



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA

TÍTULO

Efecto antibacteriano del *Eucalyptus globulus* sobre *Escherichia coli* ATCC
25922 comparado con Cotrimoxazol

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

AUTOR

QUISPE RUÍZ, EDGARDO JAVIER

ASESOR

DR. MARCO ANTONIO ALFARO ANGULO

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

TRUJILLO – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A **Dios** por ser quien siempre ilumina mi camino, siendo mi guía, dándome la fortaleza necesaria, en el cual confío y tengo fe que incondicionalmente me brinda sabiduría en cada paso que doy.

A mi **padre Jesús Quispe Ramírez** que pese a su pérdida, mantengo su recuerdo y sus consejos que siempre están presente en mi mente y corazón para ser una persona de bien.

A mi **madre María Lucila Ruíz Negreiros**, por ser una gran mujer y guiarme a lo largo de toda mí etapa de estudiante, convirtiéndose en uno de mis motivos de superación profesional.

A mis **hermanas Marianella, Nohelia y Gressia Quispe Ruiz** por ser ejemplos a seguir y siempre estar en mis logros y en toda circunstancia de mi vida, agradeciéndoles por todo el apoyo incondicional.

Quispe Ruiz Edgardo Javier

AGRADECIMIENTO

A la **Universidad Cesar Vallejo** por ser la institución quien permitió, desarrollar y cultivar mi lado profesional todos los años académicos trazados.

A **mis maestros** que gracias a los conocimientos obtenidos con estudio y experiencia, han pasado en mí, dichos conocimientos para desarrollarme satisfactoriamente en el ámbito profesional y laboral para el futuro venidero.

A mi Asesor **Marco Antonio Alfaro Angulo** por su orientación, dedicación, tiempo y experiencia en el campo profesional para realizar con éxito este trabajo de investigación.

Y a todas las demás personas que creyeron en mí y aportaron tanto conocimiento y experiencia, para finalizar con éxito esta investigación.

Quispe Ruiz Edgardo Javier

PRESENTACION

Señores miembros del jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Privada Cesar Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: “Efecto antibacteriano del *Eucalyptus globulus* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con Cotrimoxazol”.

El presente trabajo de investigación está dividido en ocho capítulos: en el capítulo I se expone la introducción en donde está inserto la realidad problemática, trabajos previos, teorías relacionadas al tema, la formulación del problema y la justificación del estudio. En el capítulo II, se plantea el método, que contiene el diseño de investigación, variables, operacionalización, población y muestra, técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad, métodos de análisis de datos y aspectos éticos. En el capítulo III se exponen los resultados de la investigación. En el capítulo IV, se plantea la discusión de la investigación. En el capítulo V, las conclusiones de tesis. En el capítulo VI, se da a conocer las recomendaciones de la investigación. En el capítulo VII se manifiesta la propuesta y finalmente en el capítulo VIII se manifiesta las referencias bibliográficas.

El objetivo del presente trabajo de investigación es evaluar el efecto antibacteriano del *Eucalyptus globulus* sobre *Escherichia coli*, y así aportar con el conocimiento sobre el tratamiento alternativo contra esta bacteria.

Someto a vuestra consideración y espero cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título profesional de Médico Cirujano.

Quispe Ruiz Edgardo Javier

ÍNDICE

Pagina del jurado	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Declaratoria de autenticidad	iv
Presentacion	v
Resumen	vii
Abstract	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Realidad problemática	1
1.2. Trabajos previos	2
1.3. Teorías relacionadas al tema	5
1.4. Formulación del problema	7
1.5. Justificación del estudio	8
1.6. Hipótesis	8
1.7. Objetivos	8
II. MÉTODO	9
2.1. Diseño de investigación:	9
2.2. Variables y operacionalización	9
2.3. Población y muestra	10
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	11
2.5. Métodos de análisis de datos	12
2.6. Aspectos éticos	12
III. RESULTADOS	13
IV. DISCUSION	15
V. CONCLUSIONES	17
VI. RECOMENDACIONES	18
VII. REFERENCIAS	19
VIII. ANEXOS	24

RESUMEN

El propósito del presente trabajo es evaluar el efecto antibacteriano del *Eucalyptus globulus* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con cotrimoxazol. El aceite esencial se sacó de las hojas de la planta. Se realizó un estudio experimental, en donde se utilizó 10 placas Petri cuyo contenido estuvo con cepas de *Escherichia coli*, aceite esencial de Eucalipto al 75 y 100%, y cotrimoxazol; se realizó 30 observaciones. La actividad antibacteriana se determinó por el método de difusión o Kirby Bauer, para conocer el grado de sensibilidad según el diámetro del halo de inhibición.

Los resultados indicaron que el aceite esencial de Eucalipto a las dos concentraciones 75% y 100%, presentó efecto inhibitorio con halo de inhibición de 16.8 mm y 20.9 mm respectivamente, pero no superior a Cotrimoxazol que obtuvo 29.9 mm, y una diferencia de 13.1 mm y 9 mm con ambas concentraciones respectivamente.

Se concluye El *Eucalyptus globulus* tiene menor efecto antibacteriano que el cotrimoxazol sobre la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922

Palabras clave: efecto antibacteriano, aceite esencial, *Eucalyptus globulus*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The purpose of this work is to evaluate the antibacterial effect of *Eucalyptus globulus* on *Escherichia coli* ATCC 25922 compared with cotrimoxazole. The essential oil was removed from the leaves of the plant. An experimental study was carried out, where 10 petri dishes whose content was with strains of *Escherichia coli*, 75 and 100% *Eucalyptus* essential oil, and cotrimoxazole were used; 30 observations were made. The antibacterial activity was determined by the diffusion method or Kirby Bauer, to know the degree of sensitivity according to the diameter of the inhibition halo.

The results indicated that the essential oil of *Eucalyptus* at the two concentrations 75% and 100%, had inhibitory effect with inhibition halo of 16.8 mm and 20.9 mm respectively, but not superior to Cotrimoxazol that obtained 29.9 mm, and a difference of 13.1 mm and 9 mm with both concentrations respectively.

It is concluded that *Eucalyptus globulus* has less antibacterial effect than cotrimoxazole on the strain of *Escherichia coli* ATCC 25922

Keywords: antibacterial effect, essential oil, *Eucalyptus globulus*, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Realidad problemática

Escherichia coli (E. Coli) es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia Enterobacteriaceae, que en la actualidad está desarrollando mecanismos de resistencia antimicrobiana frente a los antibióticos de última generación, que puede vivir en diferentes ambientes, se encuentran en el suelo y el agua, así como en los organismos vivos, incluidas las plantas, las personas y los animales. En algunos casos, las bacterias son perjudiciales para los seres humanos ya que causan infecciones e incluso mortal si no es tratada a tiempo. Es uno de los microorganismos más frecuentes involucrados en la sepsis por Gramnegativos y en el shock inducido por endotoxinas, así mismo provoca infecciones en el tracto urinario (1,2)

Existen diversos tratamientos farmacológicos para hacer frente a las cepas de E. coli, sin embargo estas muestran resistencia a antibióticos como la ampicilina, cefalexina, trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacino, cefalosporinas, aminoglucósidos, penicilinas sintéticas etc. (2, 3) . Por lo que, como una alternativa terapéutica para contrarrestar cepas de *Escherichia coli* se cuenta con un recurso natural, el *Eucalyptus globulus* Labill “Eucalipto”, que dentro de su composición química tiene una gran variedad de propiedades medicinales que diversos estudios corroboran las propiedades antibacteriana que presenta el aceite esencial de esta planta contra la *Escherichia Coli* (4)

Según Mejía J. et al. (5) Uno de los métodos más conocidos, usados y aceptados en el caso de la medicina complementaria y/o alternativa es la fitoterapia y en el caso de la medicina tradicional, el uso de plantas medicinales como *Eucalyptus globulus*.

En Colombia se realizó un estudio sobre la actividad antibacteriana del aceite esencial de la especie *Eucalyptus globulus*, en el que se concluyó que el aceite esencial obtenido en una concentración del 40%, demostró eficacia frente a la cepa *E. coli*. (6)

Así mismo, en otro estudio realizado para evaluar la capacidad antibacteriana de aceites esenciales, entre ellos del eucalipto, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922; los resultados obtenidos demostraron que el aceite esencial de eucalipto, tiene mayor capacidad inhibitoria frente a *Escherichia coli*. (7)

En nuestro país en un estudio realizado en Iquitos, determinaron que los resultados obtenidos en investigaciones internacionales, son positivos en cuanto al efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* frente a cepas de *Escherichia coli*, en dicha investigación se obtuvo una actividad antimicrobiana > a 54.7% en una concentración > de 600 mg/ml de dicho aceite y una Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de 16 mg/ml, frente al mismo microorganismo. (8)

1.2. Trabajos previos

Argote F. et al (Colombia, 2017), evaluaron la actividad antibacteriana de diferentes aceites esenciales del eucalipto, limón y mandarina; mediante un estudio experimental la población en la cual se realizó este estudio fue *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Escherichia coli* (ATCC 25922). El aceite se obtuvo por el método de hidrodestilación. La concentración mínima inhibitoria y más relevante fue del aceite esencial de eucalipto con 13,2 frente a *E. Coli* con una diferencia significativa con prueba Tukey a $P < 0.05$. Dentro de los resultados se determinaron que el aceite esencial de estas plantas tiene capacidad inhibitoria sobre las bacterias utilizadas. (7)

Siqueira V. et al (Brasil, 2015), evaluaron la actividad antibacteriana del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* in vitro, contra las cepas de *Escherichia Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus*; *Candida albicans*; *Proteus vulgaris* y *Samonella sp.* Utilizaron difusión de agar y medición del diámetro de la zona de inhibición de dichas sustancias, se utilizó clorhexidina en concentración 0,5%, como control. Concluyeron que la actividad antimicrobiana del aceite esencial del *Eucalipto globulus* presentó una inhibición mayor que la clorhexidina contra *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*; *Proteus vulgaris* y *Candida albicans*. (9)

Adame R. et al (México, 2014), utilizaron el extracto del aceite esencial de la hoja de *Eucalytus globulus* para determinar su utilización como antiséptico para inhibir o erradicar el crecimiento microbiano, para esto realizaron un estudio experimental en donde obtuvieron el aceite esencial por medio de 2 tipos de extracción, la primera fue de extracción simple con solvente polar (agua) y el segundo con etanol (solvente no polar); para evaluar el espectro antimicrobiano se utilizaron bacterias Gram positivas y Gram negativas (*E. Coli*), así como *Candida Albicans*. La actividad antimicrobiana se determinó por el método de difusión Kirby Bauer. Se utilizó el aceite de las hojas de eucalipto adicionando un gel antibacterial, dando como resultado: gel antibacterial solo

con *E. Coli* (10mm), gel antibacterial con el aceite esencial de eucalipto (13mm). Concluyeron que el aceite tiene actividad antibacteriana como antifúngica, gracias sus componentes químicos, que ocasionan la alteración de la permeabilidad y desnaturalización de las proteínas de las bacterias. (10)

Bachir R. et al (Algeria, 2012), examinaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas del *Eucalytus globulus*, para la extracción del aceite se utilizó el método de hidrodestilación. Para evaluar la efectividad del aceite esencial utilizaron las cepas de *Echericha coli* y *Staphylococcus aureus*, utilizando métodos de difusión de disco de agar y de caldo de dilución. Se llegó a determinar que el aceite esencial estudiado tiene actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram negativas como lo es *E. coli* (8 a 26 mm), con 100% de concentración de aceite esencial de *Eucalyptus Globulus* y el más bajo para *Staphylococcus aureus*; en la investigación concluyeron que el aceite esencial de las hojas del eucalipto podría aprovecharse como antibiótico natural para el tratamiento de muchas enfermedades infecciosas. (11)

Damjanovic-Vratnica B. et al (Serbia, 2011), determinaron la composición química del aceite esencial del *Eucalyptus globulus*, en este estudio experimental se analizó con cromatografía-espectrometría de masas en el cual se evidencio frente a varias cepas de microorganismos incluido *E. Coli*. La lectura de los resultados se realizó midiendo diámetros de las zonas de inhibición, también se utilizaron discos antibióticos de referencia para comparar las actividades antimicrobianas, tales como ampicilina, ceftriaxona, ofloxacina, eritromicina, amikacina, tetraciclina y nistatina. Los resultados de zona de inhibición del aceite esencial del Eucalipto contra *E coli* fue de 23, 28,32, 36 y 47 mm a los a los 5, 10, 15, 20 y 30 min respectivamente; la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) que se obtuvo fue la menor frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonela infantis* (3,13 mg / ml), por el contrario más alta fue contra *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y *Streptococcus pyogenes* (0,09 mg / ml). Determinaron que la actividad antimicrobiana del esencial aceite de *E. globulus* se debe a la presencia de una mezcla de monoterpenos. (12)

Yáñez X. et al (Colombia, 2012), utilizaron los aceites esenciales del *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus camaldulensis*; para ello realizaron un estudio experimental y emplearon el método de arrastre con vapor junto con la técnica de difusión en disco y microdilución en caldo en donde se encontró actividad contra cepas de: *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus subtilis* y *E. faecalis*; y se determinó que

E. globulus es el que mayor efecto antibacterial presenta, obteniéndose menor concentración mínima inhibitoria frente a las bacterias Gram-positivas. (6)

Mulyaningsih S. et al (Alemania, 2011), Examinaron la actividad antimicrobiana del aceite de la fruta de *Eucalyptus globulus* (FEG) y hoja de *Eucalyptus globulus* (HEG), *Eucalyptus radiata* Sieber ex DC (ERS) y *Eucalyptus citriodora* Hook (ECH) frente a bacterias multidrogresistente (MDR). Además se determinó la relación entre la composición química y las correspondientes propiedades antimicrobianas. Realizaron un estudio experimental empleando el método de microdilución de caldo. Los resultados que obtuvieron fue que el aceite de la FEG ejerció la actividad antimicrobiana más pronunciada contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (Concentración mínima inhibitoria ~ 250 µg / ml). La actividad de los aceites resulto en el siguiente orden FEG> HEC> ERS ~ ECH, sin embargo, todos los aceites componentes eran apenas activos frente a las bacterias Gram-negativas de MDR. Se encontró que el 1,8-cineol fue el más abundante de los componentes químicos y el aromadendreno es el activo antimicrobiano, seguido de citronelol, citronelal y 1,8-cineol. (13)

Mendez K. et al (Perú, 2016), evaluó el sinergismo antibacteriano de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* contra *Escherichia coli*. El método que utilizo fue la destilación por arrastre de vapor. La cepa bacteriana se expuso a concentraciones de, 5%, 25%, 50%, 75%, 100% y se utilizó el método de difusión de discos modificado para obtener la concentración mínima bactericida (CMB), utilizando a Ciprofloxacino como control positivo y como control negativo a Tween 80. Como resultado final se obtuvo que la CMB es sensible a partir de la concentración 75% para los dos aceites estudiados. Concluyo que hay efecto antibacteriano de los aceites de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli*. (14)

Acho A. et al (Perú, 2014), determinaron la actividad antibacteriana de los extractos acuosos liofilizados de hojas de *Eucalyptus globulus* Labill (eucalipto) y *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Canela) frente a *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Utilizaron el método de Kirby Bauer para determinar el tamaño del halo de inhibición y también utilizaron el método de Macrodilución en medio líquido para constatar la Concentración Mínima Inhibitoria. Los resultados que se obtuvieron para *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Escherichia coli* a concentraciones de 600, 700 y 800 mg/ml, fue de 54.7 %, 57.1 % y 57.1 % de actividad, respectivamente. En la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), para el *Eucalyptus*

globulus Labill fue de 16 mg/ml, el cual también concluyeron que la CMI del eucalipto es más significativo que la canela. (8)

Alvarado J. et al. (Perú, 2014), analizaron el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de *Eucalyptus globulus Labill* contra cepas de *Staphylococcus aureus*, utilizaron el método de difusión de Kirby Bauer, en el cual se emplearon concentraciones de extracto a 100, 200, 300, 400 y 500 mg/ml utilizadas contra cepas de *Staphylococcus aureus*. Determinaron que la cepa más sensible fue de *Staphylococcus aureus*, por el contrario *Staphylococcus aureus* mostró mayor resistencia al extracto. Concluyeron que el extracto hidroalcohólico de *Eucalyptus globulus L.* tiene efecto inhibitorio frente cepas de *Staphylococcus aureus*, y que el efecto inhibitorio mayor fue con la concentración de 500mg/ml, con un halo de inhibición promedio mayor a 19 mm. (15)

Morales P. (Perú, 2014), analizó la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* a diferentes concentraciones frente a *Enterococcus faecalis*, comparando con hipoclorito de sodio a concentración 2.5%. Utilizó la técnica por difusión en agar en el que se formó 5 grupos de experimentación, 4 fueron con aceite esencial del aceite en estudio y el quinto grupo fue el control con hipoclorito de sodio. Se concluyó que el aceite esencial del *Eucalyptus globulus* en concentraciones al 75% y 100% fue más eficaz como antimicrobiano en contrastación con el grupo control. (16)

1.3. Teorías relacionadas al tema

El género *Escherichia* se compone de cinco especies, pero la más frecuente desde el punto de vista clínico es *Escherichia coli*, bacilo Gram negativo, anaerobio y móvil, formador de esporas, que está asociada a un sin número de enfermedades, como gastroenteritis, que son frecuentes tanto como las infecciones del tracto urinario y las meningitis que son menos frecuente, así como la mayoría de las infecciones nosocomiales. La gran variedad de cepas capaces de producir patogenicidad se encuentra reflejada en la diversidad antigénica de esta especie. Algunos serogrupos antigénicos específicos se asocian a mayor virulencia. (17)

La bacteria se aloja normalmente en el intestino grueso, las cepas de la *Escherichia coli* Enteropatógeno (más frecuentes) causan diarreas, deshidratación y en su complicación grave puede provocar un Síndrome Urémico Hemolítico colitis hemorrágica y la Púrpura Trombótica Trombocitopénica; lo que constituye un problema de salud grave, y más si no responde al tratamiento implementado ya en su estructura esta bacteria presenta la

enzima beta- lactamasa, según recopilación de artículos científicos, posee un índice de resistencia a los fármacos que empíricamente se utilizan (penicilinas y cefalosporinas) (2)

La Organización Mundial de la Salud (18) sostiene que la *Escherichia coli* es una de las bacterias que presenta mayor resistencia bacteriana en todo el mundo y principalmente a los medicamentos más utilizadas en el tratamiento de las infecciones urinarias y otras patologías (las fluoroquinolonas, trimetropin-sulfametazol, etc). En muchas partes del mundo hay países en los que este tratamiento es ineficaz entre un 8% y un 65 % de los pacientes.

Hay una gran variedad de fármacos que se pueden administrar frente a una infección por *Escherichia coli*, uno de estos es el cotrimoxazol que es la combinación de trimetropin (diaminopiridina) con sulfametaxol (sulfonamida), esta combinación es sinérgica y potencia la actividad antibacteriana, este fármaco es muy utilizado en infecciones del tracto urinario ya que es eficaz contra bacterias implicadas en esta enfermedad (*Escherichia coli* y otras), si bien es cierto la resistencia bacteriana a este fármaco es mayor (30%) aún se utiliza principalmente en infección del tracto urinario no complicada, porque es de bajo costo y con efectos adversos menos perjudiciales que otros fármacos.(19)

En la medicina alternativa se utiliza *Eucalyptus globulus* familia de las Mirtáceas, del género Eucalytus y de la especie Globulus, es un árbol oriundo de los bosques australianos, de madera dura y dominante, los terpenos dan el olor de esencia a los eucaliptos, en las industrias de la madera son muy importantes y tienen que ver mucho con la ecología mundial. Tiene gran adaptabilidad climática, pero mayormente crece con mayor facilidad en suelos de clima templado y moderado o en climas de alturas elevadas con temperaturas frías en áreas tropicales (20,21)

Dentro de su composición química sobresale su contenido de aceite esencial cuyo principal constituyente es 1,8-cineol o eucaliptol seguido de cripton, α -pineno, p-cimeno, α -terpineol, trans-pinocarveol, phellandral, cuminal, globulol, limoneno, aromadendreno, spathulenol y terpineno-4-ol. (22). El 1,8-cineol es el principal componente del aceite esencial del eucalipto es el que posee propiedades antiinflamatoria y antimicrobiana contra bacterias Gramnegativas y Gram-positivas. El mecanismo de acción de los componentes del aceite esencial depende de su composición química y la ubicación de uno o más grupos funcionales en las moléculas presentes en ellos. Se

propone que el daño de la membrana sea el principal mecanismo de acción. La solubilidad de los aceites esenciales en la bicapa de fosfolípidos de las membranas celulares parece tener un papel importante en su actividad antimicrobiana. (23)

El aceite esencial de eucalipto posee propiedades anti-microbianas y antiinflamatorias atribuibles al 1,8-cineol, que tiene propiedades bacteriostáticas, bactericidas además fungicidas, también presenta acción contra los virus, que se evidencia en la descongestión de las vías respiratorias eliminando la producción de secreción bronquial (propiedad expectorante); gracias a su composición rica en taninos que a través de su degradación, lo hace como ácido elálgico el cual es un compuesto bioactivo actuando como antioxidante.(24,10,12)

Cualquiera que sea su vía de administración el aceite esencial se elimina en gran parte por vía pulmonar, lo que justifica su interés en el caso de infecciones rinofaríngeas y del tracto bronco pulmonar, gracias a su acción antiséptica detiene el crecimiento de microorganismos lesivos para el aparato respiratorio como lo es la candida, y la tuberculosis. El aceite esencial de eucalipto en cuanto a su administración no se debe de dar vía oral ni aplicar sobre la piel como tópico sin antes disolverlo ya que puede causar dolor e inflamación de la mucosa.(25)

1.4. Formulación del problema

¿Cuál es el efecto antibacteriano del *Eucalyptus globulus* sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con cotrimoxazol?

1.5. Justificación del estudio

En la actualidad uno de los problemas importantes en salud y que tienen importante implicancia en el tratamiento médico son las enfermedades causadas por cepas de *Escherichia coli*. Es por ello que el presente trabajo va encaminado a motivar la investigación nacional, a través de tratamientos alternativos o coadyuvantes, como lo es el uso de aceite esencial del *Eucalyptus globulus*; que puedan generar un menor costo y lo más importante, tienen menos efectos tóxicos en contraste con productos realizados con químicos y que en futuro la eficacia se pueda evidenciar en personas.

1.6. Hipótesis

H1: El *Eucalyptus globulus* tiene mayor efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con cotrimoxazol.

H0: El *Eucalyptus globulus* tiene menor efecto antibacteriano sobre cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con cotrimoxazol.

1.7. Objetivos

1.7.1 Objetivo general

Evaluar el efecto antibacteriano del *Eucalyptus globulus* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con cotrimoxazol.

1.7.2 Objetivo específico

Establecer el efecto antibacteriano del *Eucalyptus globulus* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Establecer el efecto antibacteriano del cotrimoxazol sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Determinar a qué concentración el aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, tiene efecto antibacteriano para *Escherichia coli* ATCC 25922

II. MÉTODO

2.1. Diseño de investigación:

Experimental, con repeticiones múltiples con post prueba

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3

Donde:

R: Asignación al Azar

G₁₋₂: Grupos de *Escherichia coli* ATCC 25922 (colonias)

X₁: Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (75%)

X₂: Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (100%)

X₃: cotrimoxazol 25µg.

O₁₋₃: observaciones de crecimiento bacteriano (zona de inhibición)

2.2. Variables y operacionalización

Variable Independiente: Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y cotrimoxazol 25µg

Variable Dependiente: Efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 25922

Operacionalización

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i> y cotrimoxazol	Aceite esencial <i>Eucalyptus globulus</i> : liquido proveniente de las hojas del <i>Eucalyptus Globulus</i> de olor	Concentración del aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i> (liquido oleoso provenientes de las hojas del <i>E. Globulus</i>) a la concentración de : Aceite al 75% Aceite al 100 %	Aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i> y cotrimoxazol	Cualitativa nominal

	característico (17) Cotrimoxazol: es un antibiótico de la suma del trimetropin más el sulfametaxol.	Concentración de cotrimoxazol en microgramos (25µg)		
efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Es el aumento del halo de inhibición. (10)	Se considera efecto si el aumento del halo de inhibición es de 17mm (11)	Efecto antibacteriano	Cualitativa nominal

2.3. Población y muestra

La población consistió en las cepas de *Escherichia coli* cultivadas en el laboratorio de clínico de microbiología San José.

La muestra lo conformaron las Unidades Formadoras de Colonias de las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 en las placas Petri, que cumplan con los criterios de selección.

Se Usaron 10 placas Petri y se realizaron 30 observaciones

La unidad de análisis estuvieron constituidas por cada una de las placas Petri con la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Criterios de inclusión:

- Placas con siembra adecuada de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Placas con el contenido de agar Mueller Hinton-sangre y el contenido del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y que presenten inhibición o no del crecimiento bacteriano.

Criterios de exclusión:

- Se excluyeron las placas que se hayan contaminado con otros microorganismos.

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

La técnica es la observación directa. Se utilizó una ficha para registrar los datos observados (ANEXO 1)

Una vez conseguida la autorización se procedió a recolectar las hojas de *Eucalyptus globulus*, cultivados en el sector “las cocas del centro poblado Quirihuac del distrito Laredo, provincia de Trujillo. La identificación taxonómica de las hojas de eucalipto se realizó comparando las muestras determinadas y registradas en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo. Esta planta será llevada al laboratorio clínico de microbiología San José donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones de donde se consideró los criterios del clinical and laboratory Estándars Intitute- CLSI (26) ; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS). (6,7)

El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* se obtuvo por el método de arrastre de vapor de agua; para ello, en un balón de 2 L se colocó 1,5 L de agua destilada y en un balón de 4 L se colocó la MS hasta que llenó las 3/4 partes del balón. Ambos balones se taparon herméticamente y estuvieron conectados a través de un ducto. Al mismo tiempo el balón con la MS estuvo conectado a un condensador recto (refrigerante), el cual desembocó en un embudo decantador tipo pera. De tal modo que, el Balón con agua se calentó con una cocina eléctrica y el vapor de agua pasó a través del ducto hacia el Balón con la MS y arrastró los componentes fitoquímicos (incluido los lípidos). Este vapor se condujo hacia el condensador en donde se convirtió en líquido que fue recepcionado por el decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 2 horas. De este modo, se obtuvo el Aceite Esencial (AE) considerado al 100%; el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar y se reservó a 4°C hasta su utilización. ANEXO 2 (6)

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente. ANEXO 2 (26)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar (27) en el que se empleó discos de papel filtro, los cuales estuvieron impregnados con el aceite esencial de *Eucalytus globulus* al 75% y 100%, para evaluar su efecto; estas se pusieron sobre las siembras de *E. coli* en las placas Petri cultivadas y se interpretaron los resultados en 24 y 48 hrs por reconocimiento visual de cada placa, calculando posteriormente los halos de inhibición. Se empleó como control positivo círculos de cotrimoxazol, 25 ug/ml, patentado por SAVANT Pharma S.A., marca COTRIMOX. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100. (26) (ANEXO 3)

Validación y confiabilidad del instrumento: no aplica

2.4. Métodos de análisis de datos

La información que se recolectó, fue analizada en el programa estadístico SPSS versión 25.0 para Windows, se aplicó la prueba estadística ANOVA para evaluar la diferencia significativa entre los halos de inhibición, luego realizar el análisis postanova Tukey o Duncan que permitió identificar la dilución con la que se obtendrá el mayor tamaño de halo de inhibición. (29)

2.5. Aspectos éticos

El proyecto contó con el permiso del laboratorio clínico de microbiología San José, siguiendo las normas de bioseguridad dadas por el ministerio de Salud (30)

III. RESULTADOS

Tabla 1. Efecto del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Concentración	N	Promedio
100%	10	20.9
75%	10	16.8

El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 100% tiene mayor efecto antibacteriano que la concentración al 75 %.

Tabla 2 Efecto del Cotrimoxazol sobre la inhibición en *Escherichia coli* ATCC 25922

Tratamiento farmacológico	N	Promedio
Cotrimoxazol	10	29.9

Se evidencia que las cepas de *Escherichia coli* fueron sensibles a cotrimoxazol

Tabla 3a. Comparación del efecto del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, sobre la inhibición en la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	898.067	2	449.033	342.483	.000
Dentro de grupos	35.400	27	1.311		
Total	933.467	29			

Como se observa el valor de p es menor de 0.05, por lo tanto hay diferencia significativa entre las concentraciones expuestas a *Escherichia coli* ATCC 25922, y cotrimoxazol. Para determinar el mejor efecto se realiza las comparaciones múltiples de Tukey.

Tabla 3b: Comparación del efecto del aceite esencial *Eucalyptus globulus* y Cotrimoxazol.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
75 %	10	16.8000		
100 %	10		20.9000	
Cotrimoxazol	10			29.9000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos, al comparar el efecto obtenido con los 3 tratamientos, el efecto antibacteriano es el mismo en los 3 grupos, pero el que predomina es del tercer grupo (tratamiento con cotrimoxazol)

IV. DISCUSION

El presente estudio evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, y se comparó dicho efecto con cotrimoxazol, determinándose que el efecto antibacteriano del aceite de *Eucalyptus globulus* es menor que cotrimoxazol, pero si tiene efecto contra la bacteria estudiada.

Esto concuerda con resultados obtenidos por Argote F. et al. quienes hallaron susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 a los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y a otras especies (limón y mandarina). En el cual los autores dan a conocer que el eucalipto tiene mayor determinancia y mayor capacidad inhibitoria frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 (13,32), a diferencia del presente trabajo, que se utilizó halos de inhibición, encontrándose mejor resultado con aceite al 100%. (7)

Varios estudios experimentales confirman la eficacia antibacteriana del *Eucalyptus globulus*, a diferentes concentraciones; así lo demuestra el trabajo experimental de Mendez et al. quien uso concentraciones de aceite esencial de Eucalipto al 5%, 25%, 50%, 75%, 100%, utilizando la misma técnica empleada por este estudio, utilizando a ciprofloxacino que fue mayor eficaz que *Eucalyptus globulus*; en esta investigación se evidenció sensibilidad a partir del 75%, así como se demuestra en el presente trabajo. (14)

El estudio realizado por Siqueira V. et al, en Brasil (9), evidencia que en un medio de difusión agar, así como se realizó en el presente estudio, el aceite esencial tiene eficacia antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Proteus vulgaris* y *Candida albicans*.

Por otro lado Damjanovic– Vratnica B. Et al, en Serbia (12), obtuvo resultados de su similares al presente trabajo, ya que dentro de sus diámetros de inhibición que se obtuvo con *Eucalyptus globulus* frente a *Escherichia coli* fueron mayor de 23 mm, similar al promedio obtenido con una concentración al 100 %; determinó que la actividad antibacteriana del aceite esencial de la planta utilizada se debe a la presencia de monoterpenos.

En otras investigaciones no solo utilizaron el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sino otras especies como la canela, que utilizó Acho A. et al, en el Perú, en su estudio comparativo frente a diferentes bacterias como *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus*

aureus y *Escherichia coli*, con el método Kirby Bauer, en lo cual la concentración mínima inhibitoria para el *Eucalyptus globulus* fue de 16 mg/ml siendo mucho más significativo que el aceite de canela, en relación a las bacterias antes mencionadas.

La diferencia de los resultados que se obtuvieron podrían haberse dado a las condiciones ecológicas del eucalipto globulus que a pesar de este tener una gran adaptabilidad climática; podría deberse a las condiciones ecológicas en donde se cultivó la planta que se estudió en el presente trabajo, el cual se obtuvo del sector LAS COCAS en LAREDO una zona de La Libertad del Perú, a diferencia de que la planta es oriundo de Australia. (20,22)

Los estudios revisados en la presente investigación confirman los resultados obtenidos, en donde se demuestra que el aceite esencial es útil para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli*, cabe dar a conocer que a pesar de las limitaciones que el trabajo presenta, al no tener dentro de resultados concentraciones mínimas inhibitorias, y antecedentes que evidencien efecto mayor o menor que contrasten a *Eucalyptus globulus* y cotrimoxazol, pero si a antibióticos que actúan frente a *Escherichia coli*; los resultados que se han obtenido, aportan evidencia actual para el uso el aceite esencial del *Eucalyptus Globulus* como medicina alternativa, accesible en nuestra población, bajos costos y eficaz contra la bacteria estudiada.

V. CONCLUSIONES

1. El *Eucalyptus globulus* tiene menor efecto antibacteriano que el cotrimoxazol sobre la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.
2. El efecto antibacteriano de *Eucalyptus globulus* al 75% y 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 fue 16,8 y 20.9 mm de halo de inhibición respectivamente.
3. El efecto antibacteriano de cotrimoxazol sobre la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 fue de 29.9 mm halo de inhibición.
4. El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* al 75% y 100%, tiene efecto antibacteriano contra *Escherichia coli* ATCC 25922 en ambas concentraciones

VI. RECOMENDACIONES

Realizar estudios con *Eucaliptus globulus*, frente a otro tipo de bacterias que producen enfermedad en los seres humanos, contrastando con otros antibióticos.

Continuar las investigaciones con el *Eucalytus globulus* utilizando otros solventes y otros métodos de extracción para mejorar su eficacia, con el objetivo de considerarlo en medicina alternativa.

Se recomienda que la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Privada César Vallejo mejore su infraestructura de sus laboratorios para así realizar investigación con otro tipo de extracción en cuanto a aceites esenciales.

VII.REFERENCIAS

1. Shannon D. Manning, Ph. D. Deadly diseases and epidemics. Escherichia Coli Infections.[Internet]. New York: Chelsea House; 2010. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=abOOioRJ9ucC&lp=PP1&dq=e%20coli%20bacteria&hl=es&pg=PP1#v=onepage&q=e%20coli%20bacteria&f=false>. ISBN 13:978-1-4381-3215-0
2. Armijos B, Herrera L, Santos J, Medina A, Segura M. Resistencia de la bacteria Escherichia coli por la beta-lactamasa. Rev. Ciencia UNEMI.[Internet].2017[citado 20 Sept 2018];10(24): 65-73. Disponible en: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/559/480>. versión impresa ISSN 1390-4272.
3. Montañez R, Montenegro J., Arenas F, Vásquez R. Infección urinaria alta comunitaria por E.coli resistente a ciprofloxacino: características asociadas en pacientes de un hospital nacional en Perú. An. Fac. med. [Internet]. 2015 Oct [citado 2018 Abr 20] ; 76(4): 385-391. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832015000500009&lng=es
4. Braun L, Cohen M. Herbs & Natural Supplements.An evidence-bases guide [Internet].Australia: Churchill Livingstone; 2015. Disponible en: <https://bit.ly/2PMw8d8>.
5. Mejía Gálvez J, Carrasco E, Miguel JL, Flores SA. Conocimiento, aceptación y uso de medicina tradicional peruana y de medicina alternativa/complementaria en usuarios de consulta externa en Lima Metropolitana. Rev Perú Med Integrativa. [Internet]. 2017[citado 01 Abr 2018]; 2(1):47-57. Disponible en: <https://www.rpmi.pe/ojs/index.php/RPMI/article/download/44/43>. ISSN: 2415 – 2692
6. Yáñez X, Cuadro O. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies Eucalyptus globulus y E. camaldulensis de tres zonas de Pamplona (Colombia): Revista de la Facultad de Ciencias Básicas.Colombia [internet] 2012, Mayo [citado: 18 de febrero del 2018]; 10(1):52-61. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90326398003>. ISSN: 0120-4211
7. Argote F; Suarez Z; Tobar Delgado M; Pérez J; Hurtado A. y Delgado J. Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en Staphylococcus

- aureus y Escherichia coli. Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial [Internet]. 2017[citado 01 Abr 2018]; 2(2):52-60. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v15nspe2/1692-3561-bsaa-15-spe2-00052.pdf>. ISSN - 1692-3561 • ISSN - 1909-9959.
8. Acho AG, Rodríguez I. Actividad antibacteriana in vitro de los extractos acuosos liofilizados de hojas de Eucalyptus globulus Labill y cortezas de Cinnamomum zeylanicum Blume. IMET-EsSalud, 2012. [Tesis de pregrado en Internet]. Iquitos-Perú: Universidad de la Amazonia Peruana; 2014 [Citado 23 de mayo del 2018]. 101 p. Disponible en: <https://bit.ly/2r0HJGT>.
 9. De Siqueira M, Turrini R, De Brito V. Actividad antimicrobiana del aceite de Eucalyptus globulus, xilitol y papaína: estudio piloto. Rev Esc Enferm USP.Brasil.[Internet]. 2015, Enero. [Citado el 5 de enero del 2018] 49(2):215-219. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v49n2/0080-6234-reeusp-49-02-0216.pdf>. ISSN: 25992819
 10. Adame R, Castrejón B, Ramírez A, Leyva M. Actividad antimicrobiana del eucalipto: Foro de Estudios sobre Guerrero. México [Internet]. 2014, Mayo. [Citado el 6 de marzo del 2018] 1(2):613-616. Disponible en: http://www.fesgro.mx/journal/articulos/Salud_T2_5.pdf. ISSN 2007-882X.
 11. Bachir R, Benali, M. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de las hojas de eucalipto globulus contra Escherichia coli y Staphylococcus aureus. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Argelia.[Internet].2012, Abril.[Citado:07 de septiembre del 2017]. 739-742.Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3609378/>.
 12. Damjanović B, Đakov T, Šuković D, Damjanović, J. Efecto antimicrobiano del aceite esencial aislado de Eucalyptus globulus Labill. Czech J. Food Sci. Montenegro. [Internet] 2011, Mayo. [Citado: 07 de septiembre del 2017]. 29(3); 277- 284. Disponible en: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/39925.pdf>.
 13. Mulyaningsih S, Sporer F, Reichling J, Wink M. La actividad antibacteriana de los aceites esenciales de Eucalyptus y de componentes seleccionados contra multiresistente patógenos bacterianos .Pharmaceutical Biology. Alemania[Internet] 2011, Mayo.[Citado 10 de septiembre del 2017]. 49(9), 893–899. Disponible en : <http://dx.doi.org/10.3109/13880209.2011.553625>. ISSN: 1388-0209.

14. Méndez K. Efecto sinérgico in vitro de aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Escherichia coli*. [Tesis de pregrado en internet]. Trujillo-Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2016 [Citado 24 de setiembre del 2017]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/8097>.
15. Alvarado JE, Vásquez VH. Efecto inhibitorio in vitro del extracto hidroalcohólico de *Eucalyptus globulus* L. "eucalipto" a diferentes concentraciones, en *Staphylococcus aureus* aislados de vacas con mastitis. [Tesis de pregrado en internet]. Chiclayo-Peru:Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2014 [Citado 24 de setiembre del 2017]. Disponible en: <http://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/306>.
16. Morales P. Efecto in vitro del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* (eucalipto) en diferentes concentraciones sobre cepas estandarizadas del *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. [Tesis de pregrado en internet]. TrujilloPeru: Universidad Nacional de Trujillo; 2014 [Citado 24 de setiembre del 2017]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/576>.
17. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Bacterias Gramnegativas En: Microbiología Médica Murray. 7ma edición. 2014. Mosby (Elsevier Science). Páginas: 258 – 264. ISBN 9 7 8 -8 4-9022-411-3
18. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Resistencia a los antimicrobianos. 2017 Oct [citado 01 Abr 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>.
19. Petri William A. Sulfonamidas, Trimetoprim-sulfametazol, quinolonas y fármacos para infecciones de vías urinarias. En: Bruce Chabner, Bjorn Knollman. Goodman y Gilman, las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª edición. México DF. Mc Graw Hill; 2014.p.1463-1476
20. Külheim C, Padovan A, Hefer C, Krause ST, Köllner TG, Myburg AA, et al. The *Eucalyptus* terpene synthase gene family. *BMC Genomics* [Internet]. 2015 Jun 11 [citado 22 de abril 2018];16(1):450. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26062733>.
21. da Silva M de CS, Paula T de A, Moreira BC, Carolino M, Cruz C, Bazzolli DMS, et al. Nitrogen-fixing bacteria in *Eucalyptus globulus* plantations. *PLoS One*

- [Internet]. 2014 [citado el 21 de abril del 2018];9(10):e111313. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25340502>.
22. Fonnegra G. R (Fonnegra G, Jiménez R. SL (Jiménez R. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Editorial Universidad de Antioquia; 2013. 368 p. 19.
 23. Dagli N, Dagli R, Mahmoud RS, Baroudi K. Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: A review. *J Int Soc Prev Community Dent* [Internet]. 2015 [citado el 20 de abril del 2018]; 5(5):335–40 Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26539382>.
 24. Sudhoff H, Klenke C, Greiner JFW, Müller J, Brotzmann V, Ebmeyer J, et al. 1,8-Cineol Reduces Mucus-Production in a Novel Human Ex Vivo Model of Late Rhinosinusitis. *PLoS One* [Internet]. 2015 [citado 20 de abril del 2018];10(7):e0133040. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26207629>.
 25. Jarvis GE, Barbosa R, Thompson AJ. Noncompetitive Inhibition of 5-HT₃ Receptors by Citral, Linalool, and Eucalyptol Revealed by Nonlinear Mixed-Effects Modeling. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 2016 Mar [citado el 20 de abril del 2018]; 356 (3):549–62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26669427>.
 26. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Seventeenth informational supplement. NCCLS [Internet]. 2017, Enero. [Citado el 16 de Sep. del 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2TyiXeh>.
 27. Mueller – Hinton Caldo. Laboratorios Britania S.A., Argentina, 2015. (Citado 4 de Mayo del 2018) Disponible en: http://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a284420749cd.pdf
 28. Rivas C, Oranday M, Verde M. Actividad antimicrobiana: capítulo 3. Investigación en plantas de importancia médica. 1ra edición. México.OmamiaSciencie;2016.p.77-96. [libro en internet] Disponible en : <https://bit.ly/2PaDuIB>.
 29. Hernandez R, Fernandez C, Baptista P. Los enfoques cuantitativo y cualitativo en la investigación científica. Metodología de la investigación. Quinta edición. Mexico DF.Mc Graw Hill; 2015.p. 210-239. ISBN: 978-607-15-0291-9

30. Ministerio de salud pública y bienestar social. Documento técnico de gestión. Manual de bioseguridad. Lima, 2012. (Citado de 23 Mayo del 2018) Disponible en: <http://www.hnseb.gob.pe/epi/descargas/2012/manuales/bioseguridad.pdf>.
31. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Supplement M100S USA, 2018. (Citado de 30 octubre del 2018) ISBN 1-56238-923-8. Disponible en: https://clsi.org/media/1469/m100s27_sample.pdf.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

Anexo 1: Ficha de recolección de datos para medir el tamaño de los halos de inhibición (mm) sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)			
N°	Aceite esencial de Eucalipto		Cotrimoxazol
	100%	75%	
1	21	16	30
2	20	17	30
3	20	15	29
4	22	16	31
5	19	16	32
6	20	16	28
7	21	17	30
8	22	18	29
9	22	19	30
10	22	18	30

ANEXO 2

Procedimiento para recolección de datos (31)

- Preparación del inóculo
El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Escherichia coli* ATCC 25922, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.).
- Siembra del microorganismo
Se sembró el microorganismo *Escherichia coli* ATCC 25922, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.
- Preparación de las concentraciones del AE
A partir del AE, se prepararon 2 concentraciones (100%, 75%) utilizando como solvente Dimetil Sulfoxido (DMSO); para ello, se rotularon 2 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 2 concentraciones y se colocó 750 μ L de AE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, y el de la concentración del 100%
- Preparación de los discos de sensibilidad con AE
A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μ L de AE al 75% en y 10 μ L de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.
- Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano
Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con AE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo Nombre científico, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con nombre del antibiótico (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

- Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de AE de Nombre científico y para el nombre del antibiótico. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLS.

ANEXO 3

Inhibidores de la vía del folato						
Agente	Carga de disco	Zona de diámetro (mm)			Concentración Mínima Inhibitoria (ug/ml)	
antimicrobiano		S	I	R	S	R
Trimetropin sulfametoxazol (cotrimoxazol)	1.25/23.75 ug	≥16	11-15	≤10	≤ 2/38	≥4/76
Sulfonamidas	250 o 300 ug	≥17	13-16	≤11	≤256	≥512
Trimetropin	30 ug	≥16	11-15	≤10	≤8	≥16

Fuente: Performance Estándars for Antimicrobial Susceptibility Testing 2017 (26)