar desordenes del organismo humano ⁽⁸⁾.

Cada día son más las personas interesadas en el abandono de los productos obtenidos a través de la manipulación química y buscan remedios únicamente naturales. Esta situación ha surgido en parte debido al mayor contacto que tiene la población con la naturaleza de hecho que las plantas han sido en todas las épocas un patrimonio muy importante utilizado por el hombre tanto a modo de alimento, como curativo o incluso se le ha dado un uso cosmético. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas utilizadas son el origen del crecimiento de la medicina actual, en regiones agrestes o nativas constituyen el único recurso organizado ante la carencia de establecimientos médicos y requerimiento económico para la compra de medicina actual ⁽⁶⁾.

Hoy en día en muchos países se ha incrementado las formas de curación tradicional o indígena que son arraigadas de sus culturas, por lo cual muchas personas en todo el mundo la usan como alternativa terapéutica, según la OMS existen 3 razones por la que se elige dicha alternativa, la limitación de la disponibilidad de los servicios de salud en países en vías de desarrollo, la influencia cultural de cada país y la utilización de medicina natural como terapia complementaria. La OMS destaca que, de los 119 fármacos derivados de las plantas, alrededor de 74% se usan en la medicina moderna ⁽⁷⁾.

Desde la época del Incanato hasta la actualidad en nuestro país encontramos una riqueza y mega diversidad de plantas nativas, siendo consideradas pilares de la etnofarmacología y la medicina tradicional; Asimismo cabe resaltar que también son utilizadas de una forma empírica por sus bondades terapéuticas en el cuidado y restauración de la salud. Dentro de este contexto, encontramos a los aceites esenciales los cuáles son productos naturales

de gran valor e importancia económica hoy en día, utilizados como materias primas en áreas tales como: perfumería, aromaterapia, fitoterapia, especias y nutrición ^(3.4).

La medicina natural es utilizada comúnmente por su confiabilidad relacionada con el empirismo, donde surgen consecuentemente los fitofármacos, que son empleados para mejorar la calidad de vida del paciente y a bajos costos en comparación con los medicamentos sintéticos, así como su toxicidad que ejerce sobre el cuerpo humano al administrarse, estos beneficios han captado la atención de grandes universidades y centros de investigación de todo el mundo ^(3.4).

La resistencia bacteriana es de gran importancia mundial debido a que obtienen rápidamente mutaciones frente a diferentes grupos de antibióticos y actualmente son reportados varios brotes de *S. aureus*, esta bacteria es oportunista responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel y tejidos blandos hasta infecciones graves que amenazan con la vida, por lo que se busca de diferentes maneras llegar a la resolución del problema mediante el empleo de plantas que presenten algún efecto inhibitorio u/o antibacteriano frente a este microorganismo, es por ello que se plantea que el aceite esencial de molle presenta algún metabolito con actividad sobre *S. aureus* ⁽⁴⁾.

Los aceites esenciales son el producto final del metabolismo secundario de las plantas aromáticas. Están constituidos por terpenos con actividad y composición variada; después de la extracción generalmente son líquidos y rara vez sólidos o pastosos ⁽⁵⁾. Por ello el presente trabajo aporta información necesaria con el fin de ayudar a conocer algunas de las bondades de la flora de la riqueza de nuestro país ^(5.6).

El interés de esta investigación yace en la potencial importancia comercial de compuestos químicos producidos por el molle, algunos de los cuales tienen actividad biológica y posibles usos medicinales. Conocer su actividad antibacteriana contribuirá al desarrollo futuro de adecuados métodos para la obtención de sustancias de interés. Actualmente en el campo referente, de los cuales se obtiene un aceite alta calidad, siendo estos procesos una vía más accesible para las personas interesadas en producir este tipo de aceites, debido a su practicidad y a la carencia de equipos complicados y relativamente costosos^(7.8).

Por todo lo expuesto en la realidad problemática y no existiendo información sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial *Schinus molle L. (Molle)* frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*, se plantea la siguiente interrogante:

¿Presentará actividad antibacteriana in vitro el aceite esencial de las hojas de *Schinus molle L. (Molle)* frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*?

Los objetivos de la investigación fueron:

Objetivo general:

- Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Schinus molle L.* (Molle) frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*

Objetivos específicos:

1. Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Schinus molle L.* (Molle) a concentraciones de 50% y 75%.
2. Comparar la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Schinus molle L.* (Molle) a 50% y 75% frente a un medicamento estándar de referencia (Doxiciclina).

II. REVISIÓN DE LITERATURA:

2.1. Antecedentes

Al-Zubiri et Al., Yemen. 2017, en el trabajo sobre Las actividades antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes del aceite esencial de diferentes plantas aromáticas. Los aceites esenciales obtenidos se cribaron contra dos bacterias gramnegativas, bacterias gram-positivas, y contra tres especies de hongos (*Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporium*, y *Candida albicans*). La mayoría de estos aceites han demostrado importantes efectos antibacterianos y antifúngicos contra las cepas evaluadas. Algunos son prometedores como fuentes de antioxidantes naturales y agentes antimicrobianos en cosméticos y aplicaciones farmacéuticas ⁽⁹⁾.

Espinoza Pantigozo, I.. Trujillo. 2016, en su estudio sobre el efecto comparativo de aceite esencial y extracto acuoso de hojas de *Schinus molle* L. “molle” sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea*. determinó el efecto comparativo de aceite esencial y extracto acuoso de hojas de *Schinus molle* “molle” sobre el crecimiento de *B. cinerea*. Se recolectaron hojas de *S. molle*. Se obtuvo el aceite esencial por el método de destilación de arrastre por vapor de agua, y el extracto acuoso al 10%; a partir de los cuales se aplicaron tratamientos al: 0 %, 3 %, 7 % y 15 %, en medio agar papa dextrosa (APD) con cinco unidades muestrales ⁽¹⁰⁾.

Los medios inoculados con *B. cinerea* por punción central se colocaron a ($23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), posteriormente se evaluó diariamente el halo de crecimiento micelial, y a los 10 días el efecto comparativo de aceite esencial y extracto acuoso de hojas de *S. molle* fue mayor en el tratamiento del 15%, con un porcentaje de inhibición mayor del 91.0% y menor del 71.0%, con promedios del diámetro de crecimiento de 7.4 mm y 24.8 mm. Se concluye

que el aceite esencial de *S. molle* genera mayor efecto en comparación al extracto acuoso sobre el crecimiento de *B. cinérea* ⁽¹⁰⁾.

Rivadeneira Cajas Daysi, et Al. Ecuador – 2015, estudiaron el Aceite esencial de *Schinus molle* L. (molle) como potencial antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans* como sustancia natural comparada con el gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) (ATCC 25175). Obtuvieron que, las concentraciones, además del residuo del aceite de *S. molle*, provocaron efecto antimicrobiano frente a la cepa de *S. mutans* (ATCC 25175), con valores de significancia ($p > 0,05$) y de la comparación, el gluconato de clorhexidina al 0,12% produjo mayor inhibición, pero disminuyó parcialmente su efecto a las 72 h, mientras que las concentraciones al 100 y 50% potencializaron su efecto en un 0,8% a las 72 h. Existió un potencial efecto antimicrobiano del aceite esencial de *S. molle* sobre la cepa bacteriana y en cuanto al gluconato de clorhexidina, fue cualitativamente similar al aceite ⁽¹¹⁾.

Rosario et al., Portugal. 2014, en el estudio sobre las Propiedades antioxidantes, antimicrobianas y toxicológicas de los aceites esenciales de *Schinus molle* L. Las propiedades antimicrobianas se evaluaron mediante el método de difusión en disco de agar y el ensayo de concentración inhibidora mínima. Los compuestos dominantes encontrados en aceites esenciales de hojas y frutas (EO) fueron hidrocarburos monoterpenos, a saber, α -felandreno, β -felandreno, β -mirceno, limoneno y α -pineno. Se observó actividad antimicrobiana de EOs para Gram +, bacterias Gram-patógenas y hongos que descomponen los alimentos. Los EO mostraron toxicidad para *Artemia salina* y menor toxicidad en ratones suizos. El resultado mostró que los EO de hojas y frutos de *Schinus molle* demostraron propiedades antioxidantes y antimicrobianas ⁽¹²⁾.

Cedamano Gutiérrez et AL. Trujillo - 2014, efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Shinus molle* L. “molle” sobre el *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Compararon el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Shinus molle* L. “molle” sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Realizaron 32 repeticiones de prueba de sensibilidad a antimicrobianos por dilución (concentración mínima inhibitoria) y difusión (susceptibilidad bacteriana) del aceite esencial a concentraciones 0, 25, 50, 75 y 100%, y al grupo control (Bencilpenicilina procaínica 1000000 UI). Obteniendo como resultados que la concentración mínima inhibitoria fue 25% y sin diferencia significativa entre 25, 50, 75 y 100%; no se observaron halos de inhibición en la susceptibilidad bacteriana con la técnica de Kirby y Bauer; las concentraciones tuvieron efecto inhibitorio positivo sobre *Streptococcus mutans*. Concluyeron que la concentración mínima inhibitoria es 25%; con la técnica de Kirby y Bauer. ⁽¹³⁾.

Martíns María et Al. Portugal – 2014; en su estudio sobre las Propiedades antioxidantes, antimicrobianas y toxicológicas de los aceites esenciales de *Schinus molle* L. evaluó las actividades antioxidantes y antimicrobianas de los aceites esenciales de hojas y frutas de *Schinus molle*, correlacionadas con su composición química y evaluar su toxicidad aguda. Las propiedades antimicrobianas se evaluaron mediante el método de difusión en disco de agar y el ensayo de concentración inhibitoria mínima. Los compuestos dominantes encontrados en aceites esenciales de hojas y frutas (EO) fueron hidrocarburos monoterpenos, a saber, α -felandreno, β -felandreno, β -mirceno, limoneno y α -pineno. Se observó actividad antimicrobiana de EOs para Gram +, bacterias Gram-patógenas y hongos que descomponen los alimentos. El resultado mostró que los EO de hojas y frutos de *Schinus molle* demostraron propiedades antioxidantes y antimicrobianas, lo que sugiere su uso potencial en la industria alimentaria o farmacéutica ⁽¹⁴⁾.

2.2.Bases teóricas de la investigación:

Fitoterapia:

La fitoterapia conlleva a recopilar datos históricos sobre los efectos curativos de diversas plantas y conducirlas a investigaciones científicas con el propósito de establecer seguridad de acuerdo con la tecnología para la búsqueda de nuevos principios activos, de acuerdo a ello se ha logrado seleccionar vegetales con específicas acciones curativas, descartando diversas plantas que llegarían a ser tóxicas, la cual muchas de ellas solo se han basado en creencias tanto en su efecto terapéutico como también en efectos no terapéuticos, debido a que se desconocen los componentes de cada especie vegetal como los procesos bioquímicos que se producen en organismo al consumirlos ⁽²⁾.

Plantas medicinales:

Las plantas medicinales, son aquellos que en una o diferentes partes de la misma es compuestos activos llamados “principios activos”, componente que por procesos diversos presenta actividad farmacológica, y que mediante diferentes procesos se obtiene formas galénicas para ser administradas a la población ⁽³⁾.

Principio activo:

Es aquel componente o sustancia química, ya sea de origen natural o sintético, con propiedades para ejercer una actividad farmacológica. Pueden ser administrados según dosis, concentraciones para alguna patología específica ⁽¹⁵⁾.

Extracto vegetal:

Un extracto vegetal, es un concentrado de origen natural, adquiridos por tratamiento apropiados de una planta para asegurar la estabilidad de sus componentes de interés ⁽¹⁶⁾.

Aceites esenciales

Los aceites esenciales son sustancias volátiles que usualmente tienen olores agradables y se encuentran en prácticamente todos los tejidos vivos de las plantas y generalmente se extraen por hidrodestilación. Estos aceites juegan un papel importante en la protección contra los microorganismos y están sujetos a la supervivencia de las plantas debido a sus diferentes funciones. Los estudios estiman que aproximadamente el 60% de la OE tiene actividad antifúngica y el 35% tiene actividad antibacteriana y son activos contra virus y protozoos. Consisten en una mezcla de hidrocarburos (terpenos) y compuestos oxigenados derivados de una unidad isopénica, que a su vez se origina a partir de ácido mevalónico o fenilpropanoides, derivados del ácido shikímico ⁽¹²⁾.

***Schinus molle* L.**

Descripción Botánica:

Es un árbol que mide entre 10 y 12 m. de alto. El tronco tiene un diámetro de 1.5 m. en la base, y es muy ramificado en la parte superior. Su corteza es de color café claro, ligeramente grisáceo, y su textura es un tanto áspera y agrietada. El follaje es perenne, denso y tiene ramas colgantes. Las hojas son compuestas, lanceoladas, de márgenes lisos o aserrados, muy aromáticas y miden de 1,5 a 4 cm de largo. Sus flores son pequeñas, hermafroditas o unisexuales, y están dispuestas en panículas alargadas. Los frutos tienen un color rojizo muy llamativo, están agrupados en racimos, poseen un mesocarpio de sabor dulce y contienen con una semilla. Las semillas poseen un color negruzco, de textura rugosa, forma redondeada y su tamaño varía entre los 3 y 5 mm de diámetro ⁽¹⁵⁾.

Taxonomía ⁽¹⁴⁾

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Sapindales

Familia: Anacardiaceae

Género: Schinus

Especie: molle

Hábitat:

Árbol originario de Perú. A finales del siglo XVII, se introdujo en California. Debido a la descripción realizada por botánicos de aquel siglo; se cree que llegó simultáneamente a Europa. En la actualidad existe en todo el trópico, en el Mediterráneo, África y la India. Molle, es un árbol llorón, perennifolio y de rápido crecimiento, se encuentra en estado natural en los Andes entre 1.500 y 2.000 m de altitud; en México, Chile, el sureste del Brasil, Uruguay, Ecuador y Colombia se cultiva como ornamental ⁽¹⁴⁾.

Composición química:

Contienen flavonoides como: quercetina, rutina, quercetina e isoquercetina, triterpenos, antocianidinas, β -sitosterol, taninos, ácido gálico, ácido protocatéquico, glucosa, fructosa, aceites esenciales (0,5%). Ácido linolénico, linoleíco, lignocérico, y esteárico. En la Corteza y semillas encontramos ácido esteárico. En los frutos se encuentran aceites esenciales (2,4%); α -bergamontranseno, bourboneno, α y δ -canadineno, α y δ -calacoreno, calameneno, canfeno, carvacrol, β -cariofileno, γ -copaenocroweacina, γ -cubebeno, p-cimeno, butirato de geraniol, hexanoato de nerol, α y β -felandreno, α y β -pineno, α -terpineol, γ -terpineno, α y γ -muroleno, etc. Además: cianidina-3-galactósido, cianidina-3-rutinósido y peonidina-3-glucósido ⁽¹⁶⁾.

El aceite esencial de molle contiene principios activos como: 1) monoterpenos, 2) triterpenos, 3) sesquiterpenos, 4) lípidos, 5) enzimas, 6) alcaloide, 7) flavonoides, 8) tanino, 9) “sustancia *Schinus molle* L.” con C₂₄H₄₈O₂ como fórmula global¹¹, 10) beta-sitosterol², 10) productos de terpenos y 11) ácidos grasos³. Para utilizarlos se recurre frecuentemente a extraerlo como aceite esencial (González, 2004). En el aceite esencial del *Schinus molle* L. se encontraron compuestos mayoritarios en monoterpenos (90,2%) [α -felandreno (33,5%), β -mirceno (25,7%), silvestreno (23,5%), ρ -cimeno (4,8%) y α -pineno (2,7%)⁽¹⁴⁾.

Propiedades Medicinales

Se ha utilizado en la medicina popular como antibacteriano, antiviral, tópico, antiséptico, antimicótico, antioxidante, antiinflamatorio, antitumoral y antiespasmódico y analgésico; además se le asigna actividad antimicrobiana en Gram-positivos y antiinflamatorios al inhibir la enzima fosfolipasa A₂ sin embargo, hay pocos estudios de las propiedades farmacológicas y toxicológicas de los aceites esenciales de *Schinus molle*⁽¹³⁾.

Staphylococcus aureus

Es un patógeno bacteriano en todas partes y son los responsables principales de causa de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. La epidemiología de infecciones está influenciada por aparición rápida y generalizada de resistente a la meticilina multiresistente *S.aureus*.(MRSA).ST239-MRSA-SCC mec tipo III se considera que es una cepa epidémica de MRSA hospital asociado y es frecuente en todo el mundo. *S. aureus* T0131 tensión⁽¹⁵⁾.

Etiopatogenia

S. aureus es un patógeno piógeno conocido por su capacidad de formar abscesos en los focos de infección tanto locales como metastásicos. Esta respuesta patológica clásica a *S. aureus* define el marco dentro del que evolucionará la infección. Las bacterias de este tipo desencadenan una reacción inflamatoria que se caracteriza al principio por una respuesta intensa de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y una infiltración ulterior de macrófagos y fibroblastos. Si la respuesta celular del hospedador ⁽¹⁸⁾.

Mecanismos de Virulencia:

Infecciones Por Invasión: Este tipo de infecciones puede estar producido tanto por cepas de *S. aureus* residentes como no residentes. Por otro, la adherencia a piel traumatizada o pequeñas disrupciones de piel, así como también a objetos extraños y estructuras subendoteliales. Esta adherencia envuelve muchas proteínas de la matriz extracelular como fibronectina, fibrinógeno, elastina, colágeno y otras. Estas proteínas interaccionan con diferentes receptores de *S. aureus*, antes mencionados. Por último, la adherencia de *S. aureus* a las células endoteliales durante los eventos de sepsis es un proceso complejo donde están involucradas la fibronectina, el fibrinógeno y la laminina ⁽¹⁹⁾.

Infecciones por acción de toxinas: Estas infecciones están causadas por la liberación al medio de sustancias tóxicas, que pueden ejercer su acción a cierta distancia del foco infeccioso ⁽¹⁹⁾.

Infección Bacteriana

Las enfermedades causadas por bacterias producen una infección, a menudo estos organismos no son visibles a simple vista. Sin embargo, pueden hacer daño en el organismo humano. Son las infecciones y enfermedades causadas por bacterias. Estos microorganismos a menudo no son visibles a simple vista. Sin embargo, pueden causar daños en el cuerpo ⁽²⁰⁾.

III. HIPÓTESIS:

3.1. Hipótesis Alternativa:

- El aceite esencial de las hojas de *Schinus molle L.* (Molle) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*

3.2. Hipótesis Nula:

- El aceite esencial de las hojas de *Schinus molle L.* (Molle) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*

IV. METODOLOGÍA

El trabajo de investigación fue de tipo EXPERIMENTAL de enfoque CUANTITATIVO, TRANSVERSAL

4.1. Diseño de la investigación

Se utilizaron 20 placas con cultivo de *S. aureus* Cepa ATCC25923, la cual rejuveneció en un medio de cultivo Agar Muller-Hinton y el tiempo de incubación fue de 24h a una temperatura de 37°C y los grupos fueron los siguientes:

Control negativo:

05 placas de cultivos de *S. aureus* Cepa ATCC25923 con 4 discos/placa conteniendo el solvente de dilución del aceite esencial (dimetilsulfóxido - DMSO al 0.5%)

Control estándar farmacológico:

05 placas de cultivos de *S. aureus* Cepa ATCC25923 con 4 discos/placa conteniendo sensidiscos de doxiciclina (25ug/disco)

Control experimental N°1:

05 placas de cultivos de *S. aureus* Cepa ATCC25923 con 4 discos/placa conteniendo el solvente de dilución del aceite esencial de *Schinus molle* (Molle) al 50% (dimetilsulfóxido - DMSO al 0.5% + aceite esencial).

Control experimental N°2:

05 placas de cultivos de *S. aureus* con 4 discos/placa conteniendo el solvente de dilución del aceite esencial de *Schinus molle* (Molle) al 75% (dimetilsulfóxido - DMSO al 0.5% + aceite esencial).

4.2. Población y Muestra:

Población:

Estuvo conformado por las plantas de *Schinus molle* (Molle) de crecimiento en la provincia de Trujillo, departamento de La Libertad.

Muestra:

Conformado por las hojas de *Schinus molle* (Molle) recolectada en la ciudad de Trujillo, departamento La Libertad. se procedió a su lavado para su posterior hidrodestilación.

Material biológico:

Los cultivos de *Staphylococcus aureus* fueron aislados en medios selectivos en el laboratorio de microbiología ULADECH, posteriormente se rejuveneció en el medio de cultivo Agar Muller-Hinton.

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Indicadores	Escala de medición
Independiente: Concentración del Aceite esencial de <i>Schinus molle</i> (Molle)	Es el conjunto de compuestos químicos de características lipídicas que le confiere el aroma a la planta ⁽¹⁴⁾ .	Se obtiene por hidrodestilación de las hojas en Equipo Clevenger ⁽¹²⁾ .	% V/V de aceite esencial disuelto en DMSO 0.5% 50% 75%	Cualitativa nominal
Dependiente: Efecto Antibacteriano	Es el efecto logrado al inhibir el crecimiento de una determinada colonia de bacterias por inhibición o por destrucción de las mismas ⁽⁸⁾ .	Se calcula a partir de la medida de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos conteniendo el aceite ⁽⁹⁾	RESISTENT E <23mm SENSIBLE 23 – 29 mm	cuantitativa

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Preparación del aceite esencial de las hojas *Schinus molle* (Molle)

Para obtención del aceite esencial de *Schinus molle* (Molle), primero se deshojó, luego se pesó 3000g, seguidamente se lavó. Esto se realizó por hidrodestilación en Clevenger que es una técnica de destilación directa, para lo cual se utilizó las hojas frescas ⁽²²⁾.

Se agregó en un matraz la muestra vegetal fresca partida en trozos pequeños, se añadió agua destilada hasta la mitad del matraz y se colocó el balón sobre la manta de ebullición. Se montó el matraz en su canastilla de calentamiento y se sostuvo con unas pinzas; se colocó cuidadosamente la trampa de Clevenger, se sostuvo con otras pinzas la boca que lleva el refrigerante ⁽²³⁾.

Se anexó las mangueras al refrigerante, se conectó la canastilla al reóstato y se comenzó a calentar cuidadosamente hasta la ebullición, hasta precisar un reflujo adecuado. El aceite fue separando en la bureta de la trampa y se suspendió el reflujo cuando se obtuvo la cantidad suficiente y recogió el aceite en un matraz, se almacenó en un frasco ámbar a una temperatura de 4°C ⁽²³⁾.

Los extractos fueron diluidos utilizando como solvente DMSO al 0.5% El tiempo de incubación fue de 24h a una temperatura de 37°C, después de la incubación y observación del crecimiento de la cepa, se trasladó utilizando un bucle estéril, y se tomó una parte de las colonias cultivadas a un tubo de ensayo que contendrá 500 µl de la solución salina fisiológica ⁽²⁴⁾.

Se preparara la solución de Mc Farland, con densidad celular de $1 - 5 \times 10^8$ UFC /ml. Seguidamente, se colocó de 2 a 3 colonias de *Staphylococcus aureus* en suero fisiológico previamente esterilizado para determinar el grado de turbidez según la escala de 0.5 Mc Farland ⁽²⁴⁾.

MÉTODO DE DIFUSIÓN DE DISCOS

El método más común en la evaluación de la actividad antimicrobiana es el ensayo Kirby – Bauer. Los discos empleados son impregnados del aceite esencial de *Schinus molle* en diferentes concentraciones para colocarlas en cada placa a una distancia establecida. Al ser sometidos a un grado de incubación de 37°C en 24 h. Para la bacteria *S. aureus*, el extracto difunde radialmente desde el disco a través del agar, la cual la concentración disminuye al extenderse y alejarse desde el punto de disco ⁽²²⁾.

Llega a un punto en que el extracto con actividad antibacteriana no ejerce dicho efecto frente a la cepa. Al medir el diámetro del área de inhibición alrededor del disco, este puede clasificarse en diferentes categorías de sensible o resistente (S o R) ^(17,23).

Preparación del medio de cultivo:

Para el cultivo de bacterias, el medio adecuado para su crecimiento es el agar Mueller Hinton. La composición del medio de cultivo, es Agar 2.0 g de extracto de carne, 17.5 g de hidrolizado de caseína, 1.5 g de almidón, 17.0 g de agar disueltos en 1 litro de agua destilada con un pH ajustado a 7.3 ± 0.1 a 25°C ⁽²²⁾.

Preparación del inóculo para *S. aureus*:

Se prepara transfiriendo colonias, tocando la parte superior de cada una con asa bacteriológica en el cultivo se toca 4 - 5 colonias ≥ 1 mm con un tiempo de incubación de 24 h. No se puede utilizar cultivos de más de 24h. Para el

rejuvenecimiento de la bacteria se realiza en un medio de cultivo de agar Tripticasa Soya (Agar TSA). Incubar este cultivo de 35°C - 37°C. Se diluye el cultivo al suspender en un tubo con solución salina estéril o caldo estéril, para obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland. Se agita, y se ajusta a una densidad óptica de 0,5 McFarland, añadiendo la cantidad necesaria de la solución salina. En la cual esta solución tiene una concentración de 1×10^8 - 5×10^8 UFC/ml ⁽²²⁾.

Siembra de la muestra:⁽²³⁾

Utilizamos un asa bacteriológica o un hisopo estéril, luego sumergimos en la solución preparada para tomar la bacteria.

Colocamos el aplicador por encima del nivel del contenido o la muestra del tubo y se gira por las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo.

En la superficie de la placa con el medio de cultivo, se siembra el inóculo de manera uniforme. La siembra se hace en 3 direcciones evitando el exceso.

Dejar la placa tapada entre 5 a 10 minutos para que la superficie del medio se seque. Después del sembrado de la bacteria en estudio, se coloca los discos en la superficie del agar dentro de la placa usando pinzas estériles, presionar los discos suavemente sobre el medio de cultivo para asegurar la adherencia al medio y el contacto sea uniforme. En la superficie de la placa se coloca 4 discos en la periferia y 1 en el centro, con una medida de 2cm de distancia entre disco y disco, para evitar que el halo de inhibición quede sobrepuesto. Incubación de las placas con

el sembrado inmediatamente a una temperatura 35°C – 37°C. Se realizó la lectura de los halos de inhibición después de 24 horas.

4.5. Plan de Análisis

Los resultados son sometidos a la prueba de ANOVA para variables cuantitativas, a un 95% de confianza ($\alpha \leq 0.05$) y un error del 5%. Se utilizará el Paquete estadístico SPSS v 22.1. ⁽²²⁾.

4.6. Matriz de Consistencia.

Título De La Investigación	Formulación Del Problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de Investigación y diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y Escala de Medición	Plan de análisis
ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE <i>Schinus molle</i> L. (MOLLE) FRENTE A CULTIVOS DE <i>Staphylococcus aureus</i> .	¿Cuál es la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) frente a cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	<p>Objetivo general:</p> <p>Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) frente a cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Objetivos específicos:</p> <p>Evaluar la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a concentraciones de 50% y 75%.</p> <p>Comparar la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 50% y 75% frente a un medicamento estándar (Doxiciclina).</p>	<p>Hipótesis Alternativa:</p> <p>El aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Hipótesis Nula:</p> <p>El aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) presenta actividad antibacteriana in vitro frente a cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i></p>	El trabajo de investigación fue de tipo EXPERIMENTAL de enfoque CUANTITATIVO, TRANSVERSAL	<p>Independiente</p> <p>: Concentración del Aceite esencial de <i>Schinus molle</i> (Molle)</p> <p>Dependiente: Efecto Antibacteriano</p>	<p>Se obtiene por hidrodestilación de las hojas en Equipo Clevenger ⁽¹²⁾.</p> <p>Se calcula a partir de la medida de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los discos conteniendo el aceite ⁽⁹⁾</p>	<p>Cualitativa nominal</p> <p>Tratamientos 50% v/v</p> <p>75% v/v</p> <p>Control DMSO 0.5%</p> <p>Cuantitativa De Razón</p> <p>Medida del halo de inhibición en (mm).</p> <p>Resistente <23mm</p> <p>Sensible 23 – 29 mm</p>	Los resultados son sometidos a la prueba de ANOVA para variables cuantitativas, a un 95% de confianza ($\alpha \leq 0.05$) y un error del 5%. Se utilizará el Paquete estadístico SPSS v 22.1. ⁽²²⁾ .

4.7.Principios Éticos.

El estudio se llevó a cabo siguiendo los principios manifestados en el código de ética para la investigación de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote (ULADECH).

Beneficencia y no maleficencia. - En ese sentido, la conducta del investigador debe responder a las siguientes reglas generales: no causar daño, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios. ⁽²⁵⁾

Justicia. - El investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas. Se reconoce que la equidad y la justicia otorgan a todas las personas que participan en la investigación derecho a acceder a sus resultados. El investigador está también obligado a tratar equitativamente a quienes participan en los procesos, procedimientos y servicios asociados a la investigación ⁽²⁵⁾

Integridad científica. - La integridad o rectitud deben regir no sólo la actividad científica de un investigador, sino que debe extenderse a sus actividades de enseñanza y a su ejercicio profesional. La integridad del investigador resulta especialmente relevante cuando, en función de las normas deontológicas de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación. Asimismo, deberá mantenerse la integridad científica al declarar los conflictos de interés que pudieran afectar el curso de un estudio o la comunicación de sus resultados. ⁽²⁵⁾

V. RESULTADOS:

5.1.Resultados:

Tabla 1: Actividad bacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cultivos de *Staphylococcus aureus* a 24 horas

GRUPOS	Halos De Inhibición en mm. X ± DS	Significancia P	
		ANOVA	T- STUDENT
Blanco (DMSO al 0.5%)	6.0±0.1	0.000**	
Estándar (Doxiciclina)	28.3 ±0.47		
A.E <i>Schinus molle</i> L. al 50%	25.1 ±0.98	0.024*	
A.E <i>Schinus molle</i> L. al 75%	31.0 ± 3.07	0.042*	0.031*

**ANOVA (P<0.05) * T – STUDENT (P<0.05)

Leyenda:

X: promedio

D.S.: desviación estándar

A.E: Aceite Esencial

5.2. Análisis de resultados:

- En la tabla 01 se muestra los promedios y las desviaciones estándar por grupo, se observa que el grupo blanco muestra un halo de 6mm que corresponde al diámetro del disco es decir se considera que no existió inhibición bacteriana, este grupo sirvió para demostrar que el solvente del aceite esencial no tiene actividad antibacteriana frente a *S. aureus*. En el grupo 2 que corresponde al estándar farmacológico Doxiciclina en sensidiscos (25ug/disco) los halos de inhibición muestran un promedio de 28.3 ± 0.47 mm en el halo de inhibición valor que se encuentra dentro de lo reportado por la Sociedad Española de quimioterapia para las bacterias de interés clínico ⁽²³⁾. En el caso de los halos de inhibición reportados para los grupos Exp01 (*Schinus molle L.* 50%) y Exp 02 (*Schinus molle L.* 75%) los promedios de halos de inhibición son de 31.0 ± 3.07 mm y 25.1 ± 0.98 mm respectivamente valores que se encuentran dentro del rango establecido como sensible en comparación con Doxiciclina según el INS para esta bacteria ⁽²²⁾. La prueba ANOVA para comparar los grupos nos muestra un nivel de significancia de 0.000, es decir el aceite esencial de *Schinus molle L.* presenta actividad antibacteriana frente a cultivos de *S. aureus*
- La presencia de derivados sesquiterpénicos en la mayoría de aceites esenciales les confiere una alta capacidad de destrucción de la pared bacteriana especialmente en bacterias grampositivo ⁽¹⁵⁾
- Se muestra también la comparación con la prueba T – Student; a las 24 horas se aprecia que el valor de $p < 0.05$ para todas las comparaciones donde el aceite

esencial de *Schinus molle L.* al 75% es el que presenta la actividad antibacteriana más relevante, lo mismo ocurre en el grupo Exp01 *Schinus molle L.* al 50%, además se aprecia que el Estándar Doxiciclina es superior en efecto que el aceite esencial de *S. molle* al 50% ($p=0.024$), sin embargo, comparado con el aceite esencial de *S. molle* al 75% este último mostró valores más elevados ($p=0.042$)

- Las investigaciones de Azuero et Al. demuestra la actividad antimicrobiana de los flavonoides, triterpenoides y compuestos fenólicos presentes en esta planta además que según Hoffman et al. los alcaloides, los sesquiterpenos y las quinonas encontradas serían los responsables de inhibición en crecimiento ⁽²⁴⁾.

VI. CONCLUSIONES:

- El aceite esencial de las hojas de *Schinus molle L.* (Molle) posee actividad antibacteriana in vitro frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*
- El aceite esencial de las hojas de *Schinus molle L.* (Molle) a concentración del 75% presentó mayores halos de inhibición que la concentración al 50%.
- El aceite esencial de las hojas de *Schinus molle L.* (Molle) a 75% posee un mayor halo de inhibición frente a un medicamento estándar (Doxiciclina).

RECOMENDACIONES.

- En la realización de trabajos de investigación relacionada a las plantas medicinales, se debe considerar los beneficios ya conocidos empíricamente por personas, lo cual sería confirmado o descartado con estas investigaciones.
- Solicitar y brindar los medios, estrategias y herramientas necesarias para el análisis de resultados e interpretación de los mismos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Simionatto E, Chagas MO, Peres MTLP, Hess SC, Silva CB da, Ré-Poppi N, et al. Chemical Composition and Biological Activities of Leaves Essential Oil From *Schinus molle* (Anacardiaceae). J Essent Oil Bear Plants [Internet]. 2011 Jan 12 [cited 2018 Dec 4];14(5):590–9. Disponible en:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/0972060X.2011.10643976>
2. Abdel-Sattar E, Zaitoun AA, Farag MA, Gayed SH El, Harraz FMH. Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. Nat Prod Res [Internet]. 2010 Feb 15 [cited 2018 Dec 4];24(3):226–35. Disponible en:

<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786410802346223>
3. Hayouni EA, Chraief I, Abedrabba M, Bouix M, Leveau J-Y, Mohammed H, et al. Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. Int J Food Microbiol [Internet]. 2008 Jul 31 [cited 2018 Dec 4];125(3):242–51. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160508001694>
4. Díaz C, Quesada S, Brenes O, Aguilar G, Ciccio JF. Chemical composition of *Schinus molle* essential oil and its cytotoxic activity on tumour cell lines. Nat Prod Res [Internet]. 2008 Nov 20 [cited 2018 Dec 4];22(17):1521–34. Disponible en:

<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786410701848154>
5. Flores ML. Efecto de las concentraciones del 6-Bencilaminopurina (6-BAP) y del medio basal Murashige y Skoog (1962) en el crecimiento in vitro de *Rubus*

- robustus Presl. “zarzamora.” Univ Nac Trujillo [Internet]. 2014 [cited 2018 Nov 12]; Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4281>
6. Reddy DN, Al-Rajab AJ. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of *Ruta graveolens* L. volatile oils. *Cogent Chem* [Internet]. 2016;2(1):1–11. Disponible en: <https://www.cogentoa.com/article/10.1080/23312009.2016.1220055>
 7. Fajardo LM, Navarro RF. Caracterización del aceite esencial de la especie *Peperomia subspathulata*(Piperaceae) y evaluación de su capacidad como agente antimicrobiano. 2017 [cited 2018 Nov 20]; Disponible en: <http://repository.udca.edu.co:8080/jspui/handle/11158/716>
 8. Tapia ER. Composición química, actividad antioxidante y antiCandida albicans del aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panizara.” Univ Nac Mayor San Marcos [Internet]. 2018 [cited 2018 Oct 26]; Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/7557>
 9. Pinheiro PF, Queiroz VT De, Rondelli VM, Costa AV, Marcelino TDP, Pratisoli D. Insecticidal activity of citronella grass essential oil on *Frankliniella schultzei* and *Myzus persicae*. *Ciência e Agrotecnologia* [Internet]. 2013;37(2):138–44. Disponible en: http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84875578865&partnerID=tZOtx3y1%5Cnhttp://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542013000200004&lng=en&nrm=iso&tlng=en
 10. Espinoza IK. Efecto comparativo de aceite esencial y extracto acuoso de hojas de *Schinus molle* L. “molle” sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea*. Univ Nac Trujillo [Internet]. 2016 [cited 2018 Dec 16]; Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/8770>

11. Cajas D. AP. Essential Oil *Schinus molle* L. (Molle) As An Antimicrobial Potential On *Streptococcus Mutans*. Study In Vitro. *Kiru* [Internet]. 2015;12(2):8–14. Disponible en:

<http://www.aulavirtualusmp.pe/ojs/index.php/Rev-Kiru0/article/viewFile/753/590>
12. Ghorbani A, Esmailizadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med*. 2017;7(4):433–40.
13. Cedamanos IW. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *shinus molle* l. “molle” sobre *streptococcus mutans atcc 25175*. *Univ Nac Trujillo* [Internet]. 2014 Oct 17 [cited 2018 Dec 16]; Disponible en:
<http://www.dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/8090>
14. Martins MDR, Arantes S, Candeias F, Tinoco MT, Cruz-Morais J. Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2014;151(1):485–92. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.063>
15. Al-Zubairi AS, Al-Mamary MA. The Antibacterial, Antifungal, and Antioxidant Activities of Essential Oil from Different Aromatic Plants Genotoxicity assessment of medicinal plants from Al-Baha region View project Synthesis of hydrazones derived from 2-aminobenzhydrazide View project [Internet]. 2017 [cited 2018 Nov 29]. Disponible en: <http://garj.org/garjmmms>
16. Bussmann RW, Glenn A, Sharon D, Chait G, Díaz D, Pourmand K, et al. Proving that traditional knowledge works: The antibacterial activity of Northern Peruvian medicinal plants. *Ethnobot Res Appl*. 2011;9:67–98.
17. Chrysargyris A, Xylia P, Botsaris G, Tzortzakis N. Antioxidant and antibacterial

- activities, mineral and essential oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) affected by the potassium levels. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2017;103(August 2016):202–12. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.04.010>
18. Villar M, Villavicencio O. Plantas medicinales peruanas en el asma bronquial. *Nat Medicat* [Internet]. 1994;(37–38):61–7. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4989382.pdf>
 19. Hamdan DI, Al-Gendy AA, El-Shazly AM. Chemical composition and cytotoxic activity of the essential oils of *Schinus molle* growing in Egypt. *J Pharm Sci Res.* 2016;8(8):779–93.
 20. Vásquez-Gonzales J, 1, Díaz D, 2. Efecto Antimicótico In Vitro Del Aceite De Molle (*Schinus molle* Linneo) Sobre Trichophyton mentagrophytes. (august 2011).
 21. do Prado AC, Garces HG, Bagagli E, Rall VLM, Furlanetto A, Fernandes Junior A, et al. *Schinus molle* essential oil as a potential source of bioactive compounds: antifungal and antibacterial properties. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2018 Dec 26 [cited 2019 Jan 4]; Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/jam.14157>
 22. St-Gelais A, Mathieu M, Levasseur V, Ovando JF, Escamilla R, Marceau H. Preisocalamendiol, Shyobunol and Related Oxygenated Sesquiterpenes from Bolivian *Schinus molle* Essential Oil. *Nat Prod Commun* [Internet]. 2016 Apr [cited 2019 Jan 4];11(4):547–50. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27396215>
 23. Rey-Valeirón C, Pérez K, Guzmán L, López-Vargas J, Valarezo E. Acaricidal effect of *Schinus molle* (Anacardiaceae) essential oil on unengorged larvae and

- engorged adult females of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol* [Internet]. 2018 Nov 13 [cited 2019 Jan 4];76(3):399–411. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s10493-018-0303-6>
24. Sacsquispe R. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. Vol. 32, Serie de Normas Técnicas N° 30. 2002. 67 p. Disponible en: <http://docplayer.net/1923603-Clinical-and-laboratory-standards-institute-advancing-quality-in-health-care-testing.html>
25. Comité Institucional de Ética en Investigación. Código de ética para la investigación [Internet]. CHIMBOTE - PERÚ; 2016 p. 1–6. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>

VIII. ANEXOS:

TABLA 02:
PRUEBA DE CHAPIRO – WILKS PARA DETERMINAR LA
NORMALIDAD DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
H24	.872	20	.130

A Corrección de la significación de Lilliefors

FUENTE: SOFTWARE ESTADÍSTICO IBM SPSS 20.0 SOBRE LOS DATOS
OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

Figura 01:

Determinación taxonómica de la planta *Schinus molle*, realizada en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo.



Fuente: Captura fotográfica realizada por el investigador

Figura 02:

Preparación de hojas para la extracción del aceite esencial por Hidrodestilación



Fuente: Captura fotográfica realizada por el investigador

Figura 03:

Extracción de Aceites esenciales de la Planta *Schinus molle* realizada por hidroddestilación mediante el equipo de Clevenger.



Fuente: Captura fotográfica realizada por el investigador

Figura 04:

Preparación de materiales para realización de sembrados de cepas de *S. AUREUS*.



Fuente: Captura fotográfica realizada por el investigador

Figura 05:

Cultivo de *S. aureus* utilizada



Fuente: Captura fotográfica realizada por el investigador

Figura 06:

Siembra de la muestra de *S. aureus* y aplicación de discos del fármaco doxiciclina.



Fuente: Captura fotográfica realizada por el investigador

Figura 07:

Preparación del aceite esencial *Schinus molle* en porcentajes de 50 y 75%.



Fuente: Captura fotográfica realizada por el investigador

Figura 08:

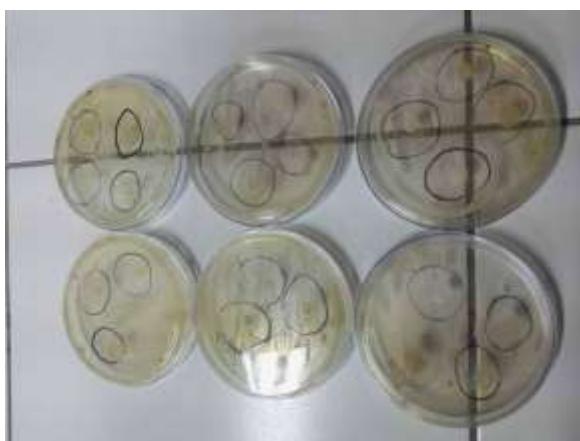
Se pondrán a incubar las placas con el sembrado inmediatamente a una temperatura 35°C – 37°C.



Fuente: Captura fotográfica realizada por el investigador

Figura 09:

Se realizó la medición de los halos formados por el grupo estándar y el aceite esencial al 50 y 75%.



Fuente: Captura fotográfica realizada por el investigador

Figura 10:

Se realizó la lectura y medida de los halos de inhibición de cada una de las placas.



Fuente: Captura fotográfica realizada por el investigador