



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

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

Actividad antibacteriana de los componentes fitoquímicos foliares de
Eucalyptus globulus L. sobre *Staphylococcus aureus* resistente a
meticilina, estudio in vitro.

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
Médico Cirujano**

AUTORA:

Ruiz Carhuanambo, Brisset Paola (orcid.org/0000-0002-4598-5865)

ASESOR:

Dr. Espinola Sanchez, Marco Augusto (orcid.org/0000-0002-0391-0240)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:

Promoción de la salud, nutrición y salud alimentaria

TRUJILLO - PERÚ

2023

DEDICATORIA

A DIOS

En primer lugar, a nuestro padre celestial por darme la vida y permitirme culminar esta etapa con salud. También por ser mi guía, mi fortaleza y mi fuerza durante estos largos años de estudio, me dio las herramientas para poder afrontar todas las adversidades y nunca desistir.

A MIS PADRES

Que en el transcurso de mi vida me supieron inculcar valores y confiaron en mí en cada momento y me dieron ánimos para no rendirme. A mi padre Rubén gracias por tu apoyo incondicional por ser la primera persona que creyó y confió en mí, por darme las fuerzas para nunca desistir. A mi madre Mirian gracias por tus sabios consejos, por darme tu amor, tu apoyo y ser mi ejemplo de superación y fortaleza.

AGRADECIMIENTO

A MI FAMILIA

Por siempre haberme brindado su apoyo, por alentarme en cada momento y por ser siempre unidos, a mis padres, tíos, primos y sobrina, a todos ellos agradezco su confianza depositada en mí y por animarme a seguir adelante hasta culminar mi carrera profesional.

A MIS HERMANOS

Por ser pacientes, por motivarme a luchar por mis sueños, por recibirme siempre con los brazos abiertos en casa, por ser mi ejemplo, por alentarme y siempre estar presentes en mi vida.

A JEANCARLOS

Te agradezco por siempre estar presente en los buenos y malos momentos, por impulsarme a ser mejor. Gracias por haberme brindado tu apoyo y motivarme a nunca rendirme en lo largo y difícil de esta carrera, por ser mi soporte en mi realización profesional y por retarme a dar lo mejor de mí.

A MIS ASESORES

Dr. Espínola Sánchez Marco Augusto y Mg. Polo Gamboa Jaime Abelardo por brindarme su apoyo y sabios consejos, agregando su gran paciencia y dedicación para lograr culminar con éxito la ejecución de esta investigación.

A MIS MAESTROS

A cada uno de mis maestros que durante estos años de carrera me compartieron sus conocimientos desinteresadamente, gracias por sus enseñanzas pues estas serán herramientas importantes en el desarrollo de mi profesión.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Carátula	
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Índice de contenido	iv
Índice de tablas	v
Resumen.....	vi
Abstract	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
III. METODOLOGÍA	12
3.1. Tipo y diseño de investigación	12
3.2. Variables y operacionalización	12
3.3. Población, muestra y muestreo	12
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	13
3.5. Procedimientos	13
3.6. Método de análisis de datos	14
3.7. Aspectos éticos	14
IV. RESULTADOS	15
V. DISCUSIÓN	18
VI. CONCLUSIONES	20
VII. RECOMENDACIONES	20
REFERENCIAS	21
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla1. Medidas Estadísticas Descriptivas.....	15
Tabla 2. Análisis de varianza (ANOVA).....	16
Tabla 3. Prueba de Tukey.....	16

RESUMEN

Se expresa una investigación experimental in vitro para analizar la actividad antibacteriana del aceite de *Eucalyptus globulus* L. contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, a través del método de Kirby-Bauer. Se preparó aceite esencial de la planta. Se demostró que la actividad antibacteriana de las concentraciones de 100% de aceite esencial formaron zonas de inhibición de $9,30 \pm 0,48$ mm, superiores a las concentraciones de 75% que arrojaron $7,8 \pm 0,13$ mm; mientras que, la concentración de 50 y 25% demostró un diámetro de inhibición de 6 mm en ambas concentraciones. El análisis de varianza determinó que existen diferencias significativas ($p=0,000$) entre los efectos antibacterianos de las concentraciones del aceite esencial al comparar estos efectos con el efecto estándar del Nitrofurantoina, se observó que el fármaco tiene mayor efecto antimicrobiano que las concentraciones de aceite. Se concluye que los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* L tienen diferentes efectos antibacterianos contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, siendo la concentración de 100% que presenta mayor actividad antibacteriana.

Palabras clave: Actividad antibacteriana, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Eucalyptus globulus* L.

ABSTRACT

An in vitro experimental investigation is expressed to analyze the antibacterial activity of *Eucalyptus globulus* L. oil against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, through the Kirby-Bauer method. Essential oil of the plant was prepared. It was demonstrated that the antibacterial activity of 100% concentrations of essential oil formed inhibition zones of 9.30 ± 0.48 mm, higher than the 75% concentrations that showed 7.8 ± 0.13 mm, while the concentration of 50 and 25% demonstrated an inhibition diameter of 6mm in both concentrations. The analysis of variance determined that there are significant differences ($p=0.000$) between the antibacterial effects of the essential oil concentrations. When comparing these effects with the standard effect of Nitrofurantoin, it was observed that the drug has a greater antimicrobial effect than the oil concentrations. It is concluded that the essential oils of *Eucalyptus globulus* L have different antibacterial effects against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, with the 100% concentration having the greatest activity antibacterial.

Keywords: Antibacterial activity, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Eucalyptus globulus* L.

I. INTRODUCCIÓN

Un problema creciente mundial de salud pública ha sido la resistencia bacteriana debido a múltiples procesos de mutaciones dadas en el mundo de las bacterias. Estos procesos dados son respuesta a diferentes elementos tales por ejemplo el indiscriminado empleo de antibióticos y fármacos, empleo de inmuno supresores, la sobresaturación del primer nivel de atención. Estos elementos interfieren, además, al incremento de enfermedades infectocontagiosas quienes son los culpables de un 70% de fallecimientos tempranos en países de tercer mundo y abarcan el tercer lugar de causa de muerte temprana a nivel mundial. (1,2)

Staphylococcus aureus es uno de los microorganismos bacterianos que desarrollan patogenicias altamente mortales a nivel mundial. Las infecciones ocasionadas por organismos de *staphylococcus*, puede llevar a una variedad de enfermedades, incluso la neumonía, abscesos, osteomielitis, artritis y un número de infecciones en la piel, también está relacionado a patologías que tiene relación con algunas toxinas, incluyendo el síndrome de shock tóxico, intoxicaciones alimentarias y enfermedad de piel escaldada. (3)

S. aureus es un microorganismo considerablemente importante a causa de su actuación en muchas enfermedades, esto involucrado debido a la acción de los diferentes agentes de patogenicidad y virulencia, cifrados por los distintos genes que se expresan en el transcurso de su ciclo vital. Se sabe que esta bacteria tiene un difícil tratamiento y tiene la capacidad de invadir y colonizar en el huésped sus células, esto debido a su fisiopatogenia, donde encontramos resistencia sistemática como la creación de una capa de bacterias adheridas a la superficie, que forman una matriz extracelular compuesta en principio por proteínas poli, en la actualidad nombrados conocidos como ácidos nucleótidos y sacáridos. La creación de la matriz ocasiona que la interrelación de los antimicrobianos sobre las bacterias no actué de forma correcta ocasionando falencias en las terapias. (3,4)

A consecuencia de la concentración dramática de microorganismos que

generan resistencia a diferentes antibióticos, en la actualidad se permite el fallo de los antimicrobianos. Podemos encontrar en las plantas infinidad de fuentes alternativas de antibacterianos de origen natural con diferentes sistemas de actividad, en la medicina complementaria y tradicional se usa varios de estos, gran proporción a lo largo de siglos y se halló que a diferencia con una cantidad de antibióticos poseen acciones competitivas. Una gran alternativa, los extractos, aceites crudos de elementos vegetales con características terapéuticas que ayudaran a modificar la resistencia y con gran potencial antimicrobiano gracias a la numerosa diversidad de fitoquímicos secundarios (alcaloides, taninos, polifenoles, etc.). (5,6)

Un problema actual es el aumento en la incidencia de enfermedades infecciosas de la población con desarrollo complicado o de gravedad en numerosos casos, que pueden ocasionar infecciones localizadas a distancia (neumonía) o transformarse a una sepsis. La infección en la piel por *S. aureus* establece en este tiempo una afectación de salud en la comunidad, por su alta frecuencia, el tratamiento antibiótico resistente y por sus complejidades. (7)

En tal marco expuesto, se manifestaron algunas cuestiones que se reúnen en el **problema siguiente**: ¿Presenta actividad antibacteriana los componentes fitoquímicos foliares del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. sobre *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina, en estudio in vitro?

La ejecución de esta investigación es fundamental porque busca descubrir en los fitoquímicos foliares de *Eucalyptus globulus* algunos elementos antibacterianos que ayude ser una opción a los antibióticos, a lo que los microorganismos están alcanzando resistencia. El estudio de la acción antibacteriana lograra descubrir el nivel de acción antibacteriano que poseen los fitoquímicos foliares.

El proceso in vitro experimental que se utiliza es el adecuado para establecer el escalón primario que se prosigue para establecer un reciente antibacteriano como alternativa y/o complemento a los antimicrobianos. Finalizado este escalón, ya se podrá seguir con el nivel secundario que son investigaciones en

animales in vivo con fines experimentales y, luego, continuar a una investigación mayor cual consiste aplicar la experimentación en seres humanos.

Este estudio brindará referencia y nuevos discernimientos acerca de la sensibilidad que posee una de los microorganismos que está involucrado en infecciones recurrentes, a los fotoquímicos foliares, con lo que tendrá beneficio aquellas poblaciones que eligen y emplean tratamientos con medicina complementaria y alternativa.

Este estudio se ejecutará acorde a los objetivos siguientes: **Objetivo general:** Evaluar in vitro la actividad antibacteriana de los componentes fitoquímicos foliares del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus L.* sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Objetivos específicos: a) Extraer y concentrar el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus L.*, mediante el método de arrastre con vapor de agua, al 100%, 75%, 50% y 25%; b) Determinar la susceptibilidad antibacteriana de *S. aureus* resistente a meticilina frente a los componentes fitoquímicos del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus L.*, mediante el método de Kirby-Bauer. c) Valorar la significancia de la actividad de los componentes fitoquímicos del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus L.*, a través del análisis de varianza; y, d) Establecer las diferencias significativas entre las actividades antibacterianas de las 4 concentraciones del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus L.* y la nitrofurantoina, a través de una prueba Post-Hoc.

Según el problema planteado, se tienen dos hipótesis: **H1:** Los componentes fitoquímicos foliares del aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* presentan actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, en estudio in vitro; y **H0:** Los componentes fitoquímicos foliares del aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* no presentan actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, en estudio in vitro.

II. MARCO TEÓRICO

Se encuentran estudios sobre la actividad del eucalipto sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. **Cmikva et al (Suiza, 2023)** El fin de este estudio fue analizar los compuestos químicos, acción antibiótica e insecticida y su acción antioxidante del aceite de eucalipto in vitro. La acción antimicrobiana se determinó a través de dos métodos: difusión en disco y CMI. La mejor actividad antimicrobiana se mostró contra *C. albicans* ($14,00 \pm 1,00$ mm) y hongos microscópicos (11 mm - $12,33 \pm 0,58$ mm). La concentración inhibitoria mínima mostró los mejores resultados contra *C. tropicalis* (CMI 50 $2.93 \mu\text{L/mL}$, CMI 90 $3.17 \mu\text{L/mL}$). También se demostró su actividad antioxidante e insecticida con resultados positivos, se investigó exhaustivamente y se amplió la información sobre las actividades biológicas y los fitoelementos químicos del aceite de eucalipto. ⁽⁸⁾

Uriol D. y Espinoza M. (Perú, 2021), en su trabajo “Actividad antimicrobiana de extractos *Physalis peruviana* L. (aguaymanto) y de hojas de *Eucalyptus globulus* L. (eucalipto) contra a *S. aureus*” tuvo como fin establecer la acción antimicrobiana in vitro de los extractos en las siguientes concentraciones de 40%, 70% y 100% frente a *S. aureus*. Se empleó el procedimiento de Kirby-Bauer y se empleó la cepa de *S. aureus* resistente a oxacilina. El resultado fue que no se encontró acción antibacteriana del extracto de aguaymanto en comparación al extracto de eucalipto al 100% y el control, arrojó un diámetro de 16.0 mm, muy parecido al diámetro obtenido por el control positivo (16.3 mm). El resultado concluye que el eucalipto en concentraciones al 100% presenta alta efecto antimicrobiano contra *S. aureus*. ⁽⁹⁾

Pino (Ecuador, 2021) se evaluó la actividad antimicrobiana de las hojas de *Eucalyptus globulus* L. como oleo esencial. Los resultados de aceite esencial que son sembrados Moyancón y Chorocópte fue 0.17% y 0.15% (v/m), respectivamente. No se encontró ninguna diferencia significativa en la constitución por efecto de la región donde creció la planta. El aceite esencial de Moyacon demostró acción antibacteriana moderada frente a *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli*. ⁽¹⁰⁾

Taboada (Perú, 2020) se determinó la actividad antimicrobiana de aceite esencial de hojas de Eucalipto, frente a *E. coli* y *S. aureus* in vitro. Se realizó en múltiples concentraciones a cultivos de *E. coli* y *S. aureus* previamente tipificados in vitro, los resultados concluyeron actividad antimicrobiana a concentración del 100%, con halos de inhibición 51.5mm y 39.2mm contra cepas de *E. coli* y *S. aureus* respectivamente. (11)

Da Silva S, Pereira B. y Couti A. (Perú, 2019), a través de su estudio determinaron la función antimicrobiana de *Eucalyptus globulus L.* y *Allium sativum L.* contra bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados obtenidos demostraron que los extractos de *E. globulus* y *A. sativum* tienen eficacia sobre *Staphylococcus aureus*; sin embargo, no tienen actividad sobre *E. coli* y plantean que con estos extractos se conseguiría utilizar como una opción para la producción de formulaciones terapéuticas de origen naturales. (12)

Montero, et al, (Ecuador, 2019), se tuvo como fin demostrar la acción antibacteriana del aceite de eucalipto (*Eucalyptus spp*) frente a *E. coli* ATCC® 11229 y *S. aureus subsp. Aureus* ATCC® 25904. Emplearon a una concentración de 30%, 60% y 90% diluidos en etanol en contracción de 96.80%. Se evaluó la CMI a través del proceso de mínimas diluciones en caldo. La prueba de sensibilidad antibacteriana arrojó que en su totalidad las concentraciones demostraron sensibilidad y que a concentración de 30 y 60% no obtuvieron diferencia significativa, formando halos inhibitorios de 10.25mm y 10.65mm en concentración al 30% para *E. coli* y *S. aureus*, respectivamente. Por otro parte, el resultado obtenido para *S. aureus* obtuvieron que a concentración de 60 y 90% obtienen diámetros mayores que la cepa de *E. coli*. (13)

Guerrero O. (Perú, 2019), se estudió el efecto antibacteriano de los extractos de *A. citriodora* (cedrón) y de *eucalyptus citrus* (eucalipto) en *S. aureus* a concentraciones de 100%, 75%, contra cultivos de *S. aureus*, demostrando actividad antibacteriana a través del proceso de difusión de disco en agar o

Kirby Bauer. Dieron como resultado halos de inhibición de 5.6 mm en concentraciones de 100% y 75% respectivamente. Demostrando su función antibacteriana del aceite de hoja *A. citriodora* (cedrón) y hojas de *eucaliptus citrus* (eucalipto) frente *S. aureus*. (14)

Ticona (Perú, 2019), se estudió la acción antimicrobiana de 2 plantas como aceite esencial en cepas de *S. aureus* y *C. fecales*. Cuyo efecto se obtuvo de muña, a concentración de 25 % arrojó un diámetro inhibitorio de 13.27mm contra cepas de *C. fecales*, al 50% resultó de 10.74mm, al 75 % dio un halo de 13.27mm. Contra *S. aureus*, al 25% el diámetro expresó 9.96mm, al 50% de 10.74 mm, y al 75% de 13.15 mm. El eucalipto contra *C. fecales* al 25%, el halo inhibitorio fue de 12.09 mm, al 50% fue de 13.29mm y al 75% fue de 14. 58mm. Y la actividad antibacteriana de eucalipto frente a *S. aureus*, se demuestra que al 25 % el diámetro resultó 11.72mm, al 50 % fue 13.56mm y al 75 % fue de 14.37 mm, confirmando así actividad antibacteriana. (15)

Salem, et al (Túnez, 2018), tuvo como fin demostrar la acción sinérgica del aceite esencial de eucalipto tunecino (*Eucalyptus globulus L.*) con antimicrobianos típicos frente a nueve bacterias patógenas y *Candida albicans* ATCC 10231. El resultado demostró que tiene actividad contra las diferentes cepas bacterianas, especialmente durante las etapas vegetativa y de plena floración (MIC = 2 mg/mL) contra *Bacillus cereus* ATCC 14579 y *E. faecalis* ATCC 29212. *Candida albicans* ATCC 10231 fue más sensible que las bacterias durante la fructificación. - etapa de fijación. La combinación de aceite esencial de eucalipto con ampicilina reveló un efecto de sinergia parcial hacia *S. aureus* resistente a meticilina (FICI de 0,53). Sin embargo, se registró un efecto de adición bajo la combinación de anfotericina B y aceite de eucalipto. El resultado arrojó que el aceite de eucalipto en asociación con agentes antimicrobianos podría ser no solo una alternativa prometedora, sino también un potencial complejo molecular difícilmente reconocible por los microorganismos. (16)

Amaya D. (Perú, 2018), su investigación tuvo como objetivo comparar la

efectividad antimicrobiana que posee el óleo de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y la oxacilina, en cepas de *S. aureus*. Se evaluó el aceite que se obtuvo con el método arrastre con vapor y preparado al 100%; 75%; 50% y 25.0%, mediante el proceso de difusión en disco. El resultado obtenido mostro halos de 17.3 mm para el óleo de eucalipto al 100%, mientras la oxacilina arrojó un diámetro inhibitorio de 35.4mm. La investigación concluye confirmando que el aceite esencial de *E. globulus* (eucalipto) posee efectividad contra *Staphylococcus aureus* sin embargo es menor la acción antimicrobiana que la oxacilina. (17)

Staphylococcus es un género que está constituido por cocos gram positivos, con una medida de 0.5µm a 1.5µm, conformado a manera células unitarias, emparejadas, tétradas, cadenas reducidas o creando racimo de uvas. Su nombre de *Staphylococcus* lo introdujo Ogston, *staphyle* que tiene significado de racimos de uvas en origen griego, para explicar a los cocos involucrados en procesos de infecciones. (18)

Son microorganismos (bacterias) no móviles, no esporuladas, carecen de cápsula, sin embargo, existe una estirpe que despliega una capsula de limo, también son bacterias anaerobias facultativas. Gran parte de estas bacterias fabrican catalasa (una enzima que tiene la capacidad de desplegar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre); esta peculiaridad es aprovechada para hacer diferencia entre el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos. (18,19)

Actuales investigaciones han demostrado que el género *Staphylococcus* se halla más cerca a los géneros *Bacillus* y *Streptococcus*. El género *Staphylococcus* abarca 32 estirpes, en la que la mitad de ellas se encuentran en seres humanos, de ellas algunas forman parte del microbiota del sistema tegumentario y mucosas, mientras que otras se localizan sólo en la flora de aves y otros mamíferos. Ciertos de estas cepas son patogénicas cuando existe el factor predisponente y hospedador inmunosuprimido en existencia de cuerpos extraños. Normalmente, cada especie suele posicionarse en una localización característica en la anatómica del hospedador que coloniza. (20,21)

La resistencia a meticilina es producto de una incorporación del gen *mecA* al cromosoma del *S. aureus*, quizás por propagación que parte de los estafilococos coagulasa negativo, da origen al rechazo a varios betalactámicos. El *mecA* se encuentra en un alto componente genético de 30kpb a 40kpb, reconocido como memoria cromosómica SCCmec que contiene a una transpeptidasa que es una proteína PBP2a responsable de unirse a la penicilina. La PBP2a encriptada por el gen *mecA* posee un peso de 78kDa, tiene poca inclinación por los betalactámicos y, por lo cual, confiere amplia resistencia a prácticamente la mayoría de estos antibióticos. (23,24)

Gran parte de los estafilococos se multiplican por comunicación de piel con piel (rozar). La presencia de esta bacteria en el cuerpo, posee la probabilidad de propagarse a los huesos (osteomielitis), las articulaciones (artritis séptica), la sangre o cualquier otro sistema como pulmonar, cardíaco o el sistema nervioso. Por otro lado, las cepas del SARM pueden ser obtenidos en ambientes sanitarios y/o hospitalarios (SARMAH) y en la comunidad (SARMAC). El SARMAC es caracterizado por tener sensibilidad a varios antimicrobianos y, por lo general, solo tiene resistencia a antimicrobianos betalactámicos, ocasiona infecciones dérmicas y partes blandas, incluyendo casos de neumonías complicadas, fascitis necrotizante, tromboflebitis y septicemia. (24)

El SARM-AH posee resistencia a múltiples clases de antibióticos, también de los betalactámicos, y está vinculado con personas que poseen componentes de riesgo como el uso indiscriminado de antibióticos, estadías hospitalarias extensas, técnicas invasivas (catéter intravenoso, sonda vesical, traqueotomía), úlceras por presión, patologías severas y contacto con personas colonizadas por el SARM. De la misma forma, el SARM-AC es poseedor de los SCCmec IV y/o V, en tanto las cepas del SARMAH tienen el SCCmec I, II o III.

(24, 25,26)

Hay varios casos registrados de pacientes que provienen de la comunidad, que se hospitalizan por infecciones de MRSA. En la mayor parte de ellos no suelen ser tomados como infección intrahospitalaria, no obstante, algunos de estos

sujetos tienen el antecedente de permanecer en estado de hospitalización anteriormente, y hay que tener en cuenta que la permanencia de portador en narinas por MRSA puede ser por tiempo de incubación prolongada. Existe un grupo de pacientes que no tienen manifestaciones clínicas de que hayan sido internados anteriormente, pero posee como antecedente el que hayan acudido a visitar un nosocomio a un sujeto con una infección por MRSA, o de que haya tenido contacto a alguien poseedor de MRSA en su hogar, después de su haber sido dado de alta. (27)

Esta bacteria durante la infección tiene la capacidad de fabricar gran diversidad de elementos de virulencia, entre los que resaltan sustratos que están involucrados en la movilización de los neutrófilos, cooperando al sostenimiento de la propagación. El método de propagación más relevante es la transmisión de individuo a individuo, principalmente a través de las manos, y también por del aire, alimentos y fómites; por tal motivo, ante brotes de infecciones por estafilococo hospitalarios, la utilidad de prevención de barrera es importante, con ayuda de la utilización de los antibióticos correctos para erradicar el microorganismo, con más razón si es multirresistente. (28)

Esta bacteria es multivalente como infectante, en principal las afecciones que causa son infecciones de partes blandas (abscesos, sepsis neonatal y post quirúrgicas, forúnculitis y ántrax, miositis, neumonías, artritis séptica, bursitis, endocarditis, osteomielitis, sepsis con o sin foco, y aquellas infecciones donde se involucran sus toxinas, como intoxicaciones alimentarias, enterocolitis, enfermedad de la piel escaldada y síndrome del choque tóxico. (3,28)

Las infecciones por *S. aureus* en muchas ocasiones están involucradas a enfermedades no tan graves como foliculitis e intoxicación alimentaria, y otros de alta letalidad, como son neumonías, endocarditis y síndrome del choque tóxico, etc. Se sabe que *S. aureus* invade generalmente la piel, a causa de su partición cada momento más extensa y frecuente originando graves infecciones crónicas, de las que podrían ser reacias a la terapia antimicrobiana. (29)

Su ubicación principal de esta bacteria lo constituyen las narinas anteriores de las personas, aquellas que son fuentes con alta potencia de infección y un elemento de riesgo alto para posibles infecciones graves. Se ha enumerado que varias de estas se dan en sujetos que están colonizados con ese microorganismo y ha sido comprobado que *S. aureus*, en diferentes oportunidades, tiene una planificación capaz para eludir la respuesta inmunitaria del huésped y de este modo propagarse en los tejidos, evadiendo la actividad antibiótica e instaurando la infección crónica. (29,30)

Hay sujetos en cuales las infecciones son más propensas, como en infantes y ancianos, pacientes diabéticos, con patologías neoplásicas, HIV, los postquirúrgicos, con respiración asistida y con procedimientos invasivos terapéuticos. También son elementos que influye en la infección por *S. aureus* el incorrecto y largo uso de antibióticos, lesiones en piel y el contacto con sujetos portadores, en tanto que la inmunosupresión disminuye la activación de los fagocitos. La ausencia de una respuesta de los péptidos antibacterianos nasales para erradicar *S. aureus* puede ser justificado por la anatomía nasal, debido a que la bacteria invade el vestíbulo reducido de cilios y secreciones nasales que comprende inmunoglobulinas y péptidos antimicrobianos pertenecientes al hospedador. (30,31)

Ante la inminente resistencia de *S. aureus*, se está prefiriendo por introducir opciones para dominar y emplear de forma correcta las infecciones causadas por esta bacteria. Una opción pueden ser las matas con propiedades médicas y sus derivados, aquellos que tienen elementos con efecto antimicrobiano comprobado en diferentes estudios de investigación, a nivel mundial.

Una de las plantas analizadas como antibacteriano es *Eucalyptus globulus L.* quien ha evidenciado poseer efecto antibacteriano frente a diferentes bacterias entre ellas *S. aureus*. (32)

Eucalyptus globulus L., también conocida como Eucalipto, integra a la familia de Mitáceas, es una planta de inmenso desarrollo; cuya corteza es de color gris; alcanzando alturas que podrían sobrepasar los 100 metro, sus hojas son

dimorfas, con un olor característico fuerte a cineol; difieren en las ramas temporáneas, son luego alternas y pecioladas; de color verdusco; de 10 a 20 centímetros de alto. Las flores tienen tamaño grande, blanquecinas y axilares en general solitarias. Su fruto es capsulado con medidas de 1.5 a 3 centímetros de diámetro. (32,33)

El eucalipto tiene su origen en el continente de Oceanía, para ser específicos de Australia y Tasmania. En los años 1865 llega a Perú, inicialmente se sembró en Junín, en el valle de Mantaro. Hoy en día es una de las plantas más en medicina tradicional de la sierra peruana. (33)

En la actualidad las plantas tradicionales y medicinales desarrollan un rol importante en todo el mundo y se utilizan principalmente para la prevención y/o tratamiento de varias patologías, entre ellas *Eucalyptus globulus L.* Esta planta tiene compuestos fitoquímicos los cuales contienen taninos, alcaloides, propanoides y terpenoides que se encuentran presentes en tallo, raíz y hojas. Desde décadas atrás esta planta se utilizó como tratamiento de afectaciones recurrentes como tos, catarro, enfermedades bronquiales, asma, fiebre, gingirragia, heridas, etc. Abundantes compuesto de *Eucalyptus globulus L.* contienen múltiples actividades farmacológicas las cuales son: antimicrobianas, antitumorales, antioxidantes, etc. (33,34)

El aceite esencial de eucalipto contiene características antimicrobianas, tiene efectividad contra cepas bacterianas comunes como *E. coli* y *Staphylococcus aureus*. Se considera además una de las más grandes especies vegetales para el tratamiento de afectaciones del sistema respiratorio. Funciona como antiséptico, expectorante y antiinflamatorio. (34)

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

Tipo de estudio: se desarrolló una investigación básica. ⁽³⁵⁾

Diseño de la investigación: Diseño experimental, con múltiples repeticiones. ⁽³⁵⁾ (Anexo 3)

3.2. Variables y operaciones

Identificación de variables

Las variables que fueron consideradas y evaluadas en este estudio fueron:

- Variable independiente: Agente antibacteriano. ⁽³⁶⁾

No farmacológico: fitoquímicos foliares del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L.

Farmacológico: Nitrofurantoina.

- Variable dependiente: Actividad antibacteriana (M100 del CLSI). ⁽³⁷⁾

Sensible: $\geq 15\text{mm}$

Resistente: $< 15\text{mm}$

Operacionalización de variables

Este proyecto se desarrolló teniendo en cuenta los protocolos y criterios del método científico. (Anexo 1)

3.3. Población, muestra y muestreo

Población: fue compuesta en su totalidad por cultivos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina que derivaron del sembrado de una cepa, proveniente del laboratorio de Investigación de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

Se estimaron como criterios de inclusión, aquellos sembríos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina que fueron cultivados con 1 día previo a la realización del estudio; y como criterios de exclusión a todos los cultivos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina que fueron contaminados.

Muestra: La valoración del tamaño de muestra se realizó valiéndose de la fórmula para el cotejo de dos medias. ⁽³⁸⁾ (Anexo 4)

Unidad de análisis: estuvo considerado cada sembrío de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Unidad de muestreo: cada Colonia de cepas cultivadas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

Muestreo: Se utilizó un muestreo no probabilístico por conveniencia. ⁽³⁸⁾

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

Técnica: Se empleó la técnica de observación experimental que se basó en analizar a través de la observación la acción de los agentes evaluados, sobre los sembríos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. ⁽³⁵⁾

Instrumento: Se empleó una ficha de recolección de datos formada con exclusividad para este estudio, que estuvieron empleados los parámetros que fueron evaluados. ⁽³⁵⁾

Validez y confiabilidad: El instrumento fue verificado por el método de evaluación de expertos, el cual estuvo constituido por un microbiólogo y dos galenos, los cuales valoraron si dicho instrumento es el correcto para la recolección de data requerida en la investigación. ⁽³⁵⁾

3.5. Procedimientos

- a. Se llevó una muestra de *Eucalyptus globulus* para su identificación en el *Herbarium Truxillense* HUT de la Universidad Nacional de Trujillo.
- b. Se extrajo el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* L. a través del método de arrastre con vapor de agua. ⁽³⁹⁾ (Anexo 5)
- c. Se determinaron los componentes fitoquímicos del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* L., mediante métodos químicos. ⁽⁴⁰⁾ (Anexo 5)

- d. El cultivo de la bacteria *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina se obtuvo del Laboratorio de investigación de la Universidad César Vallejo. (Anexo 5)
- e. Se evaluó la susceptibilidad antibacteriana de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, frente a los componentes fitoquímicos foliares del aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*, mediante el método de Kirby- Bauer, con disco difusión. ⁽⁴¹⁾ (Anexo 5)
- f. Se evaluó la actividad bactericida de los componentes fitoquímicos foliares del aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.*, mediante el método de dilución en agar. (Anexo 5).

3.6. Métodos de Análisis de Datos

Los datos obtenidos fueron anotados en la hoja de recolección de data y se interpretó con el sistema SPSS 25 versión, el informe se presentó en las tablas de porcentajes y frecuencias simples. Para lo cual, se ejecutó un análisis aplicando estadísticas descriptivas: media, promedios, desviación estándar en los casos que fue requerido. Luego se realizó la prueba estadística de análisis de varianza ANOVA y posteriormente se ejecutó una prueba pos hoc de comparaciones múltiples. ⁽³⁸⁾

3.7. Aspectos Éticos

Esta investigación se estableció teniendo en cuenta las normas determinadas para los experimentos realizados en un laboratorio otorgados por la OMS ⁽⁴²⁾. También, se hizo respetar la ley N°26839 que habla de la biodiversidad en la cual rige el sostenimiento de la diversidad biológica y el empleo sustentable de sus elementos; así mismo, se realizó procesos a los remanentes nocivos que se manejaron en el proceso de la ejecución de este estudio.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Medidas Estadísticas Descriptivas de los diámetros de inhibición de la acción antibacteriana de los componentes fitoquímicos de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. contra *Staphylococcus aureus* frente a nitrofurantoina, in vitro.

	N	Me dia	Desv. Desviaci ón	Desv . Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mín imo	Máxi mo
					Límite inferior	Límite superior		
Aceite al 100%	1 0	9,3 0	,483	,153	8,95	9,65	9	10
Aceite al 75%	1 0	7,8 0	,422	,133	7,50	8,10	7	8
Aceite al 50%	1 0	6,0 0	,000	,000	6,00	6,00	6	6
Aceite al 25%	1 0	6,0 0	,000	,000	6,00	6,00	6	6
Nitrofurantoina	1 0	28, 50	,707	,224	27,99	29,01	28	30
Total	5 0	11, 52	8,676	1,22 7	9,05	13,99	6	30

Fuente: Reporte de IBM SPSS

El aceite esencial de Eucalipto al 100% presenta diámetros de $9,30 \pm 0,48$, al 75% presenta $7,80 \pm 0,42$, al 50 y 25% presento 6mm, en comparación con nitrofurantoina que presento un diámetro superior con $28,50 \pm 0,7$. Por tanto tiene efecto antibacteriano, pero no supera el diámetro $>15\text{mm}$ según el CLSI.

Tabla 2. Análisis de varianza (ANOVA) de los promedios de los diámetros de inhibición de los diámetros generado por el aceite de Eucalipto, en las diluciones respectivas, Nitrofurantoina y Dimetil Sulfoxido (DMSO)

Zona Inhibición					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3680,280	4	920,070	5049,165	,000
Dentro de grupos	8,200	45	,182		
Total	3688,480	49			

Fuente: Reporte de IBM SPSS.

Existe una diferencia significativa ($P=0.000$) entre las medias de las zonas de inhibición obtenidas por los grupos examinados.

Tabla 3. Prueba de Tukey que compara los efectos antibacterianos del aceite de Eucalipto, Nitrofurantoina y Dimetil Sulfoxido (DMSO).

Zona Inhibición (mm)					
	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Aceite al 50%	10	6,00			
Aceite al 25%	10	6,00			
Aceite al 75%	10		7,80		
Aceite al 100%	10			9,30	
Nitrofurantoina	10				28,50
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica=10,000.

El aceite al 100% presenta el mayor diámetro con 9,30 mm comparado con las otras diluciones, pero se observa una gran diferencia en comparación con Nitrofurantoina 28,50mm.

V. DISCUSIÓN

Se ejecutó un estudio de investigación experimental, en el cual se examinó la actividad antibacteriana de los componentes fitoquímicos foliares de *Eucalyptus globulus* L. sobre *S. aureus* resistente a meticilina frente a nitrofurantoina, in vitro. se ejecutaron 50 observaciones.

Cuyos resultados obtenidos en la **Tabla 1**, se observa que el diámetro de inhibición de las concentraciones del aceite de eucalipto el que obtuvo mayor tamaño fue el de la concentración al 100% (9,30mm, DE: 0,48; IC95% [8,95-9,65]). La concentración al 75% fue de (7,80mm, DE: 0,13; IC: 95% [7,50-8,10]), las concentraciones al 50 y 25% no tuvieron diferencias respecto a los diámetros (6mm DE: 0; IC: 95% [6-6]). A pesar de ello ninguna de las concentraciones de los aceites tuvo actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* frente a nitrofurantoina; considerando el estándar M100 del CLSI.36 (Si sensible cuando el diámetro es ≥ 15 mm). La nitrofurantoina demostró mayor diámetro de inhibición (28,50mm, DS: 0,7; IC 95% [27,99 – 29,01]). Demostrando así que existe un efecto de la plata sobre la bacteria mas no llega la bacteria a ser sensible a esta.

En la **tabla 2**, se muestra el resultado del análisis de varianza entre los grupos de agentes antibacterianos analizados y arroja que presenta diferencias estadísticamente significativas ($p=0,000$) en dos o más medias de la zona de inhibición (efecto antibacteriano de los 5 grupos examinados). Debido a lo cual, se efectuó la prueba post hoc de Tukey para distinguir los grupos que se diferencian.

Tabla 3, en esta se comparó las medias de los 5 grupos estudiados y se verifica que el promedio de los diámetros de inhibición que formaron el aceite al 100%, 75%, 50% y 25%, tiene diferencias estadísticamente significativas $p=1,000$, por lo que se deduce que ninguna de las concentraciones se asemeja a la nitrofurantoina.

En consecuencia, los resultados obtenidos de este estudio son menores que los obtenidos por otros investigadores, que consideran evidencia de acción antibacteriana de la planta estudiada en sus diferentes concentraciones, así; Taboada⁽¹¹⁾ demostró mayor acción antibacteriana de la planta estudiada (39,2mm siendo eficaz), Amaya⁽¹⁷⁾ a una concentración de 100%, demostró un halo de (17,3mm) demostrando eficacia, Uriol y Espinoza⁽⁹⁾ en concentración al 100% presento eficacia del (16mm), Ticona⁽¹⁵⁾ en una concentración al 25% obtuvo un halo de (11,72mm) al 50% (13,56mm) y al 75% (14,35mm) confirmando así su actividad antibacteriana, Montero⁽¹³⁾ su concentración al 30% obtuvo un halo de (10,65mm) mostrando eficacia.

Asimismo, otros autores demostraron resultados semejantes y menores a los obtenidos en este estudio, como Pino ⁽¹⁰⁾ que en su estudio determino que existe acción antibacteriana moderada de eucalipto frente a *Staphylococcus aureus*, Guerrero ⁽¹⁴⁾ donde los resultados obtenidos arrojaron halos de (5,6mm) y (7,3mm) en concentraciones de 75% y 100% respectivamente.

Como podemos demostrar, en la gran parte todos los trabajos verificados se evidencian que: sí existe actividad antibacteriana; sin embargo, al cotejarlos con un fármaco de acción antibacteriana, no siempre se superó la acción de este fármaco. No obstante, la mayoría concuerdan en la ayuda potencial de la planta en el manejo contra bacterias, como es el caso de la actual investigación *Staphylococcus aureus*.

VI. CONCLUSIONES

- a. Al estimar la acción antibacteriana de los componentes fitoquímicos foliares de *Eucalyptus globulus L.* sobre *S. aureus* resistente a meticilina, in vitro se observó que tiene actividad antibacteriana, por lo cual, se acepta la hipótesis de investigación; sin embargo, se demuestra que existe ligero efecto antibacteriano, pero su efecto es inferior que el de la nitrofurantoina según el CLSI ($\geq 15\text{mm}$).
- b. En la investigación el aceite al 100% evidencio que tiene mayor efecto antibacteriano a comparación de otras concentraciones menores.
- c. La diferencia fue significativa ($p < 0.05$) entre la actividad de los fitoquímicos del aceite de eucalipto y la actividad de la nitrofurantoina.
- d. La nitrofurantoina tuvo mayor actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, a comparación con las concentraciones del aceite de eucalipto.

VII. RECOMENDACIONES

- a. Reiterar el experimento estimando confrontarlas con otros gérmenes.
- b. Ejecutar investigaciones de dicha planta con animales, para valorar su acción en seres vivos.
- c. Se aconseja realizar estudios en donde se combine el aceite de *Eucalyptus globulus L* con diferentes antibióticos para demostrar la potencialización del fármaco y la existencia de sinergia.

REFERENCIAS

1. World Health Organization. Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability [Internet]. The Global Health Observatory. 2021 [citado el 20 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>.
2. Rebollo García L, Rincón Elvira EE, León Gómez VE, García Murciego MEG. Las enfermedades emergentes y reemergentes del siglo XXI. SANUM. 2021;5(1):48–61.
3. Saavedra J, Santos M, González F. Infecciones bacterianas de la piel. Infecciones bacterianas de la piel. s.l.: Sección de Enfermedades Infecciosas Pediátricas. Hospital General. 159-162.
4. Cervantes E, García R, Salazar P. Características Generales de Staphylococcus aureus. México: Revista Latinoamericana de Patología clínica Médica, 2017. Vol. 1, 61, págs. 40-61.
5. Gupta PD, Birdy TJ. Development of botanicals to combat antibiotic resistance. J Ayurveda Integr Med [Internet]. 2017 Oct-Dec; 8(4): 266–275. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5747506/pdf/main.pdf>
6. Serra M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Rev Habanera Ciencias Médicas [Internet]. 2017 [citado 21 de mayo de 2023];16(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011
7. Cabrejos-Hirashima L, Vives-Kufof C, Inga-Salazar J, Astocondor L, Hinojosa N, García C. Frecuencia de Staphylococcus aureus meticilinorresistente adquirido en la comunidad en un hospital de tercer nivel

- en Perú. Rev Perú Med Exp Salud Publica. 2021;38(2):313- 7. doi:
<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.382.6867>.
8. Cmikova N, Galovicova L, Schwarzova M, D.Vukic M, Vukovic N, et al. Chemical Composition and Biological Activities of Eucalyptus globulus Essential Oil. Plants 2023, 12, 1076. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/plants12051076>
 9. Uriol Plasencia Diana E, Espinoza Salcedo María V. Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de frutos de "aguaymanto" (*Physalis peruviana* L.) y de hojas de "eucalipto" (*Eucalyptus globulus* Labill.) frente a *Staphylococcus aureus*. Arnaldoa [Internet]. 2021 Ene [citado 2023 Jun 09]; 28(1): 115-124. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22497/arnaldoa.281.28106>.
 10. Pino J, Moncayo L, Spengler I, Perez J. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de la hoja de *Eucalyptus globulus* Labill. en dos alturas del cantón Cañar, Ecuador. Rev. CENIC Cienc. Quím.; ecuador 2021: Vol. 52.(1):026-033.e-ISSN:2221-2450. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/1816/181669387001/181669387001.pdf>
 11. Taboada Y, Efecto del Aceite Esencial de *Eucalyptus globulus*, "Eucalipto", sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis de pregrado], Perú: Universidad San Pedro; 2020. Recuperado a partir de: http://repositorio.usanpedro.pe/bitstream/handle/20.500.129076/20251/Tesis_67178.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 12. Da Silva S, Pereira B. y Couti A. Estudio y evaluación de la acción antibacteriana de *Eucalyptus globulus* L. y *Allium sativum* L. sobre bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* [Tesis de pregrada]. Perú: Universidad Privada de Huancayo "Franklin Roosevelt"; 2021. Recuperado: https://repositorio.uoosevelt.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14140/550/TE_SIS%20SUSAN%2C%20MARY.pdf?sequence=1&isAllowed=y

13. Montero M, Morocho M, Aviles D, Carrasco A, Erazo R. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus* spp) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*. *Rev Inv Vet Perú* 2019; 30(2): 932-938. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16099>
14. Guerrero O, Efecto de aceite de hoja *Aloysia citriodora* (cedrón) y hoja de *Eucalyptus citrus* (Eucalipto) en *Staphylococcus aureus*. [Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Alas Peruanas; 2019. Recuperado a partir de: https://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12990/10315/Tesis_Efecto%20aceite_Hoja%20Aloysia%20citriodora_Hoja%20Eucalyptus%20citrus_Staphilococcus%20aureus.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. Ticona L. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales de eucalipto (*Eucalyptus globulus* labill); muña (*Minthostachys mollis*) frente a *Staphylococcus aureus* y Coliformes fecales. [Online].; 2019 [cited 2023 agosto 21. Available from: https://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/1711/Jhon_Tesis_Licenciatura_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
16. Salem N, Kefi S, Tabben O, Ayed A, Jallouli S, et al. Variation in chemical composition of *Eucalyptus globulus* essential oil under phenological stages and evidence synergism with antimicrobial standards, *Industrial Crops and Products*, 2018; Volume 124; Pages 115-125. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.07.051>
17. Amaya G. efecto antimicrobiano del aceite esencial de *eucalyptus globulus* “eucalipto”, sobre *staphylococcus aureus* ATCC25923 comparado con oxacilina [Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Cesar Vallejo; 2018. Recuperado a partir de: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25408/amaya_gdSD.pdf?sequence=4&isAllowed=y

18. Cervantes, F, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab 2017; 61 (1): 28-40. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
19. Pasachova J, Ramirez S, Muñoz L. *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. Nova vol.17 no.32 Bogotá julio/dic. 2019. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-25.pdf>
20. Espejo L, Rodríguez K, Rodríguez M y Gómez A. Identificación genotípica de *Staphylococcus* con fenotipo meticilino resistente aislados de muestras de humanos, animales y ambiente. Rev. investig. vet. Perú [online]. 2019, vol.30, n.1, pp.364-376. ISSN1609-9117. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i1.14614>.
21. Niola Toasa, A., Medina Montoya, F., Anchundia Anchundia, G., & Peñaranda Coloma, J. (2020). *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. RECIMUNDO, 4(3), 94-101. Disponible en: [DOI:10.26820/recimundo/4.\(3\).julio.2020.94-101](DOI:10.26820/recimundo/4.(3).julio.2020.94-101)
22. Hernández W, Padrón J, Pérez A, González J, et al. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2018;70(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v70n2/a11_207.pdf
23. García A, Martínez C, Juárez RI, Téllez R, Paredes MA, Herrera M del R, Giono S. Resistencia a la meticilina y producción de biopelícula en aislamientos clínicos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa* negativa en México. biomédica [Internet]. 1 de septiembre de 2019 [citado 9 de mayo de 2023];39(3):513-2. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/4131>
24. Aguayo-Reyes Alejandro, Quezada-Aguiluz Mario, Mella Sergio, Riedel Gisela, Opazo-Capurro Andrés, Bello-Toledo Helia et al. Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. Rev. chil. infectol.

- [Internet]. 2018 [citado 2023 Jun 09]; 35(1): 7-14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182018000100007>.
25. García, R., Salazar, M., & Cervantes, E. (2018). Staphylococcus aureus asociado a la comunidad (CA-MRSA). Rev Latinoam Patol Clin Med Lab, 100 111. Obtenido de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2015/pt152f.pdf>
26. Armas, E. (2019). Efecto antibacteriano del aceite esencial de Eucalyptus globulus sobre Staphylococcus aureus meticilino resistente y Pseudomonas aeruginosa comparado con gentamicina. Universidad Cesar Vallejo. Perú. Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/35742/armas_ze.pdf?sequence=1&isAllowed=y
27. Echevarria J y Quilca D. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. Rev Med Hered [online]. 2020, vol.16.4, pp.195-203. ISSN 1018-130X.
28. Gálvez A, Plasencia M, Bautista S. Lisozimas: características, mecanismo de acción y aplicaciones tecnológicas en el control de microorganismos patógenos. Rev. mex. fitopatol vol.38 no.3 Texcoco sep. 2020 Epub 27-Nov-2023. Disponible En: <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2005-6>
29. Rodríguez E, Jiménez J. Factores relacionados con la colonización por Staphylococcus aureus. IATREIA Vol 28(1): 66-77, enero-marzo 2017. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v28n1/v28n1a08.pdf>
30. Sociedad española de Medicina Preventiva, salud Pública e Higiene. Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España. [Online].; 2017 [cited 2023 julio 23. Available from: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/29/sup1/2cercenado.pdf>.
31. Villareal H, Cruz D, Legua J. El eucalipto utilizado como alternativa de tratamiento para afecciones respiratorias en la población de Barranca. VIVE.

32. Oliveira L, Breton M, Bastolla F, Camargo S, Margis R, Frazzon J et al. Reference Genes for the Normalization of Gene Expression in Eucalyptus Species. *Plant and Cell Physiology*. 2016;53(2):405-422.
33. Mena Zablach, Marina Lilian. “Estudio sobre las propiedades antifúngicas de aceite de Eucalyptus globulus (Eucalipto) en *Cándida albicans*”. El 32 Salvador. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 2012. Páginas: 3,6,20,21,25 y 26.
34. Juárez Díaz, J. M. (2018). Estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas de las hojas de Eucalyptus globulus Labill (eucalipto). Universidad Católica. Los Ángeles de Chimbote, Perú. Recuperado de: [http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5099/CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS JUAREZ DIAZ JOSE MIGUEL.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5099/CARACTERISTICAS_FISICOQUIMICAS_JUAREZ_DIAZ_JOSE_MIGUEL.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
35. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la Investigación. 6ta ed. México D.F.: McGraw-Hill Education; 2014.
36. Zhang QW, Lin LG, Ye WC. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med [Internet]*. 2018 Apr; 13(20): 1-26. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5905184/pdf/13020_2018_Article_177.pdf
37. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. Disponible en: <http://file.qums.ac.ir/repository/mmrc/CLSI-2018-M100-S28.pdf>
38. Wayne D. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 4ta. edición México: Limusa, 2006.

39. Casado I. Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor. [Tesis de Título]. Madrid, España: Universidad Politécnica de Madrid. 2018. Disponible en: http://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf
40. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
41. Uddhav SB, Sivagurunathan MS. Antibiotic susceptibility testing: A review on current practices. Int J Pharm [Internet]. 2017; 6(3): 11-17. Disponible en: http://www.pharmascholars.com/articles_pdfs/issues/2124638525_0603021657.pdf?title=Antibiotic%20susceptibility%20testing:%20a%20review%20on%20current%20practices
42. Organización Mundial de la Salud – OMS. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ra. Edición. Ginebra: Ediciones de la OMS; 2015. Disponible en: http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf

ANEXOS

Anexo 01: Matriz de operacionalización de variables

Tabla 1. Matriz de operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Agente antibacteriano	<p>Agente antibacteriano no farmacológico: Aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus L.</i> (34)</p> <p>Agente antibacteriano farmacológico: Nitrofurantoina. (25)</p>	<p>Preparación del aceite esencial al 100%, 75%, 50% y 25% para identificar la susceptibilidad antibacteriana de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina, mediante el método de Kirby-Bauer. (41)</p> <p>Disco de Sensibilidad con 300µg de Nitrofurantoina.</p> <p>Preparar medio de cultivo de Agar Mueller-Hinton, para establecer la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus L.</i>, mediante el método de difusión en agar (Kirby-Bauer).</p>	<p>Componentes fitoquímicos del aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus L.</i>:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Polifenoles totales -Flavonoides -Antocianinas 	Cualitativa nominal
Actividad antibacteriana	<p>Efecto bactericida o bacteriostático ejercido por un agente antibacteriano (físico, químico o biológico), mediante un determinado método. (35)</p>	<p>Medición de las zonas de inhibición, después de la ejecución del método de susceptibilidad bacteriana de Kirby Bauer, tomando como referencia el Estándar M100 del CLSI. (37)</p>	<p>Zonas de inhibición:</p> <p>Sensible: > 15 mm</p> <p>Resistente: ≤ 15 mm</p>	Cualitativa nominal

Anexo 02: Instrumento de recolección de datos

Ficha de recolección de datos

Zonas de inhibición (mm)					
Repetición	Aceite de <i>Eucalyptus globulus L</i>				Nitrofurantoina
	100%	75%	50%	25%	
1	9	8	6	6	28
2	9	7	6	6	28
3	10	8	6	6	29
4	9	8	6	6	28
5	10	8	6	6	28
6	9	8	6	6	28
7	9	7	6	6	30
8	9	8	6	6	29
9	9	8	6	6	29
10	10	8	6	6	28

Anexo 3: Diseño de investigación

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

En donde:

RG₁₋₅: Grupos de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina.

X₁: Aceite de *Eucalyptus globulus* al 100%

X₂: Aceite de *Eucalyptus globulus* al 75%

X₃: Aceite de *Eucalyptus globulus* al 50%

X₄: Control negativo (Suero fisiológico)

X₅: Control positivo (Nitrofurantoina)

O₁₋₅: Efecto antibacteriano (halo inhibitorio).

Anexo 4: Determinación del tamaño de muestra

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}^1 - \bar{X}^2)^2}$$

Dónde:

$Z_{\alpha/2} = 1,96$ (Para un nivel de confianza del 95%) $Z_{\beta} = 0,84$ (para una potencia de prueba del 80%)

$$\bar{X}^1 = 17,3^{17}$$

$$\bar{X}^2 = 14,37^{15}$$

$$\sigma^2 = 1,7^{14}$$

Figura 2. Fórmula para comparación de dos medias.

- Reemplazando y operacionalizando: **n = 5,2785**

Observación: Debe realizarse 5,2785 repeticiones como mínimo para cada prueba de susceptibilidad. Por ello, en el presente trabajo de investigación se realizarán 10 repeticiones por cada prueba.

Anexo 5: Procedimiento

A. Obtención del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* L. "Eucalipto"

Las hojas frescas de *Eucalyptus globulus* L. "Eucalipto" se obtuvieron de la ciudad de Cajamarca, en una cantidad de 10 kg aproximadamente y se trasladaron a laboratorio de Microbiología de la universidad Cesar Vallejo de Trujillo en donde se seleccionaron las muestras de hojas sin indicios de alteraciones. Se lavaron con agua destilada clorada, se dejaron orear sobre papel absorbente estéril.



Los aceites de *Eucalyptus globulus* L. "Eucalipto" se obtuvieron por el método de destilación por arrastre de vapor; para ello, se se colocaron las hojas en el matraz de destilación, se le adiciono 200 ml de agua destilada, se calentó hasta la ebullición y el aceite extraído fue arrastrado junto con el vapor de agua hacia un condensador, permaneció así por 15 minutos. Después se colocó en un frasco de vidrio ámbar estéril y se reservó a temperatura de refrigeración hasta su utilización.

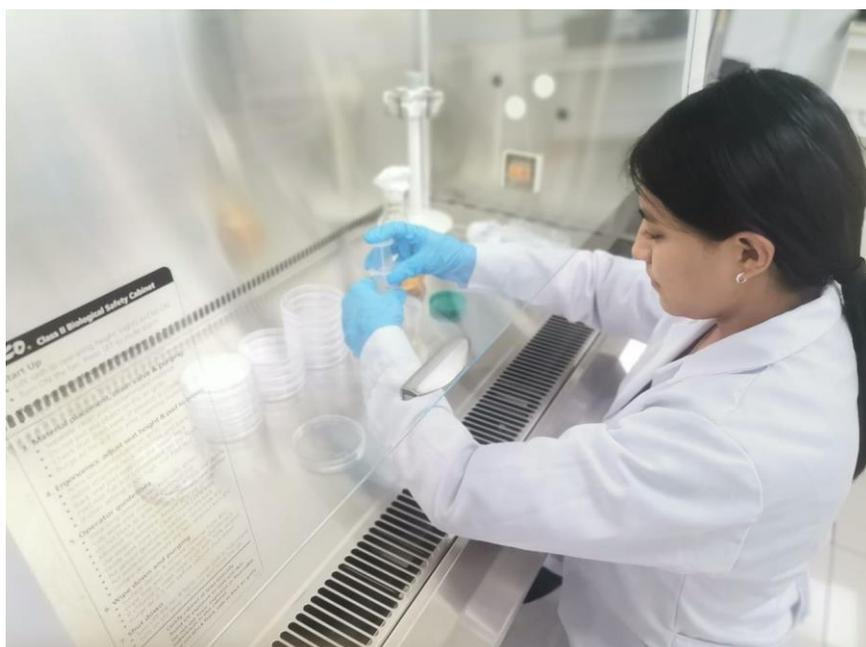


B. Cultivo de *Staphylococcus aureus* y preparación del inóculo

Se reactivó las cepas de *Staphylococcus aureus*, sembrando en agar BHI, y se incubó en la estufa a 37°C por 24 horas. Para la prueba de susceptibilidad, se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 13 placas Petri (200 ml aprox.) y se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió 18-20 ml por cada placa Petri estériles de plástico desechables de 90x15mm, y se dejó reposar hasta que solidifique completamente.



El inóculo se preparó colocando 3 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó suficientes colonias de *Staphylococcus aureus* (cultivo menor de 24 horas), de tal modo que se observe una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aproximadamente).



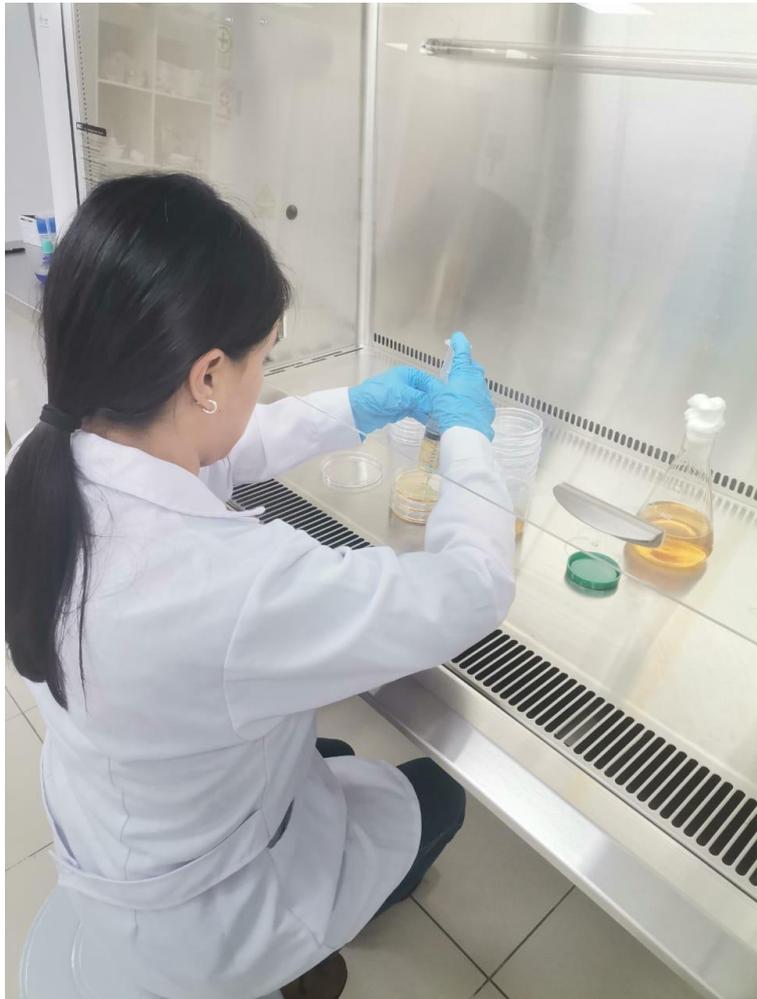
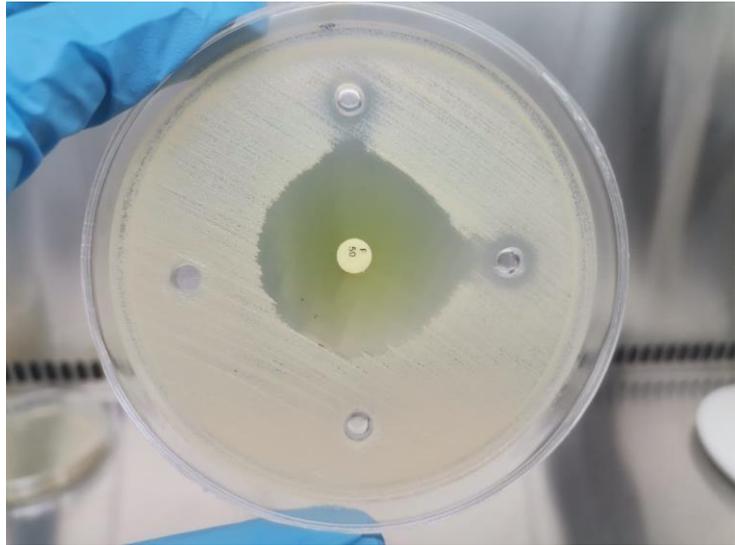
C. Evaluación del efecto antibacteriano por el método de difusión con pozos en agar

Se evaluó mediante la prueba de susceptibilidad utilizando el método de difusión con pozos en agar, según los pasos siguientes:

1. Se sembró *Staphylococcus aureus*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo de las Placas Petri; de tal modo, que el microorganismo quedará como unacapa en toda la superficie.
2. Se hicieron 4 pozos en el medio de cultivo de cada placa recién sembrada, mediante punzonado con un sacabocado estéril de seis milímetros de diámetro.
3. Al primer pozo, se agregó 50 µl de aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* al 100%.
4. Al segundo pozo, se agregó 50 µl de aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* al 75%.
5. Al tercer pozo, se agregó 50 µl de aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* al 50%.
6. Al cuarto pozo, se agregó 50 µl de aceite esencial de *Eucalyptus globulus L.* al 25%.
7. Al quinto pozo, se agregó 50 µl de DMSO (control negativo).
8. Se colocó el disco de Nitrofurantoina 5µg (control positivo).

Posteriormente, se dejó en reposo por 15 min y, después, se incubó las placas de forma invertida en la estufa a 37°C por 20-24 horas.

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. Para ello, se interpretará como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.



Anexo 06: Declaratoria de autenticidad



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, MARCOS AUGUSTO ESPINOLA SANCHEZ, docente de la FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD de la escuela profesional de MEDICINA de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - TRUJILLO, asesor de Tesis titulada: "Actividad antibacteriana de los componentes fitoquímicos foliares de Eucalyptus globulus L. sobre Staphylococcus aureus resistente a meticilina, estudio in vitro.", cuyo autor es RUIZ CARHUANAMBO BRISSET PAOLA, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 19.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

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

TRUJILLO, 20 de Diciembre del 2023

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
MARCOS AUGUSTO ESPINOLA SANCHEZ DNI: 43525806 ORCID: 0002-1005-5158	Firmado electrónicamente por: MESPINOLASA el 27-12-2023 08:41:27

Código documento Trilce: TRI - 0702159

Anexo 07: Constancia de ejecución de proyecto



“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

El que suscribe, Asesor de tesis de la estudiante de Medicina Brisset Paola Ruiz Carhuanambo, da fe y deja constancia que ha utilizado las instalaciones y equipamiento del Laboratorio de Investigación de la Escuela de Medicina de la Universidad César Vallejo-Trujillo; en donde ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado “Actividad antibacteriana de los componentes fitoquímicos foliares de *Eucalyptus globulus* L. sobre *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, estudio in vitro”, durante los días 18 al 29 de noviembre de 2023, bajo la orientación del Microbiólogo Juan Miguel Alva Sevilla y supervisión del suscrito.

Se expide la presente a solicitud de la estudiante; y sólo tiene valor y puede ser utilizado para fines estrictamente de validación de los resultados obtenidos en los ensayos de laboratorio.

Trujillo, 12 diciembre de 2023.

Firma y sello:

CBP: 6951



Jaime A. Polo Gamboa
MICROBIOLOGO
CBP 6951



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

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

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, MARCOS AUGUSTO ESPINOLA SANCHEZ, docente de la FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD de la escuela profesional de MEDICINA de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - TRUJILLO, asesor de Tesis titulada: "Actividad antibacteriana de los componentes fitoquímicos foliares de Eucalyptus globulus L. sobre Staphylococcus aureus resistente a meticilina, estudio in vitro.", cuyo autor es RUIZ CARHUANAMBO BRISSET PAOLA, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 19.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

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

TRUJILLO, 20 de Diciembre del 2023

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
MARCOS AUGUSTO ESPINOLA SANCHEZ DNI: 43525806 ORCID: 0002-1005-5158	Firmado electrónicamente por: MESPINOLASA el 27-12-2023 08:41:27

Código documento Trilce: TRI - 0702159