



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE CHIMBOTE
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUIMICA

EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL
DE HOJAS DE *Satureja pulchella* (PANISARA) SOBRE
CULTIVOS DE *Staphylococcus aureus*

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL
GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

AUTORA

PAREDES RODRIGUEZ SHIRLEY STEFHANY

CÓDIGO ORCID: 0000-0002-4755-804X

ASESOR:

LEAL VERA, CESAR ALFREDO

ORCID: 0000-0003-4125-3381

TRUJILLO – PERÚ
2019

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Docente Tutor Investigador

AGRADECIMIENTO

A Dios:

Por guiarme y acompañarme en este largo proceso de formación académica, por ser mi fortaleza en los momentos de dificultad y por brindarme una vida llena de experiencias, aprendizaje y sobre todo felicidad.

A mis padres:

Por apoyarme en todo momento y respetar cada decisión tomada, por confiar y creer en mis expectativas.

A mis docentes:

Por haber compartido sus conocimientos durante mi formación universitaria y por ayudarme a crecer personal y profesionalmente. De manera especial agradezco a mi Docente Tutor Investigador quien ha sido un guía incondicional, quien gracias a sus correcciones y consejos he logrado culminar este proyecto de investigación.

DEDICATORIA

A mis padres, quienes han sido una parte fundamental para encaminarme en este largo recorrido, gracias por ser el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no desfallecer ante las adversidades que se nos pueden presentar.

A mis hermanos José y Jean Carlos, quienes a pesar del tiempo y la distancia siempre han encontrado la manera de brindarme su apoyo incondicional durante este proceso. A mi hermana Elizabeth, Jhon y mi cuñada por su apoyo incondicional.

A mis sobrinos Yago, Camila y Thiago quienes me han brindado muchas alegrías y sobre todo por compartir momento que sin duda guardo en mi corazón.

EQUIPO DE TRABAJO

AUTORA

Paredes Rodríguez, Shirley Stefhany

ORCID ID: 0000-0002-9534-8311

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Estudiante de pregrado Trujillo. Perú

ASESOR

Leal Vera, César Alfredo

ORCID: 0000-0003-4125-3381

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Ciencias de la Salud.
Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Trujillo, Perú.

JURADO

Diaz Ortega, Jorge Luis

ORCID ID: 0000-0002-6154-8913

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID ID: 0000-0002-7897-8151

Amaya Lau, Luisa Olivia

ORCID ID: 0000-0002-6374-8732

RESUMEN

El presente estudio de investigación, de diseño experimental, explicativo y de corte transversal, tuvo como propósito demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de *Satureja pulchella* (panisara). La procedencia vegetal de las hojas frescas de *Satureja pulchella* (Panisara) fue del distrito de San Benito provincia de Contumazá. El estudio fue realizado en laboratorio con 25 placas, distribuido en 5 grupos de 20 discos embebidos con la muestra problema. El aceite esencial fue extraído de las hojas frescas de *Satureja pulchella* (Panisara), por el método de arrastre de vapor, para la obtención de datos se distribuyeron en: control (DMSO), farmacológico (Ciprofloxacino 5µg), experimental 1 (aceite esencial de *S. pulchella* al 50% + DMSO), experimental 2 (aceite esencial de *S. pulchella* al 75% + DMSO) y experimental 3 (aceite esencial de *S. pulchella* al 100%). Obteniendo promedios y desviación estándar para los halos de inhibición del crecimiento microbiano correspondientes a: 23.54mm ± 0.80mm, 33.26mm ± 0.96mm, 56.76mm ± 1.22mm. Concluyendo que el nivel de significancia es menor a $p < 0.05$, demostrando que existe diferencia significativa entre las distintas concentraciones, Así mismo se concluye que el aceite esencial de *Satureja pulchella* (Panisara) posee actividad antibacteriana in vitro sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Palabras claves: Aceites esenciales, *Satureja pulchella*, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The present research study, of experimental, explanatory and cross-sectional design, was intended to demonstrate the antibacterial effect of the essential oil of *Satureja pulchella* (panisara) leaves. The vegetable origin of the fresh leaves of *Satureja pulchella* (Panisara) was from the district of San Benito province of Contumazá. The study was carried out in a laboratory with 25 plates, distributed in 5 groups of 20 disks embedded with the test sample. The essential oil was extracted from the fresh leaves of *Satureja pulchella* (Panisara), by the steam drag method, to obtain data they were distributed in: control (DMSO), pharmacological (Ciprofloxacin 5 μ g), experimental 1 (essential oil of 50% *S. pulchella* + DMSO), experimental 2 (75% *S. pulchella* essential oil + DMSO) and experimental 3 (100% *S. pulchella* essential oil). Obtaining averages and standard deviation for the microbial growth inhibition halos corresponding to: 23.54mm \pm 0.80mm, 33.26mm \pm 0.96mm, 56.76mm \pm 1.22mm. Concluding that the level of significance is less than $p < 0.05$, demonstrating that there is a significant difference between the different concentrations, It is also concluded that the essential oil of *Satureja pulchella* (Panisara) has in vitro antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* cultures.

Keywords: Essential oils, *Satureja pulchella*, *Staphylococcus aureus*.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	6
2.1. Antecedentes.....	6
2.2. Bases teóricas.....	10
III. HIPÓTESIS.....	16
IV. METODOLOGÍA.....	17
4.1. Tipo y nivel de investigación.....	17
4.2. Diseño de la investigación.....	17
4.3. Población y muestra.....	18
4.4. Definición y operacionalización de variables.....	20
4.5. Técnicas e instrumentos.....	21
4.6. Plan de análisis.....	24
4.7. Principios éticos.....	25
4.8. Matriz de consistencia.....	26
V. RESULTADOS.....	27
5.1. Resultados.....	27
5.2. Análisis de resultados.....	30
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	32
6.1. Conclusiones.....	32
6.2. Recomendaciones.....	32
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
ANEXOS.....	38

INDICE DE TABLAS

TABLA N°01: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE *SATUREJA PULCHELLA* (PANISARA) DE LA PROVINCIA DE CONTUMAZÁ – CAJAMARCA, SOBRE LOS CULTIVOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

TABLA N°02: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE *SATUREJA PULCHELLA* (PANISARA), A CONCENTRACIONES DE 50%, 75% Y 100% SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

TABLA N°03: EFECTO COMPARATIVO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *SATUREJA PULCHELLA* (PANISARA) A CONCENTRACIONES DE 50%, 75% Y 100% CON CIPROFLOXACINO SOBRE CULTIVOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

I. INTRODUCCIÓN

La utilidad de plantas medicinales con fines curativos surge a inicios de la historia del hombre. El hombre acudía a la naturaleza buscando alimento y en medio de su búsqueda este aprendió a distinguir a aquellas plantas que le servían como remedio de los males que lo aquejaban, estos conocimientos fueron transmitidos a cada una de sus generaciones. Durante los últimos años ha surgido el interés por construir una estrecha relación con la naturaleza con la finalidad de aliviar nuestras afecciones, debido a que estos presentan menores efectos adversos, menores contraindicaciones e interacciones y su tolerancia muy favorable en el organismo^(1, 2).

Durante los últimos años a nivel mundial el 80% de la población ha apelado al uso de plantas medicinales, con el fin de controlar y tratar las distintas afecciones causadas por diversos microorganismos, debido a la facilidad de acceso y sobre todo porque son más económicos frente a los medicamentos. El Perú posee una de las más grandes riquezas vegetales con propiedades curativas, se conocen alrededor de 4400 especies con propiedades conocidas por la población, dentro de las cuales el mayor porcentaje se encuentra en nuestra serranía⁽³⁾.

Según las distintas organizaciones de salud, el uso de especies vegetales con fines curativos abarca el 70%, teniendo mayor preferencia poblaciones de escasos recursos económicos, además reside en sus particularidades terapéuticas que poseen para afrontar efectos que puedan producirse por las diferentes enfermedades. En 1978 estas organizaciones determinaron que “planta medicinal es aquella que en sus órganos posee sustancias utilizadas con

finés terapéuticos, o aquellos que sus fitoconstituyentes sean utilizados para la creación de nuevos fármacos. Droga vegetal es aquella fracción de la planta donde se encuentra mayor concentración de principios activos”^(2,3)

Recientes investigaciones de principios activos como los aceites esenciales mencionan las propiedades antibacterianas, antimicóticas y antioxidantes, además actúan sobre el brote de plagas producidas en los sembríos, los cuales no causan daño al medio ambiente. En la actualidad diversos estudios realizados han demostrado la efectividad de los aceites esenciales sobre cultivos bacterianos⁽⁴⁾.

El género *Staphylococcus* son microorganismos cocos Gram positivos (+), miden aproximadamente 1 µm de diámetro, crecen en condiciones anaerobias y aerobias facultativos a una temperatura de 25 a 43°C con un pH de 4.8 a 9.4. Estos a su vez son fermentadores de glucosa, tiamina, aminoácidos y ácido nicotínico. Estos microorganismos poseen más de 30 diferentes especies, de los cuales un determinado número de microorganismos de este género habitan de forma natural en la piel y membranas mucosas, como *Staphylococcus aureus*. Los mismos que son productores de las infecciones de piel, al existir un incremento exagerado de microorganismos.⁽⁶⁾

Staphylococcus aureus es un patógeno oportunista que habita en fosas nasales, membranas mucosas y la piel. Debido a su extendida versatilidad, este microorganismo puede causar enfermedades de gran magnitud como infecciones del aparato respiratorio, infecciones del aparato urinario, osteomielitis, bacteriemia y síndrome de shock tóxico.^(6,7)

La *Satureja pulchella* (panisara) es una especie aromática de nuestra sierra peruana, de gran utilidad por la población de donde es originaria. La presencia de principios activos y metabolitos secundarios, son los que le confieren la actividad terapéutica a las distintas especies vegetales. ⁽⁷⁾

La existencia de nutrientes en *Satureja pulchella* evidencian tener diversos efectos terapéuticos. Esta especie es empleada para prevenir trastornos del aparato digestivo, pero la existencia de flavonas, taninos y diversos fenoles así mismo estos compuestos son los que le confieren el poder antibacteriano. Este efecto es evidenciado por medio de la observación de la presencia de halos de inhibición sobre cultivos bacterianos. ^(9,10)

Actualmente uno de los principales problemas de salud pública es la resistencia de los microorganismos patógenos frente a los antibióticos, esto debido al consumo desmedido de los antibióticos frente a infecciones virales o bacterianas, ocasionando que las cepas bacterianas puedan expandirse raudamente en las comunidades, colocando en un alto riesgo su salud. Este tipo de acontecimientos son los que han dado pie a los *Staphylococcus aureus* resistentes a la metilina (MRSA) y los *Staphylococcus aureus* que han logrado formar resistencia a la vancomicina (VRSA).

La aparición de la resistencia bacteriana frente a los múltiples tratamientos permite considerar nuevas alternativas de tratamiento para combatir microorganismos infecciosos causantes de enfermedades de gran prevalencia en nuestra comunidad, siendo una de ellas el uso de plantas medicinales.

Según la organización mundial de la salud, las razones por las que se optan por esta alternativa, son: la limitada accesibilidad de los servicios de salud en naciones sub-desarrolladas, la cultura de cada país y el uso de remedios naturales como terapia coadyuvante.

Diversos estudios destacan que la variedad de fármacos que derivan de las plantas medicinales, más del 70% son utilizados de manera conjunta con los fármacos.

Por lo anteriormente expuesto, se plantea el siguiente problema de investigación:

¿Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de *Satureja pulchella* (panisara) sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*?

OBJETIVOS

General

- ✓ Demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de *Satureja pulchella* (panisara) de la provincia de Contumazá – Cajamarca, sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Específicos

- ✓ Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de *Satureja pulchella* (panisara), a concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre *Staphylococcus aureus*.
- ✓ Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Satureja pulchella* (panisara) a 50%, 75% y 100% frente a un medicamento (Ciprofloxacino).

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Chipa et al (2018 - Perú) evaluó la actividad antimicrobiana in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Satureja pulchella* (Panisara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. Utilizando el método Screening fitoquímico, método de microdilución y el método de recuperación por contaminación directa. Obteniendo como resultados los metabolitos secundarios encontrados en mayor proporción en el extracto hidroalcohólico, paralelamente con el Screening fitoquímico se demostró de manera cualitativa, encontrándose la presencia de: alcaloides, flavonoides y compuestos fenólicos. La lectura de la obtención bacteriana se determinó por conteo de colonia en el cultivo de placas sembradas. Los resultados obtenidos concluyen que con el método de microdilución se pudo determinar que, en las 17 concentraciones del extracto estudiado, únicamente la concentración más alta (presentó CMI = 32768 µg/mL) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Cotrina (2016 - Trujillo) determinó la actividad antibacteriana del aceite esencial Panizara “*Satureja pulchella*” frente a *Staphylococcus aureus*, las hojas de “*Satureja pulchella*” se colectaron en el departamento de Ancash, en el distrito de Huaraz. El aceite esencial se obtuvo por destilación con arrastre de vapor de agua. La actividad antibacteriana se determinó por el método de Bauer-Kirby llamada también método de difusión de disco obteniendo como resultado que el aceite esencial de la planta Panizara “*Satureja pulchella*”

presenta actividad antibacteriana significativa sobre la Cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a las concentraciones de 25 %, 50 %, 75 % con un promedio de halos de inhibición de 14.88 mm, 23.97 mm, 27.87 mm respectivamente. Se detectó compuestos fenólicos, que se confirman por la coloración azul oscura con el reactivo de cloruro férrico y estos serían los principales responsables de la actividad antibacteriana.

Chávez et al (2016 - Cajamarca) Demostraron el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Satureja sericea* “Romerito de campo”, sobre *Candida albicans* (ATCC 10231) y *Gardnerella vaginalis* (ATCC 14018), mediante el método de difusión en disco. En el diseño experimental se utilizaron tres grupos problemas constituidos por discos embebidos con 20 µL de aceite esencial diluido con alcohol de 96° (diluciones de 10%, 50%, 100%), y un grupo control constituido por un disco con alcohol de 96°, para la cepa de *Candida albicans* y *Gardnerella vaginalis*, posteriormente se incubaron las placas de *Candida albicans* a 36°C y *Gardnerella vaginalis* a 37°C en anaerobiosis, durante 24 a 48 horas. Luego se procedió a observar, medir y analizar los halos de inhibición obtenidos sobre las cepas en estudio. Los resultados se analizaron empleando el método estadístico no paramétrico de Man - Whitney, obteniendo un valor de $p < 0,05$ que indica diferencia estadística significativa. Esto permitió concluir que el aceite esencial de *Satureja sericea* “Romerito de campo” tiene efecto inhibitorio sobre la cepa de *Candida albicans*, pero no sobre la cepa de *Gardnerella vaginalis*.

Mendoza (2015 - Perú) con su investigación logró determinar la actividad

antibacteriana del aceite esencial de *Satureja Pulchella* “Panizara” frente a *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*. Se utilizó el método de difusión en agar en pocillo. Obteniendo como resultado las concentraciones de 25, 50, 75 y 100% de aceite esencial de *S. pulchella*, el halo de inhibición de crecimiento de *E. coli* fue de 6.60mm, 12.07mm, 15.87 mm y 23.60 mm correspondientemente; de igual modo, para *B. cereus* el halo de inhibición del crecimiento obtenido al 25, 50, 75 y 100% fueron de 15.8 mm, 26.47mm, 36.27 mm y 57.40 mm. Concluyendo con la afirmación de que el aceite esencial de *S. pulchella* posee efecto inhibitorio sobre *E. coli* y *B. cereus* ⁽⁶⁾

Carhuapoma (2014 - Lima) evaluó los parámetros físico-químicos, actividad antioxidante y la toxicidad aguda del aceite esencial de *S. pulchella*, La obtención del aceite esencial fue por el método de arrastre con vapor de agua; el rendimiento se determinó por gravimetría-volumétrico; densidad, por picnometría; e índice de refracción, por refractometría. La actividad antioxidante se determinó por el método del radical DPPH (1, 1-difenil-2-picrilhidrazilo) y la toxicidad aguda por el método de Dosis Límite. Reportando un rendimiento 1, 5% v/p; densidad 0, 98 g/mL; índice de refracción 1,494; la actividad antioxidante es muy cercano al comportamiento del trolox, presentando una concentración media (IC50) de 7,675 µl/mL, frente al trolox, 6, 48 µg/mL; la dosis letal media (DL50) es 777, 19 mg/kg. Los resultados indican que el aceite esencial de *S. pulchella* posee actividad antioxidante y una ligera toxicidad aguda, dichas actividades se deben a la estructura química del aceite esencial que posee.

Montes (2013 - Ayacucho) Determinó la actividad antimicótica del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña" sobre una cepa de *Candida albicans* ATCC 10231. La muestra fue recolectada en el distrito de Churcampa, región de Huancaveíca a 3240 msnm. Se utilizó el método de dilución en caldo para hallar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Fungicida (CMF). El aceite esencial mostró mayor halo de inhibición a la concentración del 10%, en tanto que el extracto hidroalcohólico a 0,5%, ambos halos resultaron ser menores que la nistatina. La CMI y la CMF para el aceite esencial fueron de 1,198 mg/ml y 2,396 mg/ml respectivamente; en tanto que para el extracto hidroalcohólico la CMI y la CMF fueron de 0,046 mg/ml y 0,093 mg/ml respectivamente. Por todo esto se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Satureja brevicalyx* Epl. "wayra muña" posee mayor actividad antimicótica sobre la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 que el aceite esencial de dicha planta.

2.2 Bases teóricas

Fitoterapia

Ciencia que estudio de la terapia complementaria, utilizando plantas o parte de ellas. La OMS reconoce la importancia de la medicina natural en el tratamiento y prevención de diversas enfermedades, así como también la importancia que tiene a nivel económico debido que en algunos casos se evidencian diferencias de costos ⁽⁸⁾.

Permite recolectar datos sobre los efectos medicinales que poseen ciertas plantas, las mismas que conllevan a realizar estudios de investigación científica con el objetivo de poseer seguridad y eficacia en los nuevos principios activos, logrando seleccionar aquellos que poseen efectos curativos y descartando aquellos que poseen efectos tóxicos en el organismo ⁽²⁴⁾.

Plantas medicinales

Son todas aquellas especies vegetales que en uno de sus distintos órganos poseen sustancias que serán utilizadas con fines curativos o que indiquen una parte de la síntesis química ⁽¹¹⁾.

Droga vegetal

Sustancia de origen natural, vegetal, animal o sintético que ingresada al organismo vivo por cualquier vía de administración será capaz de producir alteraciones bioquímicas ⁽¹³⁾.

Principio activo

Constituyentes de origen animal, vegetal, mineral, microbiológico o químico, que posee acción farmacológica determinada en el cuerpo ^(11,12).

Aceite esencial

Los aceites esenciales son sustancias de fuertes aromas, conformados por una compleja mezcla de sustancias aromáticas. Poseen componentes altamente volátiles los mismos que son extraídos de las plantas con ayuda de sustancias solventes ⁽¹⁴⁾. Están compuestos por terpeno y compuestos oxigenados derivados de una unidad isopénica, la misma que se origina a partir del ácido mevalónico, derivado del ácido shikimico ⁽²⁵⁾.

Localización de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales se encuentran en partes como: raíces, corteza, hojas, flores, frutos, además en vellosidades glandulares y alveolos secretores, en la cascara de las frutas cítricas, conductos y sacos ⁽¹⁴⁾.

Composición química de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales contienen hidratos de carbono, monoterpenos, sesquiterpenos, terpenos, fenilpropanoides, bencenoides, también pueden contener compuestos azufrados y nitrogenados, etc ⁽¹⁴⁾.

Satureja pulchella (Panisara)

Satureja pulchella conocida comúnmente como Panisara, planta herbácea oriunda de nuestra sierra andina la cual crece a una altura de 2500 m.s.n.m.

Esta planta crece en zonas escasamente drenadas, tales como valles fluviales y zonas costeras que suelen estar bajo el agua, y en que la descomposición de materia orgánica vegetal es muy lenta, su reproducción es naturalmente por semillas ⁽⁴⁾.

Identificación taxonómica

Reino	: Plantae
Sub-reino	: Tracheobionta
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Lamiales
Familia	: Lamiaceae
Sub-familia	: Nepetoideae
Género	: Satureja
Especie	: Satureja pulchella
Nombre común	: Panisara

Descripción

Es una planta herbácea, aromática posee un delgado tallo, se prolifera en forma de mata y muy extendida. Tiene hojas muy pequeñas, con base acorazonada y ápice agudo, dentadas, verde en la cara superior y blanca en la inferior debido a su pubescencia. Sus flores son pequeñas y labiadas, tienen cinco pétalos unidos. Esta planta logra alcanzar una altura de 30 a 60 cm, sus flores de color lila y rojas tubulares que eclosionan en los meses de julio y setiembre ⁽⁴⁾.

Mecanismo de acción de los aceites esenciales sobre microorganismos.

Los aceites esenciales están conformados por una compleja mezcla de diversos compuestos químicos, su actividad antibacteriana no se debe a un solo mecanismo, esto se debe a los diferentes sitios de morfología celular en los que estos pueden llevarse a cabo, ya sean independientes o simultáneos.

Los aceites esenciales son de carácter hidrofóbico, el cual les permite adherirse en los lípidos de las membranas mitocondriales y bacterianas, alterando su estructura y por consiguiente su permeabilidad, permitiendo la salida de iones y componentes celulares vitales, produciendo la muerte del microorganismo.

También podrían actuar sobre las proteínas de la membrana citoplasmática interviniendo en la interacción lípido-proteína y alterando la actividad de la enzima ATPasa, logrando disminuir la producción de energía requerida ⁽²⁶⁾.

Staphylococcus aureus

La familia Staphylococcaceae abarca 36 especies, 16 de ellas se encuentran en humanos, dentro de los cuales destaca, *S. aureus*. Estas bacterias han causado infecciones en el ser humano desde hace siglos. Microscópicamente, *S. aureus* es un coco grampositivo con un diámetro de 0,5-1,5 μm . Su característica principal es el crecimiento en forma de racimos o parejas, formando cadenas cortas. Estas bacterias anaerobias facultativas, catalasa positiva, inmóviles, no forman esporas y gran parte de ellas no son encapsuladas.

La característica que no comparte con otros estafilococos es que causan infección poco frecuente, tal es el caso de la coagulasa o del factor de aglutinación, permitiendo ser identificados y diferenciados inmediatamente.

El análisis genético ha demostrado que posee más de 20 y más de 30 genes codificantes de adhesinas y toxinas, respectivamente. Por todo ello, *S. aureus* es la especie más relevante dentro del género *Staphylococcus* ⁽⁴⁾.

Etiología

Staphylococcus aureus un microorganismo patógeno capaz de desarrollar abscesos en el lugar de la infección, ya sean locales o diseminados por todo el cuerpo. Este tipo de bacterias desarrollan una respuesta inflamatoria que se distingue al principio por una respuesta potente de los leucocitos polimorfonucleares (PMN) y una infiltración siguiente de macrófagos y fibroblastos ⁽²⁷⁾.

Mecanismo de acción

Infección por invasión: Estas son producidas por cepas de *S. aureus* habitantes como no habitantes de nuestra piel. Por otra parte, la adherencia a piel lesionada, o pequeños cambios de piel, así como también a cuerpos extraños estructuras sub-endoteliales. Esta adherencia abarca una diversidad de proteínas como fibronectina, fibrinógeno, colágeno, elastina y otros. Estos próticos interaccionan con los diversos receptores que posee *S. aureus*. Finalmente, la adhesión de *S. aureus* a las células endoteliales en los procesos de sepsis, involucra la fibronectina, fibrinógeno y laminina.

Infección por acción de toxinas: Este tipo de infecciones es causado por la descarga de sustancias tóxicas al medio, las mismas que ejercen su efecto cerca al foco infeccioso.

Infección bacteriana

Por lo general estos microorganismos no son visibles a simple vista, sin embargo pueden causar daño en el cuerpo humano.

III. HIPÓTESIS

Hipótesis alternativa (H_1)

El aceite esencial de las hojas de *Satureja pulchella* (Panisara) presenta efecto antibacteriano sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Hipótesis nula (H_0)

El aceite esencial de las hojas de *Satureja pulchella* (Panisara) no presenta efecto antibacteriano sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus*.

IV. METODOLOGÍA

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental aplicado, de enfoque cuantitativo – transversal.

4.1 Diseño de la investigación

Se utilizaron 25 placas contenidas con cultivos de *S. aureus* en un medio de cultivo Agar Muller-Hinton, en un periodo de incubación de 24h a una temperatura de 37°C. Los grupos fueron: verificar los diseños de investigación

Grupo control

Conformado por 05 placas Petri con cultivo de *Staphylococcus aureus* y 4 discos con solvente de dilución del aceite esencial (dimetilsulfóxido – DMSO al 0.5%) Se llevó a incubación a 37°C de temperatura por un tiempo de 24 horas.

Control estándar farmacológico

Conformado por 05 placas Petri con cultivo de *Staphylococcus aureus* y 4 discos de Ciprofloxacino de 5µg. Se llevó a incubación a 37°C de temperatura por un tiempo de 24 horas.

Grupo Experimental 1

Conformado por 05 placas Petri con cultivos de *S. aureus* y 4 discos con 20µL de aceites esenciales de *Satureja pulchella* (panisara) al 50%. Se llevó a incubación a 37°C de temperatura por un tiempo de 24 horas.

Grupo Experimental 2

Conformado por 5 placas Petri con cultivos de *Staphylococcus aureus* y 4 discos con 20µL de aceites esenciales de *Satureja pulchella* (panisara) al 75%. Se llevó a incubación a 37°C de temperatura por un tiempo de 24 horas.

Grupo Experimental 3

Conformado por 05 placas Petri con cultivos de *Staphylococcus aureus* y 4 discos con 20µL de aceites esenciales de *Satureja pulchella* (panisara) al 100%. Se llevó a incubación a 37°C de temperatura por un tiempo de 24 horas.

4.2 Población y Muestra

Población

Estuvo formada por las hojas de *Satureja pulchella* (Panisara) que se encuentran en el distrito de San Benito, provincia Contumaza, departamento de Cajamarca

Será extraído a partir de la compra de *Staphylococcus aureus* del laboratorio.

Se utilizaron hojas en buen estado de conservación y libre de contaminantes.

Muestra

La muestra fue determinada por el investigador, quién clasificó en 5 grupos de 5 placas cada grupo, contenidas con discos embebidos en las diferentes concentraciones del aceite esencial *de Satureja pulchella*.

Material biológico

El material biológico estuvo conformado por cultivos de la bacteria *Staphylococcus aureus*, la misma que fue expuesta a los aceites esenciales de Satureja pulchella (panisara)

Se utilizaron bacterias morfológicamente iguales y jóvenes que no hayan tenido contacto con medicamentos.

Muestra bacteriana

El tamaño de la muestra fue determinado por turbidez según la escala de Macfarland siendo de 0.5 de absorbancia, la que equivale a 1×10^5 UFC/mc³.

4.3 Definición y operacionalización de variables

Verificar las escala, debido que estas no se muestra en los resultados

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA
Independiente Aceite esencial de <i>Satureja pulchella</i> .	Producto de compleja composición, adquiridas de plantas específicas en botánica <i>Satureja pulchella</i> .	Obtenido por el método de arrastre de vapor, utilizando el equipo de destilación “Clevenger”.	Aceite esencial <i>S. pulchella</i> al 50% Aceite esencial <i>S. pulchella</i> al 75% Aceite esencial <i>S. pulchella</i> al 100%	Cualitativa Nominal
Dependiente Efecto antibacteriano	Determinación de la sustancia antibacteriana que es capaz de inhibir el crecimiento de la bacteria 24 horas después de la incubación.	Será determinada por medio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> , teniendo como patrón referencial el fármaco de ciprofloxacino.	Sensibilidad ○ Nula (< a 8mm) ○ Límite (8-14mm) ○ Medio (15-20 mm) ○ Sensible (>20mm)	Variable cuantitativa de razón.

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Recolección de hojas de *Staphylococcus aureus*.

Las hojas de *Satureja pulchella* (panisara), fueron recolectadas del distrito de San Benito, provincia Contumazá, departamento Cajamarca, teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

Técnicas de preparación de los aceites esenciales.

Para la preparación de los aceites esenciales se sometieron 5 kilogramos de hojas frescas a un proceso de extracción, realizado mediante el método de arrastre de vapor de agua con el equipo Clevenger. Inicialmente se pesó 100 gramos de muestra y adicionó agua destilada 1000mL en el balón de agua, luego se separó el aceite esencial por diferencia de densidades, obteniendo un rendimiento de 0,8 mL de aceite esencial por cada 100g de muestra. Se guardó los aceites esenciales en un frasco de vidrio y color ámbar, a una temperatura de 4°C ⁽²⁷⁾.

Activación de los cultivos de *Staphylococcus aureus*

Se utilizaron colonias del microorganismo *Staphylococcus aureus*, se procedió a la esterilización del ambiente a trabajar, luego de ello se procedió a abrir el vial que contenía el microorganismo *S. aureus*, se insertó un hisopo estéril con fluido de hidratación, se homogenizaron el fluido y el microorganismo para poder activarlos.

Una vez realizada la activación del microorganismo de *S. aureus*, se realizó el sembrado en placas Petri en cultivo agar Müller-Hinton, el sembrado

se realizó con hisopo estéril, colocamos las placas Petri en la incubadora por un tiempo de 24 horas a una temperatura de 37°C, logrando obtener el crecimiento bacteriano satisfactoriamente ⁽²⁷⁾.

Preparación del Agar Mueller Hinton

Para la siembra y prueba de sensibilidad, se utilizó el agar Müller-Hinton, que es el medio adecuado para el desarrollo del microorganismo *S. aureus*. Para ello se diluyó 200ml de agar Müller-Hinton en baño María entre 45° - 50°C. Seguidamente se procedió a trasvasar 10 mL en todas y cada una de las placas Petri, luego se dejó enfriar ⁽²⁷⁾.

Inoculación de las placas Petri

Se procedió a sumergir un asa bacteriológica estéril, en la suspensión, por sobre el nivel de la solución salina. Se procedió a inocular la superficie de la placa con agar Müller-Hinton, estriando con el asa bacteriológica en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.

Luego se procedió a dejar enfriar y secar a temperatura ambiente por un tiempo de 3 a minutos con la finalidad que los excesos de humedad sean absorbidos ⁽²⁷⁾.

Aplicación de los discos

Se colocaron los discos contenidos con 10µl de los aceites esenciales de *S. pulchella* al 50%, 75% y 100% sobre la superficie del agar ayudados con una pinza estéril, asegurando el contacto directo del disco con el agar ⁽²⁷⁾.

Incubación

Se colocaron las placas en posición invertida a 37°C para su incubación, por un tiempo de 24 horas. Seguidamente se procedió a medir los diámetros de los halos de inhibición formados en cada disco ⁽²⁷⁾.

Recolección de datos

Se realizó mediante la observación directa de los resultados obtenidos en la experimentación. Para la medición de los halos de inhibición formados por la aplicación de los discos embebidos con los aceites esenciales de *Satureja pulchella* (panisara) a diferentes concentraciones, se utilizó un vernier ⁽²⁷⁾.

Materiales e instrumentos

Materiales

- ✓ Probeta de 100ml
- ✓ Probeta de 50 ml
- ✓ Vasos de precipitación 100ml
- ✓ Matraz 250ml
- ✓ Varillas de vidrio
- ✓ Placas Petri
- ✓ tubos de ensayo
- ✓ Pipeta de vidrio 10ml
- ✓ Asas bacteriológicas
- ✓ Hisopos

- ✓ Mechero
- ✓ Alcohol

Instrumentos

- ✓ Cocina eléctrica
- ✓ Estufa de esterilización
- ✓ Estufa de incubación
- ✓ Equipo de arrastre de vapor - Clevenger
- ✓ Balanza digital

4.5 Plan de análisis

El análisis estadístico de los resultados se desarrollará usando la metodología de TUKEY, ANOVA y T- student.

4.6 Matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo y diseño	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE Satureja pulchella (PANISARA) DEL DISTRITO DE SAN BENITO, PROVINCIA DE CONTUMAZÁ - CAJAMARCA, SOBRE CULTIVOS DE Staphylococcus aureus.	¿Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de Satureja pulchella (panisara) sobre los cultivos de Staphylococcus aureus?	<p>Objetivo general</p> <p>Demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de <i>Satureja pulchella</i> (panisara) de la provincia de Contumazá – Cajamarca, sobre los cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Objetivo específico</p> <p>Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de <i>Satureja pulchella</i> (panisara), a concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Satureja pulchella</i> (panisara) a 50%, 75% y 100% frente a un medicamento (Ciprofloxacino).</p>	El aceite esencial de las hojas de <i>Satureja pulchella</i> (Panisara) presenta efecto antibacteriano sobre los cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i> .	El presente trabajo de investigación es de tipo experimental, enfoque cuantitativo, corte transversal	<p>Dependiente</p> <p>Efecto antibacteriano</p> <p>Independiente</p> <p>Concentración de los aceites esenciales de Satureja pulchella.</p>	Obtenido por el método de arrastre de vapor, utilizando el equipo de destilación “Clevenger”. Determinada por medio de los halos de inhibición en los cultivos de Staphylococcus aureus, teniendo como patrón referencial el fármaco de ciprofloxacino.	<p>Aceite esencial <i>S. pulchella</i> al 50%</p> <p>Aceite esencial <i>S. pulchella</i> al 75%</p> <p>Aceite esencial <i>S. pulchella</i> al 100%</p>	Prueba estadística ANOVA

4.7 Principios éticos

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

Beneficencia y no maleficencia: la conducta del investigador responderá a las siguientes reglas generales: no causar daños, disminuir los posibles efectos adversos y maximizar los beneficios.

Justicia: el investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las medidas necesarias para asegurar sus sesgos y limitaciones de sus capacidades y conocimientos, no den lugar o toleren prácticas injustas. Se reconoce que la equidad y la injusticia otorgan a todas las personas que participan en la investigación, derecho a acceder a los resultados.

Integridad científica: debe extenderse a sus actividades de enseñanza y a su ejercicio profesional. La integridad resulta precisamente relevante cuando en función de las normas deontológicas de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a los participantes de la 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 ⁽⁶⁾.

V. RESULTADOS DE LA INVESTIGACION

5.1 RESULTADOS

Tabla 01: Efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de *Satureja pulchella* (panisara) de la provincia de Contumazá – Cajamarca, sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Evaluación del efecto antibacteriano	GRUPOS				
	Blanco (DMSO)	Control farmacológico (Ciprofloxacino 5µg)	A. E. S. pulchella al 50%	A. E. S. pulchella al 75%	A. E. S. pulchella al 100%
\bar{X} halos de inhibición	6mm	26,26mm	23,54mm	33,26mm	56,76mm

Tabla 02: Efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de *Satureja pulchella* (panisara), a concentraciones de 50%, 75% y 100% sobre *Staphylococcus aureus*.

Grupos	Halos de Inhibición en mm $\bar{X} \pm DS$	Significancia P ANOVA
Control (DMSO)	6.0 ± 0.00	0.000
Ciprofloxacino 5µg	26.26 ± 0.25	
A.E. S. <i>pulchella</i> 50%	23.54 ± 0.80	
A.E. S. <i>pulchella</i> 75%	33.26 ± 0.96	
A.E. S. <i>pulchella</i> 100%	56.76 ± 1.22	

*(P < 0.05) Son estadísticamente significativos, se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula.

Los resultados del análisis de varianza, nos permite identificar si las medias del diámetro del halo de inhibición son iguales, en la tabla N° 02, se observa una significancia aproximada a 0%, rechazando la hipótesis nula de nuestro análisis (Ho: Las medias de los diámetros de inhibición son iguales en los diferentes grupos), aceptando la hipótesis alterna (H1: Las medias de los diámetros de inhibición son diferentes en los grupos). Es decir que existe al menos un grupo que, optimiza el efecto antibacteriano sobre los cultivos de *staphylococcus aureus*.

Tabla 03: Efecto comparativo del aceite esencial de las hojas de *Satureja pulchella* (panisara) a concentraciones de 50%, 75% y 100% con Ciprofloxacino sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Grupos	Significancia Valor p T Student
Control (DMSO) vs A. esencial <i>S. pulchella</i> al 50%	0.000
Ciprofloxacino 5µg vs A. esencial de <i>S. pulchella</i> %50	0.000
Ciprofloxacino 5µg vs A. esencial de <i>S. pulchella</i> 75%	0.000
Ciprofloxacino 5µg vs A. esencial de <i>S. pulchella</i> 100%	0.000
A.E. <i>S. pulchella</i> 50% vs A.E.S. <i>pulchella</i> 75%	0.000
A.E. <i>S. pulchella</i> 50% vs A.E.S. <i>pulchella</i> 100%	0.000
A.E. <i>S. pulchella</i> 75% vs A.E.S. <i>pulchella</i> 100%	0.000

*(P < 0.05); PRUEBA T-STUDENT

En la Tabla N° 03, se muestra los resultados de análisis de las comparaciones del efecto antibacteriano sobre los cultivos de *S. aureus*, en los diferentes grupos (Control y experimentales), estos resultados nos evidencian que existe una diferencia significativa en cada comparación realizada.

Debido a los resultados mostrados, es necesario determinar cuál de los grupos observados maximiza el efecto bacteriano sobre los cultivos de *S. aureus*.

5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

La presente investigación fue realizada con el objeto de demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Satureja pulchella*, en la bacteria *Staphylococcus aureus*, el estudio se realizó en 100 placas distribuidas en 4 grupos de 25 placas cada uno (1 grupo control, 3 experimental), el grupo control mide el efecto antibacteriano del ciprofloxacino, los grupos experimentales el efecto antibacteriano del aceite de las hojas de *Satureja pulchella* al 50%, 75% y 100% respectivamente.

Los resultados muestran los promedios de los diámetros del halo de inhibición de cada grupo, observando que el grupo con mayor promedio de halo de inhibición corresponde al del aceite de la hoja de *Satureja pulchella* al 100% con un promedio 56.76 mm y una desviación estándar de 1.22mm, seguida del aceite de *Satureja pulchella* al 75% con un promedio 33.26 mm y una desviación estándar de 0.96 mm, grupo control (ciprofloxacino) con un promedio 26.26 mm y una desviación estándar de 0.25 mm finalmente del aceite de *Satureja pulchella* al 50% con un promedio 23.54 mm y una desviación estándar de 0.80 mm. Comparativamente se observa en el estudio de Cotrina en el 2006 donde los promedio de los halos de inhibición del aceite de la hoja de *satureja pulchella* al 25%, 50% y 75% es 14.88 mm, 23.97 mm, 27.87 mm respectivamente.

El efecto antibacteriano del grupo control y experimentales, se determinó a través del método de análisis de varianza, determinando que existe un efecto antibacteriano de los grupos en la bacteria *Staphylococcus aureus*, cada grupo presento un efecto significativo. Asimismo se realizó un análisis para determinar el grupo que obtiene un mejor rendimiento antibacteriano, el análisis se realizó

haciendo las comparaciones entre los grupos, a través de comparaciones de los promedio de diámetros del halo de inhibición usando la metodología de tukey, DMS y bonferroni. (Ver tabla N°01), asimismo se observa un efecto antibacteriano en los estudios de Chipa, Cotrina del aceite de las hojas de *Satureja pulchella* frente la bacteria *Staphylococcus aureus*. Este efecto también se observa en el estudio de Chipa en el año 2018, Cotrina en el 2016, Chavez en el 2016, Mendoza en el 2015, Carhuapoma en el 2014 y Montes en el 2013.

Los resultados nos aseveran que existe una diferencia significativa en cada comparación realizada, (Ver tabla N° 02). Es decir que existe un grupo que maximiza el efecto antibacteriano. Para ello se realizó observó el promedio de los halos de inhibición de los diferentes grupos, de las cuales se puede determinar que a mayor porcentaje de concentración de la *Satureja pulchella*, mayor promedio en el halo de inhibición, esta tendencia se corrobora en los estudios de Cotrina en el año 2016, y de Mendoza en el año 2015.

La presencia de derivados monoterpénicos principalmente en la mayor parte de los aceites esenciales les otorga un elevado poder de destrucción de la pared bacteriana, principalmente en las bacterias grampositivo⁽²⁶⁾.

VI. CONCLUSIONES

- ✓ Aplicando el método de difusión de disco se logró demostrar que los aceites esenciales de hojas de *Satureja pulchella* (Panisara) en concentraciones de 50%, 75% y 100% poseen efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus*.
- ✓ El efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de *Satureja pulchella* (Panisara) en concentraciones de 75% y 100% sobre *Staphylococcus aureus* es significativamente mayor en comparación con Ciprofloxacino 5µg.

RECOMENDACIONES

En la realización de los trabajos de investigación relacionada al uso de plantas medicinales, es necesario brindar datos específicos para el análisis de resultado e interpretación de los mismos, lo cual permitirá confirmar, comparar y descartar sus posibles efectos beneficiosos para la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hernández, R. et al. Plantas Medicinales, México, D.F, Ed. Arbol Editorial; 1981. Pág.: 5-6
2. Baulies G, et al. Actualización en fitoterapia y plantas medicinales Barcelona. España. Volumen 19, Número 3, marzo de 2012, páginas 149. [Internet] [citado 08 noviembre de 2017]. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1134-2072\(12\)70324-9](https://doi.org/10.1016/S1134-2072(12)70324-9).
3. Angulo C. et al. Estudio etnobotánico de las plantas medicinales utilizadas por los habitantes del corregimiento de Genoy, Municipio de Pasto, Colombia. Rev Univ. salud. [Internet]. 2012 Diciembre [citado 2018 June 11]; 14 (2): 168-185. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sciarttext&pid=S0124-7107201200200007&lng=en>
4. Pino, J. Aceites esenciales: química, bioquímica, producción y usos [Internet]. Havana: Editorial Universitaria; 2015. [citado 2018 June 11]. Available from: ProQuest Ebook Central
5. Adrianzén, P. Piminchumo, JM. Determinación de condiciones óptimas de extracción de aceite esencial y contenido de Timol de Panizara (Satureja Panicera) del Distrito de Cabana – Ancash. [Actualizado 12 de Enero 2010], [citado 16 de Mayo 2017]. Disponible en: http://biblioteca.uns.edu.pe/ver_tesis.asp?tipo=3&idm=26126
6. Pahissa A. Infecciones producidas por Staphylococcus aureus. [Internet] Barcelona: Ed. Marge Books; 2009. [Actualizado Enero 2009; citado 12 Junio 2017]. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=10958030>

7. Cotrina, J. Actividad antibacteriana del aceite esencial panizara (*Satureja Pulchella*) sobre *Staphylococcus aureus* 2016. [Citado 23 de Mayo 2017]. Disponible en:
http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/2738/2/COTRINA_JORGE-Resumen.pdf
8. Gallegos, M. et al. Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos Ecuador. An. Facultad. med. [Internet]. Publicado el 2017 Julio [citado 2018 June 07]; 78 (3): 315-321. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832017000300011&lng=es.
9. Carhuapoma, Y. Composición química, actividad antioxidante y toxicidad aguda del aceite esencial de *Satureja pulchella* “Panizara”. [Citado 23 de Mayo 2017]. Disponible en:
<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/Theo/article/view/11938>
10. Cueva E. Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts panisara. [Internet]. [Citado 04 Julio 2017]. Disponible en:
<http://repositorio.usanpedro.edu.pe/handle/USANPEDRO/765>
11. Solís P, Tapia L. Prácticas relacionadas con el uso de plantas medicinales en el trabajo de parto y puerperio puesto de salud Miramar región la libertad abril 2015 [Internet]. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego, Facultad Ciencias de la Salud; 2015. [Consultado 05 julio 2018]. Disponible en:
http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/1121/1/SOLIS_PAOLA_PLAN TAS_MEDICINALES_PARTO.pdf
12. Tello G. “Etnobotánica de plantas con uso medicinal en la comunidad de Quero, Jauja, Región Junín” [Internet]. Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina, Facultad Ciencias - Biológicas; 2015. [Consultado 05 julio 2018]. Disponible:
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1886/F70.T64-T.pdf?sequence=1>

13. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos, Corpus Editorial, 2007. [Citado 06 de Diciembre 2017]. Disponible en:
<https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=3430597>
14. Pino, J. Aceites esenciales: química, bioquímica, producción y usos [Internet]. Havana: Editorial Universitaria; 2015. [citado 2018 June 20]. Available from: ProQuest Ebook Central
15. Cruz A. Rodríguez N. Rodríguez C. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de bidens pilosa, lantana camara, schinus molle y silybum marianum. [Citado 04 de Julio 2017]. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a14.pdf>
16. Da Silva A. Determinación de la actividad antibacteriana de tres variedades de limón (Citrus limón (L) Osbeck, Citrus limón (L) Osbeck en combinación con Citrus reticulata y Citrus medica L.) Frente a Staphylococcus aureus y Escherichia coli. [Citado 04 de Julio 2017]. Disponible en:
http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?pid=S888888882015000100006&script=sci_arttext
17. Fernández E. Huamán R. Bardales J. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de satureja nubigena “pachachamcua” en cepas de escherichia coli y staphylococcus aureus, cajamarca – 2014. [Citado 04 de Julio 2017]. Disponible en: <http://revistas.upagu.edu.pe/index.php/PE/article/view/400>
18. Alonso J. Tratado de fitofármacos y nutraceuticos, Corpus Editorial, 2007. [Citado 06 de Diciembre 2017]. Disponible en:
<https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/detail.action?docID=3430597>.
19. Avello M. Cisternas I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. [Internet]. [Citado 06 Diciembre 2017]. Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872010001100014

20. Chipa M. Ruiz c. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro del extracato hidroalcohólico de las hojas y flores de *Satureja pulchella* (panisara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*. Perú [Internet]. [Citado 12 Diciembre 2018]. Disponible en: [file:///F:/TESIS_MISHEL%20ROCIO_Y_CATHERIN%20RUIZ%20\(1\).pdf](file:///F:/TESIS_MISHEL%20ROCIO_Y_CATHERIN%20RUIZ%20(1).pdf)
21. Aníbal D. Los medios de cultivo en Microbiología. [Internet]. [Citado 06 de Diciembre 2017]. Disponible en: <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioMedios.htm>
22. Cotrina F. Actividad antibacteriana del aceite esencial panizara (*Satureja puchella*) sobre *Staphylococcus aureus*. [Internet]. [Citado 12 Diciembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uap.edu.pe/handle/uap/2738>
23. Hernández T. Fitoquímica y diferentes actividades biológicas de 10 especies empleadas en la medicina tradicional en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla. [Internet]. [Citado 12 Diciembre 2018]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/html/432/43241353003/>
24. 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 Oct 4];24(3):226–35. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786410802346223>
25. Ghorbani A, Esmailizadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med*. 2017;7(4):433–40.

26. Castaño M. Evaluación De La Capacidad Conservante De Los Aceites Esenciales De Clavo (*Syzygium Aromaticum*) Y Canela (*Cinnamomum Verum*), Sobre La Levadura (*Rhodotorula Mucilaginosa*) En Leche Chocolatada. [Tesis Doctoral]. [En línea]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia Medellín; 2012. [Citado 21 de junio 2017]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/9149/1/43013611.2012.pdf>

27. 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>

28. Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión. Instituto Nacional de Salud. [Internet]. Lima 2002. [Citado el 24 junio del 2017]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>

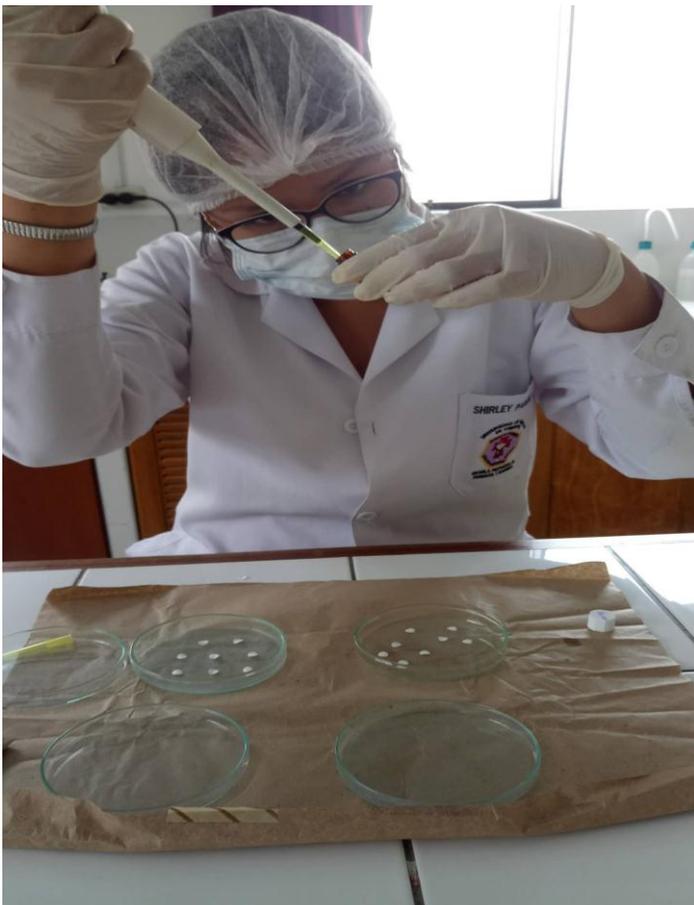
ANEXOS



Lavado las placas Petri
antes de esterilizar.



Esterilización de placas
Petri.



Preparación de placas
Petri con el aceite esencial
de Satureja pulchella



Adaptación del equipo
Clevenger



Separación de aceites
esenciales



Visualización de aceites
esenciales