



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

**Sinergia antimicrobiana *In vitro* del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con
ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO

AUTORA:

Katia Rocío Guevara Maslucán (ORCID: 0000-0003-1115-5414)

ASESORES:

Dra. Llaque Sánchez, María Rocío del Pilar (ORCID: 0000-0002-6764-4068)

Mg. Polo Gamboa, Jaime Abelardo (ORCID: 0000-0002-6764-4068)

Dra. Irma Luz Yupari Azabache (ORCID: 0000-0002-0030-0172)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

Trujillo - Perú

2019

Dedicatoria

A Papá:

Por el enorme sacrificio a lo largo

De estos años separados, para verme cumplir

Mis sueños, Gracias Papá por nunca cortarme

Las alas y dejarme volar. Gracias por estar cuando más

Te necesite, no podre nunca terminar de recompensar

Todo lo que han hecho por mí.

A Mamá:

Por ser la mayor impulsadora de este sueño, por tu ejemplo de perseverancia, por creer en mí, por su aliento en los momentos de declive, por enseñarme a nunca rendirme. Dios ha sido tan bueno conmigo al regalarme una madre como tú, infinitas gracias!

KATIA ROCÍO

Agradecimiento

A Dios y a mi Virgencita de la Puerta

Por prestarme vida, Por ser mí soporte en los momentos

Difíciles, por ayudarme a mantener la Fé

Y demostrarme que no hay imposibles!

A mis Asesores:

Por su paciencia y dedicación a lo largo del
Desarrollo de este trabajo. Por tanta exigencia,
sin ustedes no hubiera sido posible lograrlo.



ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS

Código: 101-FR-FR-02-02
Versión: 01
Fecha: 05-12-2019
Página: 1 de 1

El jurado encargado de evaluar la tesis presentada por don (a)
Kaha Rocio Guevara Mastuca, cuyo título es:
"SINERGIA ANTIPROLIFERATIVA IN VITRO DEL
ACEITE ESENCIAL DE MATRIZARIA CHAMPOLLA
CON CIPROLETACINA SOBRE CECERIZOZA GOND
ACC 25412"

Reunido en la fecha, escuchó la sustentación y la resolución de preguntas por el
estudiante, ortográficamente calificado de 14,4 (número) Catorce
y cuatro décimas (letras)

05 de diciembre del 2019

MG Ricci Ponce de López
PRESIDENTE

Dra. María Rocio del P. Llaque Sánchez
SECRETARIO

MG. Polo Gamboa Jaime A.
VOCAL

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Responsable del SGC	Aprobó	Vice Rectorado de Investigación
---------	----------------------------	--------	---------------------	--------	---------------------------------

Declaratoria de Autenticidad

Yo, Katia Rocío Guevara Maslucán con DNI N° 70207422 a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis titulada "Sinergia antimicrobiana In vitro del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922", son auténticos y veraces.

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 de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, diciembre del 2019



Katia Rocío Guevara Maslucán

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: “Sinergia antimicrobiana In vitro del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922”, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

KATIA ROCÍO GUEVARA MASLUCÁN

Índice

Carátula.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento	iii
Acta de aprobación de tesis	iv
Declaratoria de autenticidad	v
Presentación.....	vi
Índice	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MÉTODO	9
2.1. Tipo y diseño de investigación	9
2.2. Operacionalización de variables.	10
2.3. Población, muestra y muestreo	10
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	11
2.5. Procedimiento	12
2.6. Método de análisis de datos	12
2.7. Aspectos éticos	12
III. RESULTADOS	14
IV. DISCUSIÓN	18
V. CONCLUSIONES	21
VI. RECOMENDACIONES.....	22
REFERENCIAS	23
ANEXOS	28

RESUMEN

Se evaluó la sinergia antibacteriana del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922. Se obtuvo por el método de arrastre con vapor de agua. Se evaluó el efecto antibacteriano utilizando el método de disco-difusión en agar; para ello, *E. coli* se expuso a 4 grupos de agentes: aceite esencial de manzanilla + ciprofloxacino; aceite esencial de manzanilla; ciprofloxacino y Dimetil Sulfóxido, realizándose 10 repeticiones por cada grupo. Se observó que la sinergia del aceite esencial de *M. chamomilla* con Ciprofloxacino, tuvo más efecto antibacteriano (28,2 mm) que el aceite esencial de *M. chamomilla* solo (20,2 mm), sin embargo Ciprofloxacino (33,50) fue más eficaz. ANOVA ($p < 0,05$). Se concluye que la combinación del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con Ciprofloxacino tiene efecto sinérgico antibacteriano contra *Escherichia coli* ATCC 25922, sin embargo no supera a Ciprofloxacino.

Palabras clave: Agentes antibacterianos, aceites esenciales, *Matricaria chamomilla*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The antibacterial synergy of *Matricaria chamomilla* essential oil with ciprofloxacin on *Escherichia Coli* ATCC 25922 was evaluated. The steam distillation method was used. The antibacterial effect was evaluated using the agar diffusion test. E. coli was exposed to 4 groups of agents: Chamomile essential oil + ciprofloxacin; chamomile essential oil; ciprofloxacin and dimethyl sulfoxide, with 10 repetitions performed for each group. It was found that the synergy of *M. Chamomilla* essential oil with Ciprofloxacin had more antibacterial effect (28.2 mm) than *M. Chamomilla* essential oil alone (20.2 mm), however Ciprofloxacin (33.50) was more effective. ANOVA ($p < 0.05$). It is concluded that the combination of *Matricaria chamomilla* essential oil with Ciprofloxacin has a synergic antibacterial effect on *Escherichia coli* ATCC 25922, however Ciprofloxacin is more effective.

Key words: Antibacterial agents, essential oils, *Matricaria chamomilla*, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

En una reciente investigación, la Organización mundial de la Salud (con su sistema de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos), revela que el índice de resistencia a los antibióticos ha aumentado tanto en los países subdesarrollados como en los países en vías de desarrollo. Entre los agentes que han generado esta resistencia figuran: *Escherichia coli* (8% a 65%, causante de infecciones del tracto urinario, resistente a ciprofloxacino), *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, seguidas de *Salmonella spp.* Según cálculos se le atribuye a *E. coli* como responsable de la muerte de 380.000 menores de cinco años en el mundo cada año, así mismo de 210 millones de casos de diarrea. Globalmente, una enfermedad diarreica genera la pérdida de unos tres millones de menores en todo el mundo, presentándose más, en América Latina, África y Asia.^{1,2}

Típicamente *Escherichia coli* coloniza en la primeras horas de vida el tracto gastrointestinal de los recién nacidos y habita de por vida con su huésped humano en asociación íntima³. En este género también se han encontrado distintos serotipos que tienen una manera particular de provocar una serie de patologías en el huésped causando septicemia, neumonía, meningitis, infección del tracto urinario y enfermedades diarreicas. Y en la población hospitalizada causa aproximadamente 30% de los casos de bacteriemia.⁴

Se tiene evidencia actual que se han identificado aproximadamente seis tipos de *E. coli* causantes de diarrea en una persona, *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), enteroinvasiva (EIEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroagregativa (EAEC), adherente difusa (DAEC) y enteropatógena (EPEC). Se caracterizan porque individualmente a nivel cromosomal y plasmídico tienen codificado diferentes genes que interactúan directamente en la virulencia.^{4,5}

Escherichia coli, presenta varios mecanismos de resistencia a diversos antibióticos, siendo el productor de Betalactamasa de Espectro Extendido (BLEE) uno de los más importantes, cuya codificación se da principalmente por los genes CTX-M, TEM, OXA y SHV, que son los más comunes en la familia de *Enterobacteriaceae*, sabiendo que tienen un alto fracaso en su tratamiento,

debido a la capacidad que presentan de inactivar antibióticos B- lactámicos, incluyendo las generaciones de oximino-cefalosporinas. ⁶

A pesar del avance de la Ciencia y Tecnología, todavía existe una práctica extendida del uso de la medicina complementaria en países tercermundistas, el Perú no es la excepción y su uso se remonta desde tiempos Incaicos aprovechando la gran variedad de plantas que ofrecen los Andes y la Amazonía Peruana. ^{7,8}

La planta medicinal *Matricaria chamomilla* “manzanilla” ha sido estudiada como antibacteriano en diversos países, se han realizado muchos estudios sobre su actividad antimicrobiana, entre los cuales se encuentra el estudio realizado en Etiopía por Mekonnen A et al ⁹ quienes valoraron la actividad antimicrobiana in vitro de cuatro aceites esenciales (*T. schimperi*, *E. globulus*, *R. officinalis*, and *M. chamomilla*). Este trabajo se realizó mediante difusión en Agar, dando como resultados que el aceite más activo fue *T. schimperi* obteniendo CMI 12-33mm para el grupo de bacterias probadas, el resto de aceites se encontraron en el rango 15.75 – 36.33mm, excepto *Matricaria chamomilla* que no logró inhibir el crecimiento de la prueba. ⁹

Otro estudio en India realizado por **Kazemi M et al (India -2014)** investigaron la estructura fitoquímica y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *M. chamomilla*. La muestra se obtuvo mediante hidrodestilación y se analizó mediante GC-MS, identificando 55 compuestos en total. Se evaluó su actividad antimicrobiana contra tres bacterias patógenas grampositivas y cuatro gramnegativas utilizando técnica de difusión encontrando que *S. aureus* fue la cepa más sensible probada para el aceite de *M. chamomilla* con la zona de inhibición más fuerte 35mm, para el resto de bacterias las zonas de inhibición fueron de 10 – 25mm, según los resultados respecto a la actividad antimicrobiana los gérmenes gram positivos fueron más susceptibles que los gram negativos. Se concluye que el aceite de *M. chamomilla* tiene efecto antimicrobiano que se correlaciona con su composición química. ¹⁰

De forma similar **Mohamed, H. et al. (Francia – 2012)** realizaron una investigación sobre la actividad antioxidante y antimicrobiana de *Matricaria chamomilla*. Los resultados demostraron significativas variaciones respecto a la actividad antioxidante y antimicrobiana ($P < 0.05$). Los resultados de la difusión de disco, seguido de la medición de CMI indicaron que *B. cereus* y *A. flavus* fueron los microorganismos más sensibles probados mostrando las zonas de inhibición más grandes. La menor actividad se exhibió contra *E. coli*, con las zonas de inhibición más pequeñas y el valor MIC más alto. Se encontró en una concentración de 20ug de extracto metanólico de *Matricaria chamomilla* un halo inhibitorio igual a 18mm para *E. coli* y en una concentración de 20 ug de extracto etanólico de *Matricaria chamomilla* un halo inhibitorio igual a 19 para *E. coli*.¹¹

En otra investigación, **Abdoul-Latif F et al (Yibutí, África 2011)** sometieron a prueba al aceite esencial de *Matricaria Chamomilla* y el metanol para su detección de actividad antioxidante y antimicrobiana. La oxidación fue inhibida por *M. chamomilla*, el valor RAA del extracto de aceite esencial y metanol fue 12.69 y 11.37% respectivamente. Se probó el aceite esencial y el extracto metanol contra cepas bacterianas y fúngicas utilizando un caldo con el sistema de microdilución, Se concluye que la mejor zona de inhibición para *P. Aeruginosa* 30mm, *S. dysenteriae* 25mm, *S. pyogenes* 24mm y *S. camorum* 22mm; las otras cepas tuvieron sensibilidad entre 14 – 21 mm. El diámetro del extracto de metanol varió para bacterias 12-22mm. Concluyen que el aceite esencial de *M. chamomilla* y el extracto de metanol tienen actividad antimicrobiana significativa.¹²

Soković M et al. (Serbia -2010) hicieron un estudio en el cual se investigó la estructura química y el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de 10 plantas consumidas comúnmente, entre ellas *Matricaria Chamomilla*. Los aceites probados mostraron actividad bacteriostática en una concentración de 1ug / disco. Los aceites esenciales *Matricaria Chamomilla* y *S. Officinalis* exhibieron la actividad antibacteriana más baja en el sistema de difusión de disco encontrando que no afectaron a *P. Aeruginosa* y *P. Mirabilis*, mientras que las

zonas de inhibición para otras bacterianas fueron 8.0–13.0 mm y 9.0–15.0 mm respectivamente. ¹³

Asimismo, **Valderrama Y et al. (Trujillo – Perú 2016)** evaluaron el efecto antibacteriano de *Matricaria chamomilla* sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, encontrando que tanto *Staphylococcus aureus* como *Escherichia coli* son sensibles al aceite de *Matricaria chamomilla*, conformando zonas de inhibición máxima de 10mm y 28mm respectivamente, a una concentración de 100%; ANOVA, Dunnet y Duncan al 95% con ($p < 0.05$). Se concluyó que *S. aureus* es más sensible frente a la actividad antibacteriana que *E. coli*. ¹⁴

También, **Linares, J (Trujillo – Perú 2014)** realizó un estudio con el fin de averiguar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* en *Enterococcus faecalis*. Los resultados indicaron que el aceite esencial de manzanilla presentó efecto antibacteriano in vitro. ANOVA altamente significativa ($p = 0.0000$). A la concentración de 50%, se obtuvo un halo de inhibición de 21.08 mm. Concluyéndose que el aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* presentaba efecto antibacteriano in vitro sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis*.) en sus diferentes concentraciones. ¹⁵

Escherichia coli es una bacteria habitante normal del intestino grueso humano. Gran parte de las cepas son inofensivas, pero ciertas cepas adquieren enterotoxinas o factores de invasión que codifican ADN, bacteriófago o plásmido y se vuelven patógenas. Estas cepas virulentas son responsables de las infecciones diarreicas en todo el mundo¹⁶ *E. coli* es un bacilo gramnegativo, anaerobio facultativo, fermenta la glucosa con fabricación de gas, es muy móvil debido a que presenta muchos flagelos, tiene pilis que le permiten adherirse a la mucosa intestinal, típicamente produce resultados positivos para indol, lisina descarboxilasa y fermentación del manitol. ^{17,18}

Puede establecerse y causar enfermedades en otros tejidos además del tracto intestinal. Estas llamadas *E. coli* patógenas extraintestinales (ExPEC) son causas

importantes de infección de heridas, infección del tracto urinario, peritonitis, neumonía, meningitis y septicemia. El grupo ExPEC incluye subtipos nombrados, como *E. coli* uropatógena (UPEC), *E. coli* asociada a meningitis neonatal (NMEC) y *E. coli* asociada a sepsis (SEPEC) ^{19,20}

Los patotipos de *E. coli* que están asociados con la enfermedad intestinal se conocen colectivamente como *E. coli* patógena intestinal (IPEC) o *E. coli* diarreagénica (DEC), aunque no todos los subtipos en este grupo necesariamente causan diarrea. Los patotipos individuales de DEC incluyen *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* difusamente adherente (DAEC) y *E. coli* invasiva adherente (AIEC). ^{19,21}

Los factores de virulencia relacionados con la patogenicidad de ExPEC son numerosos y tienen una amplia gama de actividades, desde las relacionadas con la colonización de bacterias hasta las relacionadas con la virulencia, que incluyen adhesinas, toxinas, factores de adquisición de hierro, lipopolisacáridos, cápsulas de polisacáridos e invasinas, que generalmente se codifican en islas de patogenicidad, plásmidos y otros elementos genéticos móviles. Los mecanismos subyacentes a la dinámica de la transmisión de ExPEC y la selección de clones virulentos aún no se conocen bien y requieren más investigación. ²²

Se han descrito los medios a través de los cuales los factores de virulencia favorecen que se presente una ITU, y puede ser proporcional el número de genes al patógeno condicional; en ello, están involucrados los genes fimH, IutA y sat. FimH reconoce los receptores en la superficie de las células de la vejiga, lo que facilita la invasión de las bacterias, mientras que IutA es el receptor de hidroxamato principal que participa en la colonización en la infección. ²³

El tratamiento para las infecciones por *E. coli* está orientado de acuerdo al tipo de patología. Las fluoroquinolonas se han utilizado como medicamentos primarios contra la cistitis no complicada en regiones con alta resistencia a otros antibióticos. En una comparación entre fluoroquinolonas y TMP/SMX, ambos antibióticos mejoraron los síntomas a corto y largo plazo en un grado similar, y

en una comparación entre fluoroquinolonas y β -lactámicos. No hay diferencia en los efectos clínicos o microbiológicos entre las fluoroquinolonas en el tratamiento de la cistitis aguda no complicada, y se puede usar una terapia de 3 días con ciprofloxacina, levofloxacina y ofloxacina.²⁴

En los últimos años, la literatura científica se ha centrado mucho en el uso inapropiado de agentes antimicrobianos y la propagación de la resistencia bacteriana. El uso generalizado e inapropiado de antibióticos se reconoce como un factor importante que contribuye a la propagación de la resistencia bacteriana y al desarrollo de resistencia a los agentes antimicrobianos. La aparición de resistencia antibacteriana en el manejo médico de las patologías causadas por *Escherichia coli* es un dilema importante de salud pública²⁵. Una amplia gama de agentes antimicrobianos inhibe eficazmente el crecimiento de *E. coli*. Los β -lactámicos, las fluoroquinolonas, los aminoglucósidos y el trimetoprim-sulfametoxazol se usan a menudo para tratar infecciones comunitarias y hospitalarias asociadas con *E. coli*.^{26,27}

Durante un período prolongado, las plantas han sido fuentes importantes y vitales de productos naturales para la salud de las personas, y tienen un potencial extraordinario para suministrar nuevos medicamentos. Las plantas son una fuente de compuestos que pueden combatir enfermedades no infecciosas, asimismo, son antibacterianos, antivirales y antimicóticos. Son utilizadas las raíces, tallos, flores, frutos, hojas y resinas.^{28,29}

Cuando se buscan sustancias activas de plantas, uno de los aspectos principales a tener en cuenta es la información obtenida de la medicina popular. *Matricaria chamomilla* L., conocida popularmente como manzanilla, es una de las plantas más antiguas utilizadas por la medicina tradicional europea, y ahora está incluida como oficial en farmacopeas en casi todos los países. Tiene ingredientes activos como el aceite esencial de alfa-bisabolol, que contiene camazuleno y camaviolin, así como flavonoides, apigenina, taninos, matricina, cumarinas, polisacáridos y éteres bicíclicos.^{30,31}

La mayoría de los componentes químicos responsables de la actividad farmacológica no se conocen, pero se cree que implica la interacción de numerosas moléculas presentes en el extracto. Los datos acerca de la actividad antibacteriana de los extractos de hierbas contra diversos microorganismos muestran que las plantas tienen potencial para el tratamiento terapéutico, aunque muchos de estos extractos no se han investigado científicamente por completo.³²

Teniendo en cuenta la realidad, se **planteó el problema: ¿Tiene el efecto sinérgico antibacteriano del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con Ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, en estudio in vitro?**

Se ha observado en los últimos años que el uso indiscriminado de antibióticos para tratar enfermedades infecciosas causadas por *E. coli* y diversos factores han causado la resistencia bacteriana. Este problema de salud lleva a plantear alternativas de solución diferentes, una de ellas es el uso de medicina complementaria, buscando investigar nuevas sustancias antimicrobianas de fácil acceso y bajo costo, que esté al alcance de la población en general.

Es por ello que se consideró importante esta investigación porque buscó comprobar si existe efecto inhibitorio de *Matricaria chamomilla* sobre el crecimiento de *E. coli*, así como la sinergia que pueda presentar con el Ciprofloxacino.

Como respuesta a priori al problema se planteó las hipótesis; H1: El aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con Ciprofloxacino tiene sinergia antibacteriana sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, en estudio in vitro, y H0: El aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con Ciprofloxacino no tiene sinergia antibacteriana sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, en estudio in vitro.

Para resolver el problema planteado se propuso como objetivo general evaluar la sinergia antibacteriana del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con Ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, en estudio in vitro, y como objetivos específicos a) determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922; b) determinar el

efecto del Ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922; y, c) Identificar si la combinación de aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con ciprofloxacino es eficaz como antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

II. MARCO METODOLÓGICO

2.1. DISEÑO INVESTIGACIÓN, TIPO DE INVESTIGACIÓN

TIPO DE ESTUDIO: Básico³³

DISEÑO: El diseño de investigación fue Experimental con repeticiones múltiples post prueba, donde se consideró seis grupos experimentación (RG1-RG6), considerando el tipo de estímulo (X1) a (X6) relacionada a las diluciones del extracto esencial de *Matricaria chamomilla* (100%, 75%, 50%, 25%), un grupo control con ciprofloxacino 5ug y un grupo neutro con agua destilada.³³ (Anexo 1)

Variables:

Variable Independiente: Agente antibacteriano

- **No farmacológico:** Aceite esencial de *Matricaria chamomilla*.
- **Farmacológico:** Ciprofloxacino a 5 µg.

Variable Dependiente: Efecto antibacteriano

- **Eficaz:** Zona de inhibición, ≥ 21 mm.
- **No Eficaz:** Zona de inhibición < 21 mm.

2.2. Operacionalización de variables.

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
----------	-----------------------	------------------------	-------------	--------------------

<p>Agente antibacteriano</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Sustancia que altera las estructuras de una célula bacteriana inhibiendo su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, bien directa o indirectamente.²⁴ • Tratamiento no farmacológico con aceite esencial de <i>Matricaria chamomilla</i> “manzanilla”. • Tratamiento farmacológico con Ciprofloxacino. 	<p>Se hará la división en los siguientes grupos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aceite esencial de manzanilla y ciprofloxacino • Aceite esencial de manzanilla • Ciprofloxacino 5 ug • DMSO 	<p>RG1 RG2 RG3 RG4</p>	<p>Cualitativa nominal</p>
<p>Efecto antibacteriano</p>	<p>Acción que ejerce un agente antibacteriano, para inhibir o eliminar a las bacterias en un determinado momento y con dosis ya establecida.²⁵</p>	<p>Se medirá la zona de inhibición de crecimiento, considerando los criterios del Estándar M100 (33) del CLSI:</p> <p>Sensible ≥ 21 mm Intermedio 16-20 mm Resistente ≤ 15 mm</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Eficaz: ≥ 21mm • No eficaz: < 21mm 	<p>Cualitativa nominal</p>

2.3. Población, muestra y muestreo.

POBLACIÓN: Se consideró como población a todos los cultivos de *Escherichia coli* ATCC 25922, cultivados en el laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

MUESTRA:

Tamaño muestra: Debido a que es un trabajo experimental se empleó fórmula estadística para diferencia de dos promedios, mediante la cual se obtuvo el número de 10 repeticiones requeridas en el estudio por cada grupo en experimentación.³⁵ (Anexo 2)

Unidad de análisis: Cada cultivo de cepas de cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Unidad de muestra: Estuvo constituida por cada placa Petri con cultivo de *Escherichia coli* ATCC 25922

Muestreo: Se consideró un muestreo aleatorio simple de cada grupo de bacterias.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Criterios de inclusión:

- Todas las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, cultivadas en un tiempo no mayor a 24 horas.

Criterios de exclusión:

- Cultivos de cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922, contaminadas.

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.

Técnica: Se utilizó la observación directa del experimento y la medición de los halos de inhibición.

Procedimiento: Se realizaron los siguientes procedimientos. (Anexo 3)

- a. Se inició con la tipificación de la planta en la Universidad Privada Antenor Orrego, Herbario Antenor Orrego (HAO).
- b. El aceite esencial de *Matricaria chamomilla* se obtuvo mediante el método de arrastre con vapor de agua.³⁶
- c. La cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 fue cultivada mediante la técnica por agotamiento en superficie, en medio de cultivo agar Mueller Hinton.³⁷
- d. El efecto sinérgico antibacteriano fue evaluado mediante el método de difusión con discos en agar.³⁷

INSTRUMENTO: Se consideró a una ficha de recolección de datos en la cual se recolectó los datos del número de placas, los halos que formó las concentraciones del aceite esencial de *Matricaria chamomilla*, el ciprofloxacino (control positivo) y el DMSO (control negativo). (Anexo 4)

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO: La ficha de recolección de datos fue validada por tres profesionales conocedores del tema, quienes evaluaron la utilidad de la información contenida en la ficha para este estudio. (Anexo 5) ³³

2.5. MÉTODO DE ANÁLISIS DE DATOS.

La información fue tabulada virtualmente en una ficha de Excel, y luego, se exportó al Software estadístico SPSS v.25, y se realizó las pruebas estadísticas de análisis de varianza (ANOVA) y Post Hoc HSD Tukey. Se interpretó la significancia asintótica de la comparación de las medias del efecto producido por los grupos de agentes antibacterianos estudiados.³⁸

2.6. ASPECTOS ÉTICOS.

Este trabajo de investigación se desarrolló respetando los criterios de bioseguridad en el laboratorio, tomando medidas para la protección de las personas y el medio ambiente. Se tomó en cuenta los protocolos para el tratamiento de material considerado potencialmente infeccioso, así como la no exposición al peligro de las personas involucradas en este estudio, considerando el “Manual de Bioseguridad en el Laboratorio” de la OMS.³⁹

III. RESULTADOS

Tabla 1. Valores estadísticos descriptivos del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Matricaria chamomilla*, el ciprofloxacino y la sinergia de ambos, sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Agente	N	Media	Desv. estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mín	Máx
					Límite inferior	Límite superior		
AEMC+CIP	10	28,20	2,098	,663	26,70	29,70	25	31
AEMC	10	20,20	1,229	,389	19,32	21,08	18	22
CIP	10	33,50	1,434	,453	32,47	34,53	32	36
DMSO	10	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
Total	40	20,48	12,967	2,050	16,33	24,62	0	36

Fuente: Bases de datos recolectados por la autora de este estudio.

AEMC: Aceite Esencial de *Matricaria chamomilla*

CIP: Ciprofloxacino

DMSO: Dimetil Sulfóxido

Tabla 2. Análisis de Varianza de las medias del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Matricaria chamomilla*, el ciprofloxacino y la sinergia de ambos, sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.*
Entre grupos	6486,275	3	2162,092	1085,569	,000
Dentro de grupos	71,700	36	1,992		
Total	6557,975	39			

Fuente: Bases de datos recolectados por la autora de este estudio.

* La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Tabla 3. Comparación de medias de los halos de inhibición entre el aceite esencial de *Matricaria chamomilla*, el ciprofloxacino y la sinergia de ambos, sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

HSD Tukey^a

Agente		Subconjunto para alfa = 0.05			
Antibacteriano	N	1	2	3	4
DMSO	10	,00			
AE Manzanilla	10		20,20		
AE Manzanilla+CIP	10			28,20	
CIP	10				33,50
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente: Bases de datos recolectados por la autora de este estudio.

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

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

AEMC: Aceite Esencial de *Matricaria chamomilla*

CIP: Ciprofloxacino

DMSO: Dimetil Sulfóxido

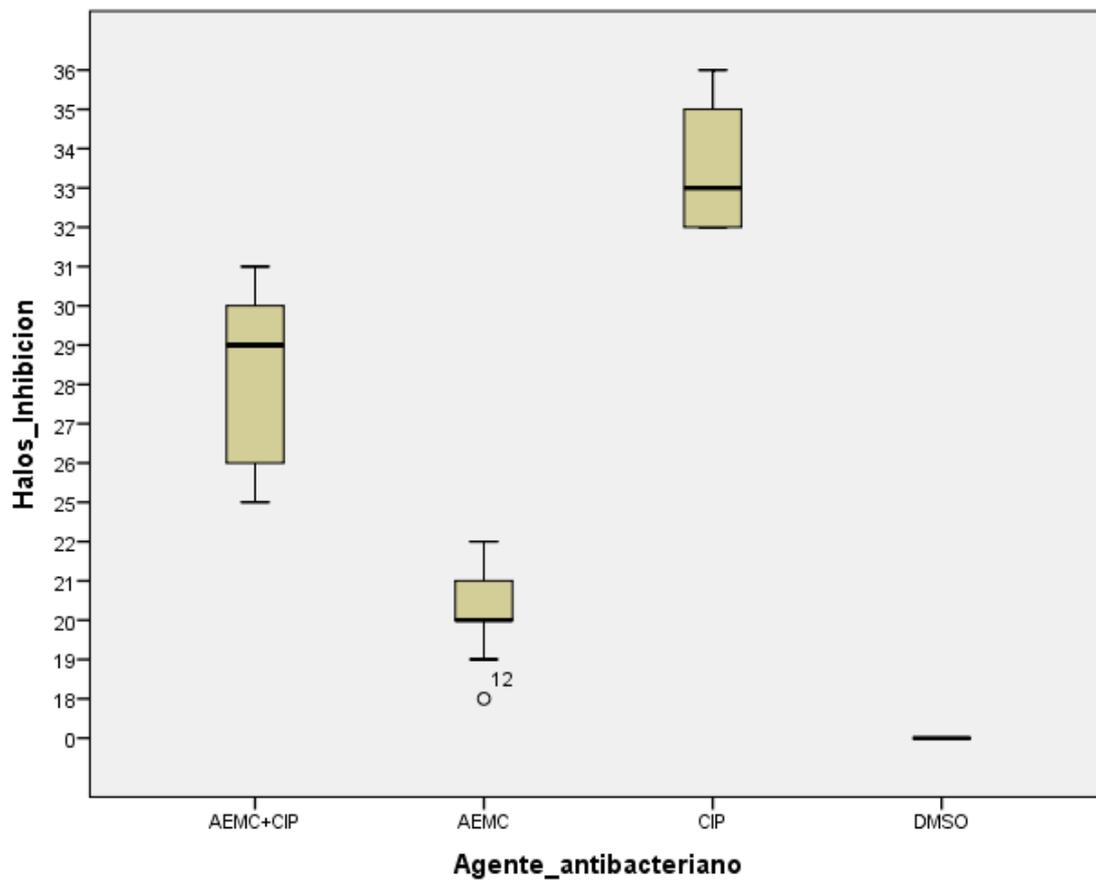


Gráfico 1. Valoración del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Matricaria chamomilla*, el ciprofloxacino y la sinergia de ambos, sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

IV. DISCUSIÓN

Al evaluar la sinergia antibacteriana del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con ciprofloxacino sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 in vitro, se observó los siguientes resultados.

En la Tabla 1, se muestra que el efecto antibacteriano del aceite esencial de manzanilla en combinación con el Ciprofloxacino fue mayor que el aceite solo; sin embargo, esta combinación de agentes fue menor que el Ciprofloxacino a 5ug. Esto posiblemente sea por los componentes químicos del vegetal que podrían estar interfiriendo con la actividad antibacteriana del ciprofloxacino. No se han reportado fitoquímicos de la manzanilla que interfieren con la potencialidad de antibióticos. Por el contrario, los aceites esenciales presentan hidrofobicidad que les permite dividirse en los lípidos de la membrana celular bacteriana y las mitocondrias, perturbando las estructuras y haciéndolas más permeables. Se pueden producir fugas de iones y otros contenidos celulares, ocasionando daño irreparable en el microorganismo.⁴⁰

Los resultados que se observan en la Tabla 1, muestran la actividad antibacteriana de los cuatro tipos de productos utilizados, el halo de inhibición que alcanzó el mayor diámetro fue el Ciprofloxacino (33,50 mm) y la acción sinérgica de este antibiótico con el aceite esencial de *M. chamomilla* alcanzó 28,20 mm, lo cual indica que el aceite le resta potencia antibacteriana al ciprofloxacino debido que, en combinación, disminuye el diámetro en comparación con el antibiótico solo. Sin embargo, esta asociación aún se consideraría eficaz porque supera lo establecido por el CLSI (≥ 21 mm).

El efecto antibacteriano del aceite esencial de manzanilla encontrado (20,22mm) fue menor al de Valderrama Y (14) quien encontró halos 28mm, pero mayor a lo que obtuvieron Kazemi M (10) con 15 mm y Mohamed H (11) con 19mm. Asimismo, existen trabajos de investigación que indican que no tiene ninguna actividad antibacteriana, tal es el caso del estudio realizado por Mekonnen A (9).

La variabilidad de resultados se debería a algunos factores que estarían influenciando en la actividad antibacteriana. Tal como los tipos de componentes fitoquímicos del aceite esencial de *M. chamomilla*, y el porcentaje de cada uno de ellos. Por ejemplo, en Nepal, Satyal P (41) identificó 37 componentes químicos en el aceite esencial de *M. chamomilla*, entre los cuales el (E) - β -farneseno el que estuvo en mayor cantidad (42,21%), seguido del óxido de α -bisabolol A (22,27%). Asimismo, están en pequeñas cantidades otros componentes que la mayoría no pasa del 1%. También encontró óxido de α -bisabolol B, cis-bicicloéter (espiroéter Z), α -bisabolol, óxido de bisabolona A, chamazuleno, espatulenol, ácido decanoico, artemisia cetona, guaiazuleno, germacreno D, (E, E) - α -farneseno, β bisaboleno, β -bisabolol, trans-bicicloéter (espiroéter E), (E) -nerolidol, bicilogermacreno, p-cimeno, γ -eudesmol, alcohol de artemisia, 1,8-cineol, β -cariofileno, α -muuroleno, limoneno, γ terpinene, γ -muurolene, α -terpineol, δ -cadinene y α -pineno).

En otra zona geográfica (España), López et al (42) identificó un total de 70 compuestos en el aceite esencial de flores de manzanilla. El óxido de α -Bisabolol A fue el componente más abundante (58,18%), seguido de Z-Espiroéter (9,73%), óxido de α -Bisabolona A (7,88%) y óxido de α -Bisabolol B (6,57%). De forma similar en Turquía, Firat Z et al (43), encontró que el óxido de α -Bisabolol A como el componente fitoquímico más abundante (47,7%) y (E)- β -farneseno con 21,5%. Por ello, debido a la variabilidad de sus componentes que le confieren la propiedad antibacteriana al aceite esencial de *M. chamomilla*, son diversos los efectos que se observan en los estudios realizados.

Otros factores ambientales que estaría influenciando sobre los resultados es el lugar de cultivo de la planta de manzanilla, debido a la distinta composición de la tierra de cultivo, lo cual conllevaría a una distinta composición de los fitoquímicos de la planta de *M. chamomilla*. Asimismo, el clima (temperatura, humedad, vientos, radiación solar, lluvias, altitud, etc). Así lo demuestran dos estudios; uno en Brasil realizado por Sampaio B (44) y otro desarrollado en Marruecos por Aboukhalid K (45). Ambos estudios encontraron diferencias en los componentes de los aceites esenciales de plantas cultivadas, debido a los

diferentes factores ambientales en los cuales fueron cultivadas las plantas de una misma especie.

En la Tabla 2, el ANOVA indica que el estudio es altamente significativo ($p = 0,000$). Indicando que existe variabilidad en el efecto antibacteriano en los cuatro grupos de estudio. Esto se refrenda con la Tabla 3 que evidencia la diferencia de los promedios de los halos de inhibición y cuál de ellos tenía mayor eficacia, en este caso el ciprofloxacino y la combinación de ciprofloxacino mas aceite esencial de matricaria chamomilla. También, se confirma que no existe efecto sinérgico al disminuir el efecto de ciprofloxacino indicando que ciprofloxacino sigue siendo el tratamiento de elección.

V. CONCLUSIONES

La combinación del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* con Ciprofloxacino demostró tener efecto antibacteriano contra *Escherichia coli* ATCC 25922, en estudio in vitro. Sin embargo no supera la eficacia dado por ciprofloxacino.

La Asociación de Ciprofloxacino con el aceite disminuyó el efecto antimicrobiano de Ciprofloxacino.

El aceite esencial de Matricaria Chamomilla no evidencio efecto antimicrobiano sobre la cepa en estudio.

El Ciprofloxacino continúa siendo el tratamiento de elección sobre el agente en estudio por demostrar mayor susceptibilidad según el M100 del CLSI.

VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda complementar este estudio, evaluando los constituyentes fitoquímicos del aceite esencial de *Matricaria chamomilla*, de nuestra región La Libertad para establecer los compuestos que ejercen la actividad antibacteriana, debido que no existen investigaciones reportadas sobre ello.

Se recomienda realizar estudios para ver la sensibilidad de otros patógenos frente al aceite esencial de *Matricaria chamomilla*, considerando como control a otros antibióticos.

Se recomienda investigar el efecto antibacteriano del aceite esencial de manzanilla de otras regiones del Perú, considerando los factores ambientales en los cuales crecen las plantas.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Washington D.C. USA: OMS; c2017-2018. Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo; 2018 jan 29. [6 pantallas aproximadamente]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/29-01-2018-high-levels-of-antibiotic-resistance-found-worldwide-new-data-shows>
2. Durán L. Resistencia antimicrobiana e implicancias para el manejo de infecciones del tracto urinario. Rev. Med. Clin. Condes [Internet]. 2018; 29(2): 213-221. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-pdf-S0716864018300294>
3. Zamudio VP, Ramírez JA, Toro EM, Cervantes R, Zárate F, Montijo E, Cadena JF, Cázeres JM. Importancia de la microbiota gastrointestinal en pediatría. Acta Pediatr Mex [Internet]. 2017 ene; 38(1): 49-62. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/apm/v38n1/2395-8235-apm-38-01-0049.pdf>
4. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Washington D.C. USA: OMS; c2017-2018. *E. coli*; 2018 feb 7. [9 pantallas aproximadamente]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
5. Yacarini AE, Arriaga EV, Alvarado RL, Fupuy JA. Genes de virulencia de *Escherichia coli* detectados en muestras diarreicas de niños de la Región Lambayeque – Perú. Horizmed [Internet]. 2019; 19(1): 7-12. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v19n1/a02v19n1.pdf>
6. López DP, Torres MI, Prada CF. Genes de resistencia en bacilos Gram negativos: Impacto en la salud pública en Colombia. Rev Univ. Salud. [Internet]. 2016; 18(1): 190-202. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v18n1/v18n1a18.pdf>
7. Cordon F, Solanas P, Duch M. Medicinas alternativas y complementarias. AMF [Internet]. 2011; 7(1): 4-14. Disponible en: http://amf-semfyc.com/web/downloader_articuloPDF.php?idart=278&id=Medicinas_alternativas.pdf
8. Bussmann RW. Plantas Medicinales de los Andes y la Amazonia - La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú. 1ra ed. Trujillo, Perú: Centro William L. Brown; 2015. Disponible en:

<http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/916684/plantas-medicinales-de-los-andes-y-la-amazonia-la-flora-magica-Qa3dgqr.pdf>

9. Mekonnen A, Yitayew B, Tesema A, Taddese S. In Vitro Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. International Journal of Microbiology [Internet]. 2016; 2016: e9545693. Disponible en: <http://downloads.hindawi.com/journals/ijmicro/2016/9545693.pdf>
10. Kazemi M. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Matricaria chamomilla*. Bull. Env. Pharmacol. Life Sci. [Internet]. Jan 2014; 3(2): 148-153. Disponible en: http://jonnsaromatherapy.com/pdf/Kazemi_Essential_Oil_of_Matricaria_chamomilla_2014.pdf
11. Abdoul FM, Mohamed N, Edou P, Ali AA, Djama SO, Obame LC, Bassolé IH, Dicko MH. Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and methanol extract of *Matricaria chamomilla* L. from Djibouti. J. Med. Plant. Res. [Internet]. May 2011; 5(9): 1512-1517. Disponible en: http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article1380546992_Abdoul-Latif%20et%20al.pdf
12. Roby MH, Sarhan MA, Selim KA. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Ind. Crops Prod [Internet]. 2013; 44: 437-445. Disponible en: http://www.jonnsaromatherapy.com/pdf/Roby_Antioxidant_Antimicrobial_Activities_Fennel_German_Chamomile_2012.pdf
13. Soković M, Glamočlija J, Marin PD, Brkić D, van Griensven LJ. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. Molecules [Internet]. 2010 Oct 27; 15(11): 7532-46. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6259430/pdf/molecules-15-07532.pdf>
14. Valderrama YY. Efecto del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [Tesis de Título]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2015. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4603/Valderrama%20Savendra%2c%20Yelitza%20Yanedith.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

15. Linares JG. Efecto “in vitro” del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla*) sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 [Tesis de Título]. Trujillo, Perú: Universidad Nacional de Trujillo; 2012. Disponible en:
http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/573/LinaresZavaleta_J.pdf?sequence=1&isAllowed=y
16. Makvana S, Krilov LR. *Escherichia coli* Infections. *Pediatrics in Review* [Internet] Apr 2015; 36(4): 167-170. Disponible en:
<https://pedsinreview.aappublications.org/content/36/4/167>
17. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 8va. Ed. Filadelfia-USA: Elsevier Inc.; 2016.
18. Carroll KC, Morse SA, Mietzner T, Miller S. Jawetz, Melnick & Adelberg’s *Medical Microbiology*. 27th ed. Ohio-USA: McGraw-Hill Education; 2016.
19. Robins RM, Holt KE, Ingle DJ, Hocking DM, Yang J, Tauschek M. Are *Escherichia coli* Pathotypes Still Relevant in the Era of Whole-Genome Sequencing? *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2016; 6: 141. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5114240/pdf/fcimb-06-00141.pdf>
20. Vila J, Sáez E, Johnson JR, Römling U, Dobrindt U, Cantón R, Giske CG, Naas T, Carattoli A, Martínez M, Bosch J, Retamar P, Rodríguez J, Baquero F, Soto SM. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiol Rev* [Internet]. 2016 Jul; 40(4): 437-463. Disponible en:
<https://academic.oup.com/femsre/article/40/4/437/2197819>
21. Ryan KJ, Ray CG. *Sherris Medical Microbiology*. 6th ed. Ohio-USA: McGraw-Hill Education; 2014.
22. Sarowska J, Futoma B, Jama A, Frej M, Ksiazczyk M, Bugla G, Choroszy I. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathog* [Internet]. 2019; 11: 10. Disponible en:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6383261/pdf/13099_2019_Article_290.pdf
23. Miranda LI, Ruíz M, Molina J, Parra I, González E, Castro N. Relationship between virulence factors, resistance to antibiotics and phylogenetic groups of uropathogenic *Escherichia coli* in two locations in Mexico. *Enferm Infecc*

- Microbiol Clin [Internet]. 2017 Aug – Sep; 35(7): 426-433. Disponible en: <https://www.elsevier.es/en-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-english-428-pdf-S2529993X17301831>
24. Kang CI, Kim J, Park DW, Kim BN, Ha US, Lee SJ, Yeo JK, Min SK, Lee H, Wie SH. Clinical Practice Guidelines for the Antibiotic Treatment of Community-Acquired Urinary Tract Infections. Infect Chemother [Internet]. 2018 Mar; 50(1): 67-100. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5895837/pdf/ic-50-67.pdf>
25. Aghemwenhio IS, Timilehin AA, Alpheus GA. Susceptibility of Beta-Haemolytic *Escherichia coli* to Commonly Used Antibiotics in Selected Hospitals in Delta State, Southern Nigeria. Arch Clin Microbiol [Internet]. 2017; 8(2): 1-4. Disponible en: <http://www.acmicrob.com/microbiology/susceptibility-of-betahaemolytic-escherichia-coli-to-commonly-used-antibiotics-in-selected-hospitals-in-delta-state-southern-niger.pdf>
26. Omololu J, Omololu O, Egbedokun A, Otusanya O, Owolabi AT, Oluwasanmi AV. Antibiotic Susceptibility Pattern of *Escherichia coli* Isolated from Out-patient Individuals Attending the University College Hospital (UCH), Ibadan, Nigeria. J Infec Dis Treat [Internet]. 2017; 3(1): 1-6. Disponible en: <http://infectious-diseases-and-treatment.imedpub.com/antibiotic-susceptibility-pattern-of-escherichiacoli-isolated-from-outpatient-individualsattending-the-university-college-hospital.pdf>
27. Jayanti R, Rudrajit Pl, Abhik H, Sagnic M. A study on antibiotic resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from urine specimens in Eastern India. Int J Med Sci Public Health [Internet]. 2015; 4(12): 1670-1674. Disponible en: <https://www.ejmanager.com/mnstemps/67/67-1430493137.pdf?t=1565788171>
28. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An Fac med [Internet]. 2016; 77(4): 327-332. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf>
29. Gupta PD, Birdi 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>

30. Mariod AA, Kakil ES, Elneel YF. Antibacterial Activity of *Zingiber Officinale*, *Matricaria Chamomilla* and *Nigella Sativa* Extractions on the Growth of Pathogenic Bacteria Isolated from Different Clinical Specimens. *Acta Scientific Nutritional Health* [Internet], 2019; 3(5): 26-32. Disponible en: <https://www.actascientific.com/ASNH/pdf/ASNH-03-0243.pdf>
31. Rizwana H, Alwhibi MS, Soliman DA. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Flowers of *Matricaria aurea* a Native Herb of Saudi Arabia. *Int. J. Pharmacol* [Internet]. 2016; 12(6): 576-586. Disponible en: <http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/ijp/2016/576-586.pdf>
32. Carvalho AF, Silva DM, Silva TRC, Scarcelli E, Manhani MR. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.). *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas [Internet]. 2014; 16(3): 521-526. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v16n3/07.pdf>
33. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación. 6ta ed. México D.F.: McGraw-Hill Education; 2014.
34. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018. Disponible en: <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2018-M100-S28-unlocked.pdf>
35. Malone HE, Nicholl H, Coyne I. Fundamentals of estimating sample size. *Nurse Res* [Internet]. May 2016; 23(5): 21-25. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/303312866_Fundamentals_of_Estimating_sample_size
36. Casado I. Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en Corrientes de vapor. [Tesis de Título]. Madrid, España: Universidad Politécnica de Madrid; 2018 [Citado: 8 de abril de 2019]. Disponible en: http://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf
37. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015. Disponible en: <http://www.facm.ucl.ac.be/intranet/CLSI/CLSI-2015-M02-A12-original.pdf>
38. Kamana R, Mung'atu JK, Ndengo M. Parametric and Non-Parametric Design Based Tests Analysis of the Level and Differentials of Household Consumption

- Expenditure in Rwanda (2010-2011). ARI - An International Journal for Physical and Engineering Sciences. Sep 2015; 3(1): 105-122. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/311391779_Parametric_and_Non-Parametric_Design_Based_Tests_Analysis_of_the_Level_and_Differentials_of_Household_Consumption_Expenditure_in_Rwanda_2010-2011
39. Organización Mundial de la Salud – OMS. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3ra. Edición. Ginebra: Ediciones de la OMS; 2005. Disponible en: http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf
40. Saranraj P, Durga V. Essential oils and its antibacterial properties – A review. Life Science Archives [Internet]. 2017; 3(2): 994 – 1011. Disponible en:
41. Satyal P, Shrestha S, Setzer WN. Composition and Bioactivities of an (E)- β -Farnesene Chemotype of Chamomile (*Matricaria chamomilla*) Essential Oil from Nepal. Natural Product Communications [Internet]. 2015; 10(8): 1453 – 1457. Disponible en:
42. López M. Blazquez MA. Characterization of the Essential Oils from Commercial Chamomile Flowers and Chamomile Teabags by GC-MS Analysis. IJPPR [Internet]. Sep 2016; 8(9): 1487 – 1491. Disponible en:

ANEXOS

ANEXO 1

Diseño de investigación: Experimental, con post prueba y repeticiones múltiples.

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

En donde:

RG_{1 al 5}: Cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922

X₁: Aceite esencial de *Matricaria chamomilla* y Ciprofloxacino 5 µg

X₂: Aceite esencial de *Matricaria chamomilla*

X₃: Ciprofloxacino 5 µg (control positivo)

X₄: DMSO (control negativo)

O_{1 al 4}: Efecto antibacteriano (halo de inhibición).

ANEXO 2

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

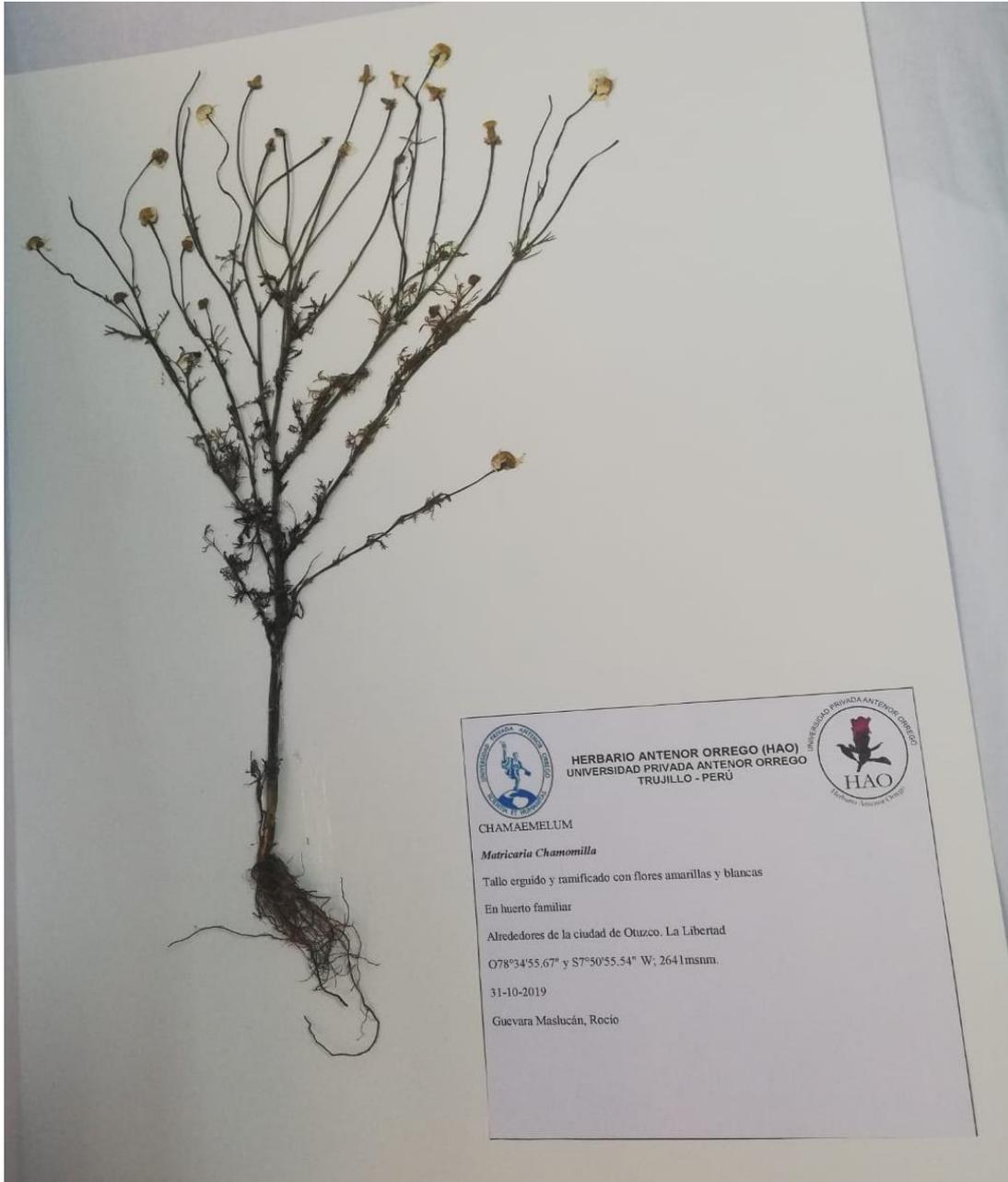
Dónde:

- $Z_{\alpha/2} = 1,96$ Para un nivel de confianza del 95%
- $Z_{\beta} = 0,84$ para una potencia de prueba del 80%
- $\bar{X}_1 = 21$ (33)
- $\bar{X}_2 = 19$ (11)
- $\sigma^2 = 1,58$

La muestra que se tomó en cuenta en este estudio, fue de 10 repeticiones por cada grupo de estudio (40 Observaciones).

ANEXO 3

Identificación taxonómica de *Matricaria chamomilla* por el Herbario de la Universidad Antenor Orrego de Trujillo.



ANEXO 4

Obtención del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* por el método de arrastre con vapor de agua

Las plantas frescas de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”, se obtuvieron en el mercado La Zonal Palermo de Trujillo, procedentes de la localidad de Otuzco, La Libertad-Perú, en una cantidad de 10 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio “San José” de Trujillo, donde se seleccionaron las inflorescencias con buenas condiciones y se lavaron con agua destilada clorada. Después, se pusieron en bandejas de cartulina y se llevaron al horno a 40°C por 3-4 días para deshidratarlas. Pasado ese tiempo, las inflorescencias secas se estrujaron manualmente hasta la obtención de fragmentos menores a 1 cm. Este material vegetal se reservó herméticamente en envases negros.

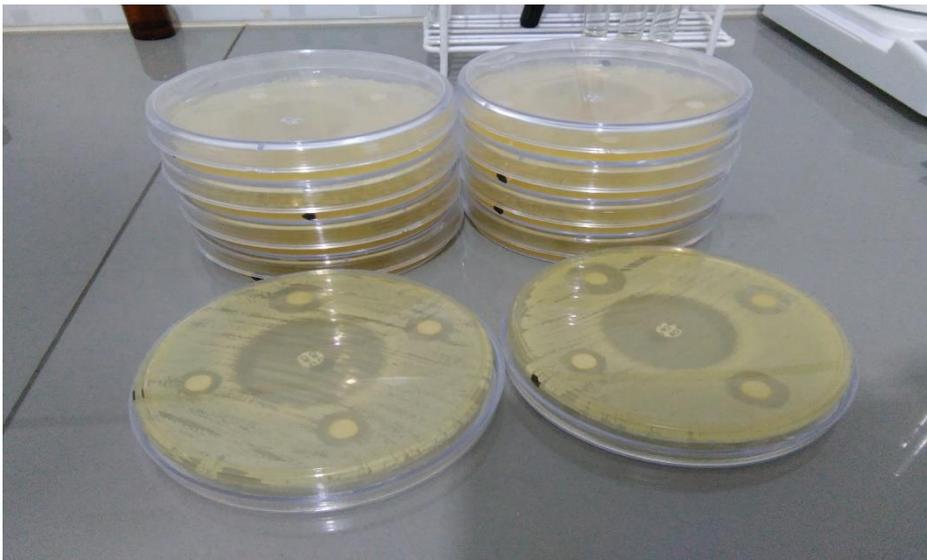
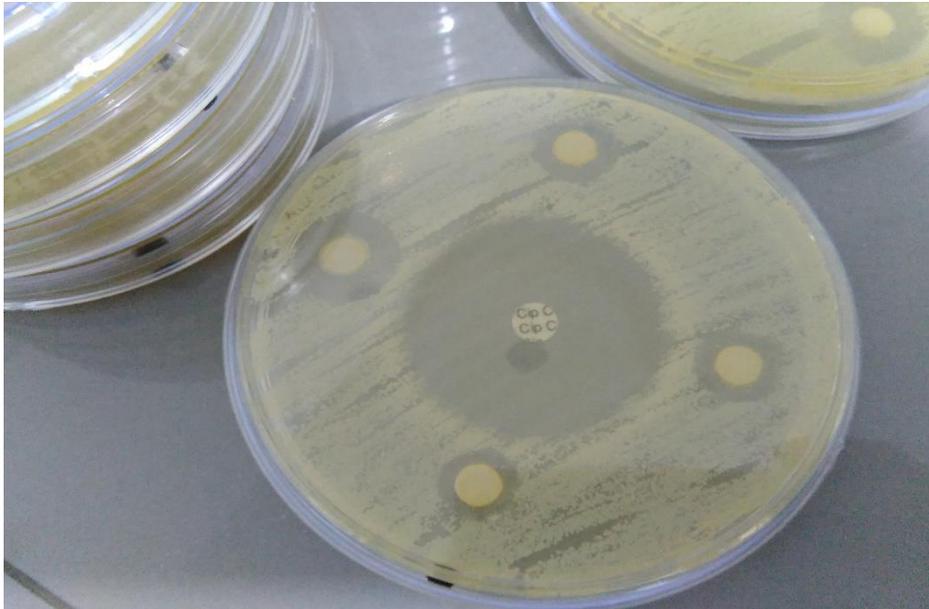
El aceite esencial de *Matricaria chamomilla* se obtuvo por el método de arrastre con vapor de agua. Para este método se utilizó un sistema en el cual, se calentó agua destilada contenida en un balón de vidrio hasta la evaporación. El vapor de agua se condujo a través de un ducto hasta otro balón de vidrio que contuvo la muestra vegetal seca. Este vapor de agua llenó el balón y el vapor salió a través de otro ducto hacia un condensador recto, arrastrando los componentes fitoquímicos, entre ellos los aceites esenciales. El líquido se receiptó en un embudo decantador tipo pera. Este líquido se disoció en dos fases, quedando el aceite esencial en la superficie por diferencia de densidades. Este proceso se realizó en 3 horas aproximadamente. El Aceite Esencial (AE) obtenido se consideró al 100%, el cual se colocó en un frasco de vidrio ámbar estéril y se reservó a temperatura de refrigeración hasta su utilización.



Cultivo de *Escherichia coli* y preparación del agar sangre

Se reactivó la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, sembrándolo en agar MacConkey, y se incubó a 37°C por 20 horas.

Para la prueba de susceptibilidad, se utilizó medio de cultivo agar Mueller Hinton. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. El Agar Mueller Hinton 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. Se conservó en refrigeración hasta su uso.



Evaluación del efecto sinérgico antibacteriana por el método de disco-difusión

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. 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.

Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Escherichia coli*, 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*, 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 los discos de sensibilidad con AE

En una placa Petri estéril, se colocó 10 discos de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se repitió esta acción 3 veces más para formar 4 grupos de discos. Al primer grupo de discos, a cada uno, se agregó 5 μ L de aceite esencial de *M. chamomilla* + 5 μ g de Ciprofloxacino; al segundo grupo se agregó 5 μ L de aceite esencial de *M. chamomilla*; al tercer grupo se agregó 5 μ g de Ciprofloxacino; y al cuarto grupo se le agregó 5 μ L de DMSO.



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 grupo, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Escherichia coli*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada grupo) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 20-24 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 los grupos con agentes antibacterianos. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.

Pruebas post hoc

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Efecto_Antibacteriano

HSD Tukey

(I) Agente_ATB	(J) Agente_ATB	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
AE Manzanilla+CIP	AE Manzanilla	8,000*	,631	,000	6,30	9,70
	CIP	-5,300*	,631	,000	-7,00	-3,60
	DMSO	28,200*	,631	,000	26,50	29,90
AE Manzanilla	AE Manzanilla+CIP	-8,000*	,631	,000	-9,70	-6,30
	CIP	-13,300*	,631	,000	-15,00	-11,60
	DMSO	20,200*	,631	,000	18,50	21,90
CIP	AE Manzanilla+CIP	5,300*	,631	,000	3,60	7,00
	AE Manzanilla	13,300*	,631	,000	11,60	15,00
	DMSO	33,500*	,631	,000	31,80	35,20
DMSO	AE Manzanilla+CIP	-28,200*	,631	,000	-29,90	-26,50
	AE Manzanilla	-20,200*	,631	,000	-21,90	-18,50
	CIP	-33,500*	,631	,000	-35,20	-31,80

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Anexo 4

Ficha de recolección de datos

N° Repet.	Diámetro de la Zona de Inhibición (mm)			
	AEMC+CIP	AEMC	CIP	DMSO
1	31	20	36	0
2	30	18	32	0
3	28	22	35	0
4	25	919	32	0
5	26	20	33	0
6	26	20	33	0
7	27	20	34	0
8	30	22	33	0
9	29	21	32	0
10	30	20	35	0

AEMC: Aceite Esencial de *Matricaria chamomilla*

CIP: Ciprofloxacino

DMSO: Dimetil Sulfoxido

Anexo 5

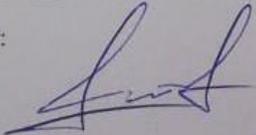
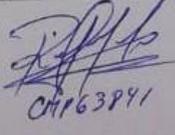
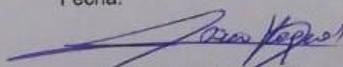
Validación y confiabilidad del instrumento

ANEXO N° 0

FICHA DE EVALUACIÓN INSTRUMENTO POR EXPERTO

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

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

Validado por:   Fecha: 
CMI 63841 Firma y sello

NOTA: Cualquier documento impreso diferente del original, y cualquier archivo electrónico que se encuentren fuera de la intranet UCV serán considerados como COPIA NO CONTROLADA.

 UCV UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO	ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS	Código : F06-PP-PR-02.02
		Versión : 09
		Fecha : 23-03-2018
		Página : 1 de 1

Yo MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ, docente de la Facultad de Ciencias Médicas y Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, revisor (a) de la tesis titulada:

" SINERGIA ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ACEITE DE
 MATRICARIA CHAMOMILLA CON CIPROFLUOXACINO SOBRE
 ESCHERICHIA COLI ATCC 25922
"

del (de la) estudiante KATJA ROCIO GUCUNRA PASUCÁN
 constato que la investigación tiene un índice de similitud de 3% verificable en el
 reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyó 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.

Lugar y fecha Trujillo 05 de Diciembre del 2019.



Firma

Dra. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

DNI: 17907759

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Responsable de SDC	Aprobó	Vice Rectorado de investigación
---------	----------------------------	--------	--------------------	--------	---------------------------------

FINAL con presupuesto

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	17%
2	Submitted to Universidad Andina del Cusco Trabajo del estudiante	2%
3	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	Laura Iveth Miranda-Estrada, María Ruíz-Rosas, José Molina-López, Isela Parra-Rojas et al. "Relación entre factores de virulencia, resistencia a antibióticos y los grupos filogenéticos de Escherichia coli uropatógena en dos localidades de México", Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2017 Publicación	1%
5	bdm.unb.br Fuente de Internet	<1%
6	Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA Trabajo del estudiante	<1%

7	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1%
8	www.repositorio.uileam.edu.ec Fuente de Internet	<1%
9	Submitted to Universidad Alas Peruanas Trabajo del estudiante	<1%
10	studenttheses.cbs.dk Fuente de Internet	<1%
11	www.lancet.mx Fuente de Internet	<1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 10 words

Excluir bibliografía

Apagado



**AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS
EN REPOSITORIO INSTITUCIONAL UCV**

Código : FOR-PP-PR-02.02
Versión : 09
Fecha : 23-03-2018
Página : 1 de 1

Yo Karla Rocío Cuevara Rosales, identificado con DNI N° 70207472
egresado de la Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo,
autorizo (X), No autorizo () la divulgación y comunicación pública de mi trabajo
de investigación titulado
" Sinergia antimicrobiana in vitro del aceite de Platanillo
Chamansilla con Ciprofloxacino sobre Escherichia Coli
ATCC 25922 ";
en el Repositorio Institucional de la UCV (<http://repositorio.ucv.edu.pe/>), según lo
estipulado en el Decreto Legislativo 822, Ley sobre Derecho de Autor, Art. 23 y Art.
33

Fundamentación en caso de no autorización:

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Carla Cuevara

FIRMA

DNI: 70207472

FECHA: 05 de diciembre del 2019.

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Responsable del SGC	Aprobó	Vice Rectorado Investigación
---------	----------------------------	--------	---------------------	--------	------------------------------