



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE LA HOJA DEL *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON VANCOMICINA, ESTUDIO IN VITRO.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO CIRUJANO

AUTORA:

MENDOZA MENDEZ ELIZABETH ESTEFANY (ORCID: 0000-0003-3664-517X)

ASESOR:

DR. RAÚL HECTOR MONTALVO OTIVO (ORCID: 0003-0227-8850)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

Trujillo – Perú

2021

DEDICATORIA

Esta Tesis de investigación se lo dedico a las personas que contribuyeron para el feliz término de mi vida profesional, de manera especial a mis padres, por ser mi ejemplo y fortaleza, por darme su amor y apoyo a lo largo de mi vida; guiándome en todo momento para seguir adelante, por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida.

Esta Tesis de investigación se lo dedico a mi familia quienes me apoyaron incondicionalmente en este largo camino del término de mi vida profesional.

Mendoza Méndez Elizabeth Estefany

AGRADECIMIENTO:

Quiero expresar mi total agradecimiento a quienes hicieron posible que este trabajo llegue a un feliz término. Por ello, es para mí un verdadero placer utilizar este espacio para ser justo y consecuente con ello, expresándoles mis agradecimientos.

A Dios por darme la vida y la salud, por ser el guía en mi camino a lo largo de mi carrera y estar siempre a mi lado, siendo mi fortaleza; que con su bendición me ha permitido pasar cada obstáculo y seguir adelante en el día a día en este camino de superación.

A la Escuela de Medicina de la Universidad César Vallejo, el mismo que me proporcionó los conocimientos para poder aplicarlos tanto en este trabajo como en mi vida profesional.

En Especial reconocimiento al Dr. Raúl Montalvo Otivo, como asesor en mi estudio de Investigación quien con su presencia incondicional, sus apreciados y relevantes aportes, críticas y sugerencias han hecho posible desarrollar adecuadamente esta investigación.

Agradezco de manera especial también al Mg. Blgo Gamboa Polo Jaime por ayudarme a realizar esta tesis bajo su dirección; por su confianza y capacidad para guiar mis ideas, no solamente para el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigadora, además del Blgo. Steve Hurtado por sus aportes y sugerencias para desarrollar esta investigación.

Finalmente mi profundo agradecimiento a mis padres Lila Paz y José Santos por su gran apoyo moral, por motivarme siempre en cada paso de mi vida , porque gracias a ellos he llegado hasta al final de esta linda etapa profesional.

Mendoza Méndez Elizabeth Estefany

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Carátula.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Índice de contenidos.....	iv
Índice de tablas.....	v
Índice de gráficos y figuras	vi
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO.....	4
III. METODOLOGÍA.....	14
III.1. Tipo y diseño de investigación.....	14
III.2. Variables y Operacionalización.....	14
III.3. Población (criterios de selección), muestra, muestreo, unidad de análisis	15
III.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	16
III.5. Procedimientos.....	16
III.6. Método de análisis de datos.....	17
III.7. Aspectos éticos.....	17
IV. RESULTADOS.....	18
V. DISCUSIÓN.....	23
VI. CONCLUSIONES.....	28
VII. RECOMENDACIONES.....	29
REFERENCIAS.....	30
ANEXOS.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N. °1: Efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja del <i>Cymbopogon citratus</i> “hierba luisa” sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 comparado con Vancomicina a 30 microgramos en un estudio in vitro.....	18
Tabla N° 2: Análisis de varianza del Efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja del <i>Cymbopogon citratus</i> “hierba luisa” sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 comparado con Vancomicina.....	20
Tabla N°3: Efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja del <i>Cymbopogon citratus</i> “hierba luisa” sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 comparado con Vancomicina.....	21
Tabla N°4: Efecto antibacteriano de la Vancomicina a 30 microgramos sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, in vitro.....	22
Anexo N° 2: Operacionalización de Variables.....	45
Anexo N° 9: Ficha de recolección de datos para medir el tamaño de los halos de inhibición sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	53
Anexo N° 10: Validación y confiabilidad del Instrumento.....	54

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS

Grafica Nº 1: Efecto antibacteriano del aceite esencial de la hoja del <i>Cymbopogon citratus</i> “hierba luisa” sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 comparado con Vancomicina.....	19
Figura 1: Recolección de la Planta.....	47
Figura2: Procedimiento de la extracción de aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i>	47
Figura 3: Procedimiento de Sensibilidad Antibacteriana con la técnica de Kirby & Bauer.....	51
Figura 4: Preparación de los discos y diluciones del aceite esencial de <i>Cymbopogon citratus</i>	52
Figura 5: Medición de Halos de inhibición de aceite esencia de <i>Cymbopogon citratus</i>	52

RESUMEN

El presente trabajo de investigación experimental in vitro, se realizó con el propósito de evaluar si el aceite esencial del *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” presentó efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparándose con vancomicina (control positivo). Se trabajó mediante cuatro diluciones (100, 75, 50 y 25%), control con vancomicina a 30 microgramos y DMSO, mediante el método de disco difusión de Kirby-Bauer, donde se realizaron 14 repeticiones por cada grupo de estudio.

Se obtuvo que el aceite esencial de *Cymbopogon citratus* “Hierba luisa” presentó halos de inhibición a partir de la concentración al 75% que fue de 36.7 mm (DS: 1.96 ± 0.52 IC 95% de 35.6 – 37.9) con un intervalo de 33 – 40 mm, el cual mostró eficacia antibacteriana según el patrón del CLSI (>15 mm) superando a la vancomicina con un halo de 26.72 (DS: 2.3 ± 0.62 IC 95% de 25.3 – 28) con un intervalo de 23 – 31 mm. Al 100% el halo de inhibición es igual al de 75%. Se pudo observar que a mayor dilución de este aceite el halo de inhibición aumenta.

Se concluye que el aceite esencial del *Cymbopogon citratus* “Hierba luisa” si tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pudiendo ser esto una alternativa para el tratamiento de infecciones provocadas por este agente.

Palabras Clave: Aceite esencial, diluciones, halos de inhibición, medicamento coadyuvante.

ABSTRACT

The present in vitro experimental research work was carried out with the purpose of evaluating whether the essential oil of *Cymbopogon citratus* "lemon verbena" had an antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparing it with vancomycin (positive control). It was worked through four dilutions (100, 75, 50 and 25%), control with vancomycin at 30 micrograms and DMSO, using the Kirby-Bauer diffusion disk method, where 14 repetitions were carried out for each study group.

It was obtained that the essential oil of *Cymbopogon citratus* "Lemon verbena" presented inhibition halos from the 75% concentration that was 36.7 mm (SD: 1.96 ± 0.52 95% CI of 35.6 - 37.9) with an interval of 33 - 40 mm, which demonstrated antibacterial efficacy according to the CLSI standard (> 15 mm), surpassing vancomycin with a halo of 26.72 (SD: 2.3 ± 0.62 95% CI of 25.3 - 28) with an interval of 23 - 31 mm. At 100% the inhibition halo is equal to 75%. It was observed that a greater dilution of this oil the inhibition halo increases.

It is concluded that the essential oil of *Cymbopogon citratus* "Lemon verbena" does have an antibacterial effect on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. This could be an alternative for the treatment of infections caused by this agent.

Keywords: Essential oil, dilutions, inhibition halos, adjuvant medicine.

I. INTRODUCCIÓN:

En el Área de Medicina un principal problema de salud en el ámbito intrahospitalario como extrahospitalario son las enfermedades por *Staphylococcus aureus* (SA), en los más pequeños la incidencia es alrededor de 30 casos por cada 100.000 personas.¹

Según la Organización Mundial de la Salud las infecciones son desencadenadas por agentes como bacterias, virus, parásitos u hongos.² En 1997 se estimó el porcentaje de causales de muerte, donde las patologías infecciosas ocuparon el primer lugar con un 33% de defunciones, seguidas de enfermedades cardiovasculares con el 29% y el cáncer. Tanto a nivel mundial y en particular en EE.UU han ido aumentando, llegando a ser un serio problema de salud pública de interés clínico-epidemiológico, debido a su alta incidencia de mortalidad.³

Las patologías infecciosas siguen situándose como la tercera causal de defunciones en países de vías de desarrollo, con una prevalencia de 36% por cada 100.000 personas en Latinoamérica, esto es debido a microorganismos multiresistentes como es el *S. aureus*, el cual que ha ido aumentando con los años.⁴ Actualmente en los países la incidencia por *Staphylococcus aureus metilino resistente* (SAMR) representan de un 25% a 50%⁵

El *Staphylococcus aureus metilino resistente adquirido en la comunidad* (SARM-AC) es causante del 80% de patologías de piel y tejidos blandos, en EEUU.⁶ Mientras que a nivel de población pediátrica abarca entre 16 y 70 casos por 100 000 pequeños.⁷ A nivel de Latinoamérica la prevalencia de SARM fue del 47% en la población, a nivel del Perú con 62%. La incidencia global de SARM-AC fue del 27 %.⁸

A nivel de Perú, las infecciones han sido, son y podrán seguir siendo un problema de salud pública por tener una elevada incidencia según la oficina epidemiológica y el Instituto Nacional de Salud en sus datos estadísticos de causas de muerte, donde las

infecciones ocupan el primer lugar con un 29%.³ Aproximadamente el 60% de todas las patologías asociadas a esta bacteria en pacientes ingresados a UCI son provocadas por SARM, estimándose que desarrollan una infección, uno de cada cinco pacientes colonizados a su ingreso.^{9,10}

Según Del Rio M. actualmente se está estudiando considerablemente nuevas posibilidades a los fármacos ya establecidos, es así que se están investigando sustancias fitoquímicas para desarrollar medicamentos basados en productos naturales contra patologías infecciosas.¹¹ En el Perú, la fitoterapia beneficia a la salud gracias a las importantes propiedades de diversas plantas que son de fácil acceso.

Como problema de investigación se planteó lo siguiente ¿La “hierba luisa”, tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con vancomicina a 30 microgramos (μg), en un estudio in vitro?

Para justificar el presente estudio, refiero que las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* constituyen problemas de salud importante en los diversos hospitales de nuestro medio. Las alternativas como terapéutica frente a estas infecciones causadas por este agente en hospitalizados tienden a ser limitada en parte por la variedad de antibióticos y por qué estos agentes desarrollan resistencia, debido a su inadecuado uso básicamente porque se utilizan en concentraciones sub terapéuticas o bien por períodos de tiempo largo e innecesario. Hay que tener en cuenta que la mayoría de la población utiliza la medicina tradicional como parte de su tratamiento farmacológico o en sustitución de este.

Por lo que debemos buscar nuevas terapéuticas que se puedan manejar en la población, además que se encuentra al alcance de la comunidad, con pocos efectos adversos, cuyo uso podría socializarse y contribuir para el control de infecciones por este agente, razón por la cual el presente estudio de investigación inserto el aceite esencial de la hierba luisa, como ícono para la medicina alternativa.

Alcanzando efectividad y presentando resultados favorables, será difundido como medio alternativo de tratamiento natural para patologías que estén relacionadas con este microorganismo y a la vez se realizaría más estudios al respecto con la finalidad de ingresarlo en los protocolos de tratamiento y guías de práctica clínica.

Las hipótesis planteadas en el estudio fueron:

H1: El Aceite de la “hierba luisa” presenta eficacia antibacteriana in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con vancomicina a 30 µg.

H0: El Aceite de la “hierba luisa” no presenta eficacia antibacteriana in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Teniendo como objetivo general planteado: Si la “hierba luisa” presenta eficacia antibacteriana in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Dentro de los objetivos específicos planteados fueron:

- Determinar la actividad antibacteriana de la hoja de “hierba luisa” en sus concentraciones de 25, 50, 75 y 100 % sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Evaluar la eficacia antibacteriana in vitro de la vancomicina a 30 microgramos (µg) y adicionalmente el DMSO sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Comparar el efecto antibacteriano de ambos tratamientos.

II. MARCO TEÓRICO

Oliveira J. et al¹² (Brasil, 2019), determinaron la actividad antibacteriana *in vitro* e *in vivo* del *Cymbopogon citratus* por medio de su aceite esencial contra *Staphylococcus spp.* Aislado en recién nacidos en una unidad de cuidados intensivos. El método *in vitro* se realizó mediante difusión por disco y microdilución, y para la evaluación *in vivo*, 30 ratas Wistar fueron heridas y sometidas a infección por *S. aureus* cepa DRJ080, seguido de tratamiento con vancomicina. Tanto la vancomicina como el *C. citratus* inhibieron el desarrollo de todas las bacterias *in vitro*. El aceite tuvo la misma eficacia que la vancomicina sobre *S. aureus* DRJ080 en ratas. Concluyendo que las cepas de *Staphylococcus* de los neonatos son sensibles al aceite de *C. citratus*, tanto *in vitro* e *in vivo*, demostrando así como alternativa antibiótica.

Mendoza A.¹³ (Ecuador, 2018) evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto oleoso y etanólico de *Cymbopogon citratus* sobre *Staphylococcus aureus* y *E. coli*. Concluyendo que hay efectividad antimicrobiana presentada por ambos extractos del *Cymbopogon citratus* sobre el agente evaluado.

Pájaro N. et al¹⁴ (Cuba, 2017) analizaron una mezcla de aceites esenciales sobre tres agentes implicados en el acné (así como el *Staphylococcus aureus*). Su composición química de esta combinación fue de tres plantas incluida el *Cymbopogon citratus*, el estudio de su aceite por cromatografía, y la actividad antimicrobiana fue mediante tipos de agar y caldos específicos. La combinación de estos aceites esenciales inhibió el crecimiento en más del 90 % para las bacterias a 1000 µg/mL. La CMI fue de 300 µg/mL para todas las bacterias evaluadas.

Fon Fay F. et al¹⁵ (Cuba, 2017) determinó el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de cuatro especies de plantas ecuatorianas incluida el *cymbopogon citratus*, por técnica de difusión de discos, y CMI de los aceites de estas plantas frente a diferentes agentes bacterianos incluido el *S. aureus*. Los aceites esenciales de *O. quixos* y *B. graveolens* mostraron gran eficacia antibacteriana a diferencia del aceite

de *C. citratus* que mostró actividad antibacteriana, con un halo de 21mm, pero poco efecto antifúngico.

Morillo C. ¹⁶ (Ecuador, 2017) determinó la actividad inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus*, in vitro, frente a *Porphyromona gingivalis* por medio de la técnica de Kirby-Bauer, con diluciones al 50%, 75% y 100% y teniendo como controles: Clorhexidina al 0,12% y suero fisiológico. Concluyendo que tiene efecto antibacteriano la dilución al 100% el cual tiene un halo de 14mm, al 50% y 75 % presento buen efecto inhibitorio con halos de 10 hasta 12 mm.

Azuero A. et al ¹⁷ (Ecuador, 2016) evaluaron la actividad antimicrobiana in vitro de los extractos metanólicos de doce hierbas medicinales incluida el *Cymbopogon citratus* mediante la técnica de difusión en agar frente a *Staphylococcus aureus*, Gram negativos y un hongo. Hallando que el *C. citratus* tiene alto efecto antifúngico pero poco efecto antibacteriano frente a *S. aureus* (6-8 mm).

Lanas G. ¹⁸ (Ecuador, 2015) determino el efecto antimicótico del aceite esencial de la hierba luisa sobre *C. albicans* frente a nistatina. Se obtuvo el aceite esencial por arrastre a vapor de agua a distintas concentraciones. Para lo cual coloco discos estériles con las diluciones de los aceites esenciales al 25%, 50%,75 y100%, y su grupo control, por 72 horas, para posteriormente medir los halos de inhibición. Concluyendo que existieron diferencias significativas según la prueba de Kruswal. El halo de inhibición al 100% de dilución fue 17,8mm.

Valverde P. ¹⁹ (Ecuador, 2015): evaluó el efecto antibacteriano in vitro por medio del aceite esencial de cinco plantas incluida el *Cymbopogon citratus* sobre tres cepas bacterianas y un hongo, incluido el *Staphylococcus aureus*. Concluyendo que el aceite de *Cymbopogon citratus* obtenido de las hojas mostro un gran efecto de inhibición, halo 37, 5 mm frente a *S. aureus*, a comparación de las otras plantas.

Meza K. et al ²⁰ (Ecuador, 2013) evaluaron el efecto antibacteriano del aceite esencial de la Hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) frente a *Propionibacterium acnés*, para lo cual elaboraron una loción formulada a partir de su aceite. Concluyeron que la loción formulada frente a *P. acnés* tiene inhibición similar al aceite esencial al 5 % con valores muy cercanos de 14,83 mm y 15,68 mm.

M. O Sores et al ²¹ (Angola, 2013) determinaron la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial del *Cymbopogon citratus* obtenidas por hidro-destilación para el aceite y método de difusión en agar de disco para la sensibilidad sobre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y otras bacterias. Concluyendo que el *C. citratus* tiene eficacia antimicrobiana sobre bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y frente a *Staphylococcus aureus*, hallando en su concentración al 5% un halo de 9,8 ±1,9mm, 20% (16,9 ±1,6mm), 45% (18,4±1,5mm), 60% (22,3±2,8mm), 80% (37,0±2,3mm) y al 100% (24,0±0,7mm).

Cabrera C. ²⁵ (Perú, 2019) evaluó la actividad antimicrobiana de un sistema obtenido, mezclando en partes iguales, el extracto alcohólico de semillas de *Citrus paradisi*, y aceites esenciales de tres plantas incluida el *Cymbopogon citratus*. Concluyendo que el método propuesto presento actividad antibacteriana sobre los microorganismos evaluados.

Quintos D. ²⁶ (Perú, 2019) determinó la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* “hierba luisa” sobre cepa del *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro, por medio de dos diluciones al 70% y 100%, empleando 20 repeticiones, mediante la prueba de Kirby Bauer. Obteniendo como resultado un halo promedio de 18 mm, en su dilución al 100%; pero al 70 % obtuvo muy bajo con un halo de 7 mm. Teniendo al 100% mayor efecto antibacteriano.

Fernández S. ²⁷ (Perú, 2018) determinó el efecto antibacteriano in vitro de la hoja de “hierba luisa” sobre a *E. coli* comparado con ciprofloxacino, por medio de concentraciones (100%, 75%, 50%, 25%) y control negativo (agua destilada). Teniendo como resultado que al 100% mostro un halo de 13.58mm. Al 75% el efecto

fue (10.50mm), al 50% fue (7.42mm) y al 25% no se observó actividad. Concluyendo que posee efecto inhibitorio, pero este no supera al del ciprofloxacino.

Paravecino L. ²⁸ (Perú, 2018) evaluó la efectividad antibacteriana del *Cymbopogon citratus*, sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 por diluciones al 25%, 50% y 75% en 10 repeticiones, con control positivo de clorhexidina al 0.12%. Hallando que las diluciones presentan diferencia estadística con el grupo control, al 50% y 75%. Concluyendo que poseen efecto ambos grupos de control sobre *S. mutans*.

Auccapiña E. et al ²⁹ (Perú, 2017) determinó la caracterización y efecto antibacteriano de la hierba luisa. Su eficacia antimicrobiana se evaluó sobre *E. coli* y *S. aureus* mediante la concentración mínima inhibitoria. Hallando como resultado que el aceite esencial posee eficacia antibacteriana y puede ser destinado como un producto antimicrobiano por sus principios activos, principalmente por el citral.

Cerna V. ³⁰ (Perú, 2016) evaluó la eficacia antimicrobiana del extracto oleoso de *Cymbopogon citratus* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro, en concentraciones (5%; 2.5%; 1.25%, 0.625%; 0.312%; 0.078%; 0.039%) a los que se inyectó *S. mutans* ATCC 25175, por medio de CMI, mediante la espectrofotometría y CMB para observación del crecimiento de bacterias. Teniendo como resultado de 1.25%, atribuyéndole al citral, como posible efecto antibacteriano.

Aguilar L. ³¹ (Perú, 2013), en su estudio experimental in vitro, comparó la actividad inhibitoria del aceite esencial y del extracto etanólico del *C. citratus* sobre *Cándida albicans*, realizando 13 repeticiones para cada dilución (5%, 25%, 50%, 75%, 100%) de ambos extractos. Obtuvo el halo de inhibición mediante la difusión en Discos, con promedio de 40 mm (De todas las diluciones del aceite esencial) y sólo del extracto etanólico al 100% fue 40mm, sus otras concentraciones mostraron halos inhibitorios menores, pero aumenta cuando se incrementa la dilución. En relación al aceite esencial al 50% no se identificó UFC. Concluyendo que el efecto inhibitorio sobre *C.*

albicans fue mínimo con el extracto etanólico y se logra solo al 100% a diferencia del al aceite esencial.

Las patologías infecciosas según la OMS siguen situándose como tercera causal de defunciones en países de vías de desarrollo, con prevalencia de 36% por cada 100.000 personas en Latinoamérica, esto es debido a microorganismos multiresistentes como es el *S. aureus*.⁴ En su último reporte acerca de la resistencia a los antimicrobianos, menciona que esto genera una amenaza de salud pública que puede afectar a los seres humanos en cualquier país del mundo.³⁶ Actualmente nos da una clara situación sobre la resistencia frente a fármacos de primera línea por las diferentes bacterias, en todos los países. Donde hace mención a resistencia de los principales fármacos como tratamiento frente a infecciones por *S. aureus*, siendo este agente el principal causante de Infecciones Intrahospitalarias en la Comunidad. Calculando que tienen una probabilidad de un 64 % de morir si son meticilino resistente, a diferencia de los que no lo son.³⁷

El *Staphylococcus aureus* (SA) es un coco gram positivo, anaerobio facultativo; de mucho interés en salud desde años atrás, conocido por ser uno de los patógenos principales, perteneciente a la familia de los *Micrococaceae*, género *Staphylococcus*, muchas son reservorios de piel y membranas mucosas del ser humano. El cual no posee una segunda membrana externa lipídica en su pared celular.³⁸ Asimismo esta no forma esporas y es no móvil. Puede hallarse en racimos, sola, en pares, en cadenas pequeñas, sus colonias miden de 1 a 3 mm.³⁹ Entre los factores de patogenicidad y virulencia tenemos a hialuronidasas, hemolisinas, fosfatasas y coagulasas que coagulan el fibrinógeno en el plasma, de tal forma que los coágulos protegen a la bacteria de la fagocitosis y lo aíslan de otras defensas del huésped.⁴⁰

La OMS no solo da interés a las terapias tradicionales y su ámbito mundial, sino que ha creado una Oficina de medicinas tradicionales, reconociendo que éstas siguen aún muy poco reglamentadas. Por lo cual es importante que los pacientes y ciudadanos obtengan información comprobada y así poder tener acceso a productos seguros,

eficaces y de calidad. Además admite la utilización de fitoterapias, cuando estas se han comprobado y simbolizan un riesgo mínimo para el uso del paciente.⁴¹

La hierba luisa conocida como *Cymbopogon citratus*, pertenece al género *Poaceae*, hábitat en Ancash, Cusco, La Libertad, Loreto, Madre de Dios, con 150-260 msnm, entre sus usos terapéuticos tradicionales tenemos: afección respiratoria, relajante, sedante, antiespasmódico, carminativa, digestivo, restablece la irregularidad menstrual y sobrepeso.⁴² Conocida por nuestra Amazonia como Yerba Luisa, con nombre científico de *Cymbopogon citratus*, es una planta rizomatosa, forma macollos compactos hasta de dos metros de altura, con hojas lineares, su largo son de 20 a 100 cm y 0.5 a 1.5 cm de ancho, cultivada en todo el Perú.⁴³

Se ha usado grandemente por sus efectos medicinales, cosméticos y nutricionales durante años. Además se ha publicado grandes reportes que describen las acciones farmacológicas, biológicas y terapéuticas de esta planta. Los componentes de los aceites esenciales que se hallan en el *C. citratus* tienen propiedades farmacocinéticas similares, que incluyen absorción, distribución, metabolismo y excreción. Se absorben rápidamente después de la administración oral, pulmonar y dérmica.⁴⁴

En base a los reportes publicados, se puede inferir que, después de la absorción en el intestino delgado, algunos fitoquímicos en *C. citratus* pueden sufrir oxidación, glucuronidación, sulfatación y / o O- metilación. La eliminación se realiza a través de la orina, las heces y / o los volátiles expirados. Las reacciones de biotransformación de los componentes bioactivos de *C. citratus* son esenciales para su consumo relativamente seguro y aplicaciones terapéuticas. Los datos disponibles hasta ahora justifican la realización de estudios adicionales que evalúen *C. citratus* farmacocinética. Los datos farmacocinéticos fiables en seres humanos serían fundamentales para una mejor comprensión del manejo sistémico de *C. citratus*.⁴⁴

Presenta compuestos de citral, geraniol, metil-engenol, mirceno, citronelal, ácido acético y caproico. Dentro de sus usos, su raíz se utiliza para tos seca y afecciones de garganta (rizomas), de sus hojas su uso contra el paludismo, procesos respiratorios, relajantes y sedantes, además de ser antiespasmódico, carminativo, y digestivo.⁴³

Parte de sus hojas y tallos poseen principios activos como: Esencia: citral, citronelal, geranial, geraniol, ácido cafeico, limoneno, linalol, mentona, cimbopogonol, cimbopogona.⁴⁵ Dentro de sus propiedades e Indicaciones terapéuticas posee efectos diuréticos e hipotensores y levemente sedantes del sistema nervioso, además se le atribuye como planta digestiva, carminativa y antiespasmódica.⁴⁶

Alcanza una altura hasta de 1 metro, con propiedad de almacenar aceites esenciales en sus hojas y tallos, y en menor cantidad en sus raíces y glumas. El compuesto principal es el citral y la población rural ha dado importancia a esta planta como uso medicinal y para la conservación de los suelos, por tener un rápido crecimiento y adaptarse a diferentes condiciones. Sin embargo un suelo anegado y un clima mayor de los 800 m. no favorecen la producción de aceite esencial y de citral. El primer corte se realizara más o menos a los ocho meses posteriores del cultivo, y los siguientes pueden realizarse cada cuatro meses. Los rendimientos varían de acuerdo a la densidad de la siembra, el tiempo de cosecha y fertilización aplicada. ⁴⁷ Para un cultivo mejor debe encontrarse en zonas tropicales y subtropicales, con rango de 100-900 msnm, con lluvia intermitente pero no excesiva, ya que las lluvias reducen la calidad del aceite, al disminuir su compuesto de citral hasta en 5%, mientras que un clima caluroso favorece una mayor producción.⁴⁸

El suelo influye tanto para su desarrollo, rendimiento y aceite, por eso es importante cultivarlo en suelos drenados y con material orgánico. Durante su cosecha las hojas se cortan por primera vez de 5-9 meses después de su instauración, posteriormente puede realizarse cada 3-4 meses con 3 a 4 cortes al año, en zonas lluviosas a diferencia de zonas subtropicales donde es recomendable cortes cada 12 semanas para la producción de aceite.⁴⁸ Época de floración se da en Julio y Agosto. Tiene variedad de propiedades, además el aceite se volatiliza al secarse. ⁴⁹ Dentro de sus principios activos alcoholes tenemos: farnesol, geraniol, nerol. En los Aldehídos tenemos: citral, citronellal. Terpenos como: limoneno mircenol.⁵⁰ Esta planta contiene un aceite volátil (compuesto principalmente por citral, cineol, limoneno y geraniol), mucilago, taninos y flavonoides. Es una planta aromática y ornamental, con olor a limón.⁵¹

Las especies de *Cymbopogon* se han utilizado como medicina tradicional en muchos países. De todas las especies revisados, *C. citratus* y *C. flexuosus* son los más utilizados en los métodos tradicionales y convencionales medicinales debido al potencial farmacológico de sus fitoquímicos. La mayoría de estas especies contienen una cantidad voluminosa de aceites esenciales que han mostrado varias actividades biológicas tales como efectos insecticidas, antiprotozoarios, anticancerígenos, anti-VIH, antiinflamatorios y antidiabéticos.⁵² Dentro de su composición química posee el Citral, el cual le da ese efecto antimicrobiano.⁵³

Compuesto de aceite esencial (3%), con 80 % de citral y otras sustancias. Su aceite esencial posee efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, debido a su compuesto de geraniol y de neral.⁵⁴

El Citral es un líquido amarillo transparente, no soluble en agua. Dentro de sus mecanismos de acción actúa: Hongos (su mecanismo de acción frente a la membrana celular fúngica, alterando su estructura, conllevando a su muerte celular), en las bacterias (genera cambios en su forma y tamaño de este agente, alterando a nivel intracelular su pH y potencial de membrana, bajando sus concentraciones de ATP, destruyendo su membrana) y en células humanas (causa inhibición de la biosíntesis del ácido retinoico).⁵³

El *C. citratus* produce un aceite volátil por medio de la extracción a vapor de sus hojas, se muestra que dos de los tres principales componentes identificados a través de métodos de espectrometría de masas y cromatográficos, como sus elementos alfa-citral (conocido como geranial) y beta-citral provocan individualmente acción antibacteriana sobre los organismos gram-negativas y gram-positivas y su tercer componente mirceno, no mostró actividad antibacteriana observable, pero cuando este se mezcla con cualquiera de los otros dos componentes potencia su actividad. La planta fresca proporciona entre el 0.5-0.7% de principales componentes que son el citronelal y el aceite esencial. Dentro del efecto antibacteriano por medio de la fracción cromatográfica del aceite esencial de esta planta en placa de agar esta fue activa frente a *Bacillus Subtilis*, *Escherichia Coli* y *Staphylococcus aureus*.⁵⁵

La Vancomicina es un glucopéptido, derivado de la *Streptomyces orientalis* en 1956, estos últimos años ha ido incrementándose por aumento de resistencia del *S. aureus* a cloxacilina. En su estructura química consta de un disacárido (vancosamina y glucosa), dos unidades de hidroxiclortirosina, tres sistemas fenilglicina sustituidos, N-metil-leucina y la amida del ácido aspártico, todos estos unidos por una cadena peptídica de siete miembros.⁵⁶ Este fármaco inhibe la síntesis de peptidoglucanos en un paso previo a los B-lactámicos, evitando su polimerización que es importante para que el complejo disacárido-pentapéptido se divida del fosfolípido de membrana, acumulándose unido a la membrana citoplasmática bacteriana, para así inhibir su pared bacteriana.⁵⁶

Este fármaco forma complejos con las cadenas de péptidos (contienen D-alanil-D-alanina), evitando de esta manera la acción enzimática y alterando la permeabilidad de su membrana, inhibiendo la síntesis de ARN. Son sensibles los Gram positivos y *S. aureus*, incluso meticilino resistente y *el S. epidermidis*, también lo son los *estreptococos*, a excepción del Enterococo, está asociado a aminoglucósidos por su acción sinérgica. Se considera un fármaco con alta toxicidad y valorado como el fármaco de primera instancia sobre *S. aureus meticilino resistente*.⁵⁶

Es un glucopéptido tricíclico producido por el *Streptococcus orientalis*, es activa frente a Gram positivos y se considera que bacterias de *S. aureus* son susceptibles con MIC ≤ 2 ug/ml. Casi todos los bacilos Gram negativos y micobacterias son resistentes a este fármaco. Debido a su gran tamaño molecular, no pueden atravesar la membrana externa de los Gram negativos. Tiene como mecanismo de acción inhibir la síntesis de la pared bacteriana, eso lo hace debido a su gran afinidad de unión, al extremo terminal o terminación D-alanil-D-alanina, unida a su portador lípido y bloqueando la unión al polímero glucopéptido (estos se encuentran internos en su pared bacteriana), generando así su inhibición de polimerización o reacción de transglucosilasas. En general este fármaco es bactericida frente a bacterias susceptibles excepto enterococos. Su uso ha contribuido frente a infecciones incluido endocarditis y osteomielitis producidas por estafilococos susceptibles o resistentes a la meticilina.⁵⁷

III. METODOLOGÍA

3.1. DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO: Aplicada.

DISEÑO: Experimental con repeticiones múltiples, post prueba. (ANEXO N°01).

3.2. VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

VARIABLES:

V. INDEPENDIENTE:

Agentes antibacterianos para *S. aureus* ATCC 25923.

- a) Agente antibacteriano no farmacológico: El aceite esencial de la hoja del *Cymbopogon citratus* (hierba luisa).
- b) Agente antibacteriano farmacológico: Vancomicina a 30 ug (Gold estándar).

V. DEPENDIENTE:

Efecto Antibacteriano del *Cymbopogon citratus*.

-Si efecto Antibacteriano: Halo inhibitorio >15mm

-No efecto Antibacteriano: Halo inhibitorio <15mm

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES: (Ver ANEXO 03).

POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

POBLACIÓN: Conformada por todas las cepas de *S. aureus* ATCC 25923, cultivados en el Laboratorio de la Universidad Cesar Vallejo.

CRITERIOS DE SELECCIÓN: Los criterios considerados fueron:

Criterios de inclusión:

- Placas Petri con cultivos viables.
- Cepa estándar de *S. aureus* ATCC 29213.

Criterios de exclusión:

- Cepas de *S. aureus* ATCC 29213 que no crecieron en los medios de cultivos.
- Cepas contaminadas.

MUESTRA:

Por ser una investigación experimental se empleó la fórmula de diferencia de promedio sobre halos de inhibición. ⁶³ Considerando 14 repeticiones por cada grupo de estudio. (Ver Anexo N° 02).

Unidad de análisis: Cada uno de los cultivos.

Unidad de muestra: Conformada por Placas Petri.

Muestreo: Aleatorio simple.

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

LA TÉCNICA: Se empleó la observación directa del crecimiento de bacterias sembradas en las placas Petri y registro de la medida de los diámetros de las zonas de inhibición.

INSTRUMENTO: Se utilizó una Ficha de registro de datos que consistió en el número placas, concentraciones y la medición de halos expresada en milímetros. (Anexo 06).

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

Los instrumentos fueron validados y evaluados por 3 expertos que garantizaron la validez, criterios de estimación y el logro de los objetivos del estudio. (Anexo 07).

3.4. PROCEDIMIENTOS:

A. Extracción del extracto del aceite esencial de la hoja de *Cymbopogon citratus* “hierba luisa”: Mediante el método de Arrastre a vapor, donde se obtuvo los principios activos^{64,65,66} (Anexo 04)

B. Método para el cultivo: Müller Hinton, a 37°C durante 24 horas.^{61,62}

C. Determinación de la Sensibilidad: Mediante el método de Kirby & Bauer (difusión de disco)^{61,62} (Anexo 05).

D. Se usó como control a la vancomicina y el DMSO.

Los principios activos del *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) se obtuvo mediante la técnica de extracción del aceite esencial por arrastre a vapor.^{64,65,66} (Ver Anexo 04), el cultivo se realizó en agar Mueller Hinton a 37°C durante 24 horas y para determinar la sensibilidad antimicrobiana este se realizó por medio del método de difusión de disco (Kirby Bauer)^{61,62} (Ver Anexo 05).

3.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

Se usó la estadística descriptiva, los resultados de la ficha de recolección de datos se consignaron en tablas en Excel, su base de datos fueron procesados en SPSS 26.0 versión para Windows, esta fue presentada mediante tablas y gráficos de cajas o bigote.

Se empleó el análisis estadístico de los datos obtenidos se aplicó las pruebas estadísticas de ANOVA y la Prueba de Tukey o Post-Anova para ver la Homogeneidad de la muestra, lo cual permitió identificar la dilución con la que se obtuvo el mayor tamaño de halo de inhibición.

3.6. ASPECTOS ÉTICOS:

El presente estudio se realizó respetando las Técnicas de Bioseguridad dadas por el MINSA.^{59, 61} (Anexo 09). Se obtuvo también la aprobación del Comité de Investigación Médica de la Universidad César Vallejo de Trujillo y respetando la norma ética de Colegio Médico del Perú adoptado en el capítulo 6 de código de ética, art 48.⁶⁰

IV. RESULTADOS

TABLA 1. Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial del *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y Vancomicina en diferentes concentraciones.

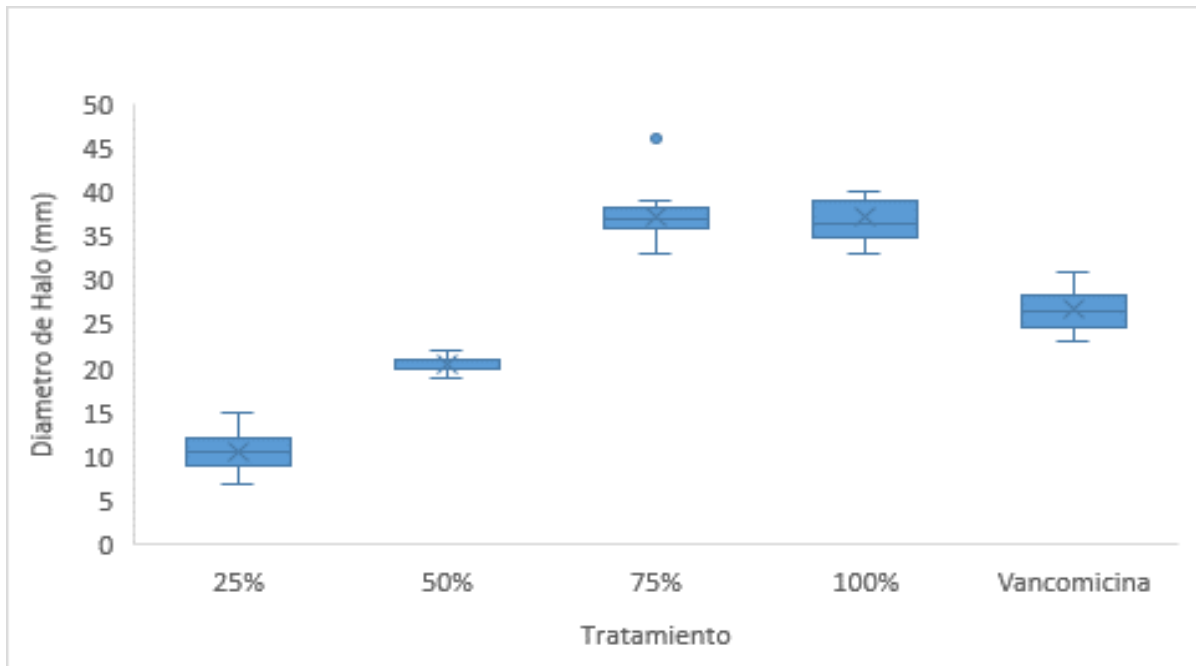
Diluciones	Media	Mediana	Desviación estándar	Error estándar	IC 95%		Mínimo	Máximo
					Li	Ls		
25%	10.6	10.5	2.2	0.57	9.4	11.9	7	15
50%	20.4	20	0.9	0.25	19.8	20.9	19	22
75%	36.7	37	1.96	0.52	35.6	37.9	33	40
100%	37.1	36.5	3.3	0.88	35.2	38.9	33	46
Vancomicina	26.7	26.5	2.3	0.62	25.3	28	23	31

LI= Límite inferior; LS=Límite superior.

Fuente: Salida de Software SPSS 26.0

Interpretación: De la presente tabla diremos que para evaluar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de la hoja del *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se estimó el diámetro del halo inhibitorio logrando un promedio de 10.6, 20.4, 36.7, 37.1mm para las concentraciones de 25, 50, 75, 100% respectivamente y de 26.7 cm para el control positivo (vancomicina). El aceite esencial de hierba luisa mostro halos de inhibición a partir de la dilución del 75% (36.7 mm) con un intervalo de 33 – 40 mm, mostrando efecto según patrón del CLSI (>15 mm) el cual supera al de la vancomicina de 26.72 con un intervalo de 23 – 31 mm. Al 100% el halo de inhibición es igual al de 75%.

GRAFICO 01. Comparación del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de la hierba luisa comparado con vancomicina, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



Fuente: Salida de Software SPSS 26.0

TABLA 2. Análisis de varianza de los halos de inhibición del aceite esencial de la hoja del *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” y vancomicina sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Diámetro de Halo (cm)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7208.2	4	1802.1	286.5	0.000
Dentro de grupos	408.8	65	6.3		
Total	7617.0	69			

Fuente: Salida de Software SPSS 26.0

Interpretación: Al comparar la efectividad antibacteriana del aceite esencial del *Cymbopogon citratus* “hierba luisa” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con el control positivo de la Vancomicina, primero analizamos que los diámetros de halo presenten normalidad (Anexo 10) demostrado ello, incorporamos a los diámetros de halo al análisis de varianza para determinar si existe diferencia entre ellos la cual nos indica que alguna de las diluciones presenta mayor efecto que otra ($p < 0.01$) por lo que es necesario realizar la prueba post Anova de Tukey por tener igual varianza (ver Anexo 11) para identificar quien de ellos tiene mejor efecto.

TABLA 3. Actividad antibacteriana de la hierba luisa sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Vancomicina.

HALOS DE INHIBICION

Diluciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
25%	14	10.6			
50%	14		20.4		
75%	14				37.2
100%	14				37.1
Vancomicina	14			26.7	

Fuente: Salida de Software SPSS 26.0

Interpretación: Para identificar quien tiene mejor efecto que el control positivo como la vancomicina usamos la prueba Post Anova de Tukey por tener homogéneas sus varianzas (ver tabla 02), esta prueba agrupa en primer lugar como efecto similar a la concentraciones de 75% y 100% (37.2 y 37.1mm) respectivamente dejando en segundo lugar al efecto de la vancomicina (26.7mm) y por ultimo las diluciones de 25 y 50% logrando efectos mínimos en cuanto al diámetro medio de halo inhibitorio se refiere.(ver gráfico 01).

TABLA 4. Efecto antibacteriano de la Vancomicina a 30 microgramos sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, in vitro

Diluciones	Media	Mediana	Desviación estándar	Error estándar	IC 95%		Mínimo	Máximo
					Li	Ls		
Vancomicina	26.7	26.5	2.3	0.62	25.3	28	23	31

LI= Límite inferior; LS=Límite superior.

Fuente: Salida de Software SPSS 26.0

Interpretación: El diámetro de halo inhibitorio encontrado en la vancomicina es de 26.7 mm (DS 2.3 ± 0.62 IC 95% 25.3 - 28)

V. DISCUSIÓN:

La presente investigación experimental tuvo como objetivo evaluar el efecto antimicrobiano de la hierba luisa” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Vancomicina 30 µg, in vitro, con 14 repeticiones de estudio. El aceite esencial del *Cymbopogon citratus* “hierba luisa”, se realizó mediante diluciones al 100%, 75%, 50% y 25%, Vancomicina 30 µg y un control negativo con DMSO.

Como podemos apreciar en la **Tabla N°1** se mostró la media de halos inhibitorios de las diferentes concentraciones del *Cymbopogon citratus* y su control con vancomicina; estimándose el diámetro del halo inhibitorio, logrando un promedio de 10.6, 20.4, 36.7, 37.1mm para las concentraciones de 25, 50 75, 100% respectivamente y de 26.7 cm para el control positivo como es la vancomicina, donde resaltamos que las concentraciones de 75% y 100% superaron al control positivo, con una estimación interválica a un nivel de confianza del 95%, donde se estimó un diámetro medio de 35.6 a 37.9mm en la concentración de 75% de igual manera en la concentración de 100% su estimación de la media fue de 35.2 a 38.9mm, donde podemos afirmar que supera a la vancomicina (25.3 a 28mm) a un nivel de confianza del 95%.

Por otro lado, resaltamos que los valores mínimos de los halos inhibitorios en las concentraciones de 75 y de 100% llegando a 33 mm en ambos casos, superan también al control positivo (23mm) y sus valores máximos de 40 y 46 mm donde también superaron a la vancomicina (31mm).

En la **Tabla N°02** se estudió sus varianzas, al comparar la actividad antibacteriana de la hierba luisa” frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con el control positivo de la Vancomicina, primero analizamos que los diámetros de halo presenten normalidad (Anexo 10) demostrado ello, incorporamos a los diámetros de halo al análisis de varianza para determinar si existe diferencia entre ellos la cual nos indica que alguna de las diluciones presenta mayor efecto que otra con $p < 0.01$ por lo que es necesario realizar la prueba post Anova de Tukey por tener igual varianza (ver Anexo 11) para identificar quien de ellos tiene mejor efecto. **Tabla N°03** observamos que esta prueba

agrupa en primer lugar como efecto similar a la concentraciones de 75% y 100% (37.2 y 37.1mm) respectivamente dejando en segundo lugar al efecto de la vancomicina (26.7mm) y por ultimo las diluciones de 25 y 50% logrando efectos mínimos en cuanto al diámetro medio de halo inhibitorio se refiere. Aumentando su concentración del aceite es mayor su halo de inhibición.

En el **gráfico 1** se puede visualizar la comparación de las medias, claramente las concentraciones al 100 y 75%, presentan mayor efecto con mayor halo inhibitorio que la vancomicina.

Aún hay muy pocos estudios acerca de la eficacia de esta planta, no obstante los resultados hallados en este presente trabajo son mayores, se ha comparado con estudios como los de **Fonfay y colaboradores**¹⁵ es su estudio evaluó la actividad antimicrobiana de aceites esenciales de 4 especies de plantas, incluida el *Cymbopogon citratus*, mediante método de difusión en discos, por concentración mínima inhibitoria, sobre diferentes bacterias incluida también *Staphylococcus aureus*, obteniendo un halo de 21 mm, mostrando así efecto antibacteriano, similar al presente trabajo.

Así también **Oliveira J. et al**¹² evaluaron el efecto antibacteriano in vitro e in vivo del extracto oleoso de *Cymbopogon citratus* contra *Staphylococcus spp.* Aislado de recién nacidos en una unidad de cuidados intensivos. El método *in vitro* se realizó mediante difusión por disco y microdilucion, y para la evaluación *in vivo*, 30 ratas Wistar fueron heridas y sometidas a infección por *S. aureus* cepa DRJ080, seguido de tratamiento con vancomicina. Tanto la vancomicina como *C. citratus* inhibieron el desarrollo de todas las bacterias *in vitro*. El aceite presento el misma efecto que la vancomicina sobre *S. aureus* DRJ080 en ratas. Concluyendo que las cepas de *Staphylococcus* de los neonatos son sensibles al aceite de *C. citratus*, tanto *in vitro* e *in vivo*, demostrando así como alternativa antibiótica.

Otro estudio como el de **Morillo C. et al**¹¹ quienes evaluaron el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* encontraron un halo de inhibición al 100% de 14 mm, y en las diluciones de 50 y 75% obtuvieron un halo de 10- 12mm,

presentando efecto antibacteriano. Similar a sus resultados fue el de **Mendoza A.**¹³ evaluó el efecto antibacteriano in vitro del extracto oleoso y etanólico de *Cymbopogon citratus* sobre *S. aureus* y *E. coli* por difusión de disco, por medio de cuatro diluciones para el extracto etanólico (25%, 50%, 75% y 100%), el aceite esencial al 100% y agua bidestilada (control negativo). Se halló que los extractos etanólicos de *C. citratus* presentaron efecto antimicrobiano y el aceite esencial (9.8 mm), refiriendo que a mayor concentración del extracto, mayor es su efecto y que la actividad del aceite esencial es mayor al del extracto etanólico ($p < 0.001$). Concluyendo que hay efectividad antimicrobiana presentada por el aceite esencial y etanólico del *Cymbopogon citratus* sobre el agente evaluado. Así mismo **Azuero A.**¹⁷ muestra que la hierba luisa posee poca actividad bacteriana, encontrando un halo inhibitorio de 6-8 mm sobre *S. aureus*, pero menor que el hallado en este trabajo.

En los resultados por **Lanas G.**¹⁸ en sus diferentes concentraciones de aceite esencial al 25%, 50%, 75 y 100%, muestra que en su dilución 100% encontró un halo de inhibitorio de 17.8 mm, presentando así actividad, al igual que en los estudios realizados por **Meza K. et al**²⁰ encontró halos de inhibición de 14,83 mm y 15,68 mm, teniendo ambos efectos antibacterianos similar al presente trabajo.

Respecto al estudio **Valverde P.**¹⁹ quien encontró un halo de inhibición de 37,5 mm, muy similar a lo hallado en el presente trabajo, indicando halos inhibitorios grandes, mostrando así en ambos trabajos la relación fue directamente proporcional de los halos de inhibición y la concentración, similar a estos estudios es el de **M. O Sores et al**²¹ determinaron la eficacia antibacteriana por hidro-destilación para el aceite y método de difusión en disco para la sensibilidad sobre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y otras bacterias. Concluyendo que el *C. citratus* posee eficacia antimicrobiana sobre bacterias Gram-positivas, Gram-negativas y frente a *Staphylococcus aureus*, hallando en su concentración al 5% un halo de $9,8 \pm 1,9$ mm, 20% ($16,9 \pm 1,6$ mm), 45% ($18,4 \pm 1,5$ mm), 60% ($22,3 \pm 2,8$ mm), 80% ($37,0 \pm 2,3$ mm) y al 100% ($24,0 \pm 0,7$ mm).²¹

Medeiros L. et al²³ en su concentración de 10 ul obtiene un halo de inhibitorio de $16,5 \pm 0,7$ mm sobre *St. aureus* frente a oxacilina (18mm), pero su concentración de 20 ul

tuvo mayor efecto de $19,5 \text{ mm} \pm 0,7$, mostrando halos de inhibición que poseen efecto antibacteriano, que corroboran el presente estudio realizado. A diferencia del estudio de **Cabrera C.**²⁵ quien evaluó la actividad antimicrobiana de un sistema obtenido, mezclando en partes iguales, el extracto alcohólico de semillas de *Citrus paradisi*, y aceites esenciales de tres plantas incluida el *Cymbopogon citratus* sobre *Staphylococcus aureus* y otras cepas evaluadas, por medio de difusión en pozo. El efecto antibacteriano se evaluó por medición de halos. Individualmente el aceite esencial de *C. citratus* no mostró efecto sobre *S. aureus*, a diferencia de las otras bacterias. A diferencia de la técnica propuesta que presentó efecto frente *S. aureus*: (inhibición total). Concluyendo que el método propuesto presentó actividad antibacteriana sobre los microorganismos evaluados, mostrando su efecto bactericida.

En el estudio de **Quintos D.**²⁶ determinó la actividad antibacteriana de la hierba luisa sobre cepa del *Streptococcus mutans* in vitro, por medio de dos diluciones al 70% y 100%, empleando 20 repeticiones, mediante la prueba de Kirby Bauer. Obteniendo como resultado un halo promedio de 18 mm, en su dilución al 100%; pero al 70 % obtuvo muy bajo con un halo de 7 mm. Teniendo al 100% mayor efecto antibacteriano. Similar al estudio **Aguilar L.**³² donde muestran los resultados en similitud al presente trabajo, obteniendo halos de inhibición mediante la Difusión en Discos, con promedio de 40 mm (De todas las diluciones del aceite esencial), pero en diferente agente antibacteriano como lo es *Candida albicans*, corroborando efecto similar al presente estudio en ambos trabajos pero en diferentes cepas de estudio.

A diferencia de **Cabrera C. et al**³⁴ donde indican que hierba luisa posee actividad antibacteriana con un halo inhibitorio de $9,5 \pm 0,9 \text{ mm}$ en su concentración al 100% pero menor que la vancomicina ($20,4 \pm 1,8 \text{ mm}$), resultados menores a este presente trabajo.

Por otra parte **Borja F.**³² obtuvo halos de inhibición de 21.8mm y 23 mm ($p < 0,05$), indicando tener efecto y es más eficaz que su grupo control (Clorhexidina 0.12%). Otro estudio que valida los resultados hallados y que indica tener efecto. Los resultados son muy similares a los de **Maraví G.**³³ donde obtuvieron en su dilución de 100% un halo

de inhibición 22.27 ± 3.67 mm frente a *S. mutans*, en *L. acidophilus* fue 20.15 ± 0.20 mm (al 100%) y *C. albicans* fue 76.15 ± 0.42 mm (90%), pero a diferencia de la cepas antibacterianas utilizadas. Otro estudio similar es el de **Alzamora L. et al** ³⁵ realizado aquí en Perú, donde hallaron halo de inhibición de 20 mm (sensible) frente a *St. aureus* ATCC y 23 mm frente a *St. aureus* INS, con resultados semejantes a los hallados en el presente estudio.

Para finalizar se puede apreciar que muchos de los estudios previos corroboran el efecto antibacteriano, ya sea por el mismo método utilizado y cepa bacteriana, otras con diferente método y agente bacteriano, pero indicando así su efecto antimicrobiano, a su vez hay antecedentes con diferencias en sus resultados que contrastan el estudio de investigación realizado y esto puede deberse a diversos factores de extracción del producto, el suelo en el que se desarrolló la planta, el clima, que influyen en relación a sus principios activos.

Los resultados de esta investigación brindan una nueva alternativa para el tratamiento de infecciones provocadas por *Staphylococcus aureus*.

VI. CONCLUSIONES:

- El Aceite esencial de la hoja del *Cymbopogon citratus* tiene actividad antibacteriana in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 puesto que mostró una media de halos inhibitorios superiores a los valores establecidos por el CLSI, la dilución al 100% mostró halos inhibitorios de 33-46mm, la del 75% mostró halos inhibitorios de rango entre 33-40mm, la del 50% presentó una media de $20.4 \pm 0.9\text{mm}$ y la del 25% mostró halos de $10.6 \pm 2.2\text{mm}$.
- La vancomicina a 30 μg tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con una halo de inhibición de 23-31mm, y el DMSO no presento actividad.
- El Aceite esencial de la hoja del *Cymbopogon citratus* tiene efecto antibacteriano in vitro sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 desde su dilución al 75% comparado con la vancomicina a 30 microgramos.

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda repetir el experimento con animales, para ver su acción en seres vivos, así como la concentración terapéutica, efectividad y toxicidad que proporciona sus principios activos del *Cymbopogon citratus* “Hierba luisa”.
- Se puede hacer antibiótico con un medicamento para potenciar su acción, y comprobar su efecto sinérgico.
- Realizar más estudios que demuestren las características y componentes de esta planta para que tengan un respaldo científico mayor y puedan utilizarse como posible medicación en la terapéutica clínica.
- Comparar la eficacia antimicrobiana del *Cymbopogon citratus* “Hierba luisa” frente a otros fármacos de interés en el tratamiento de infecciones bacterianas, además de otros microorganismos presentes en estas patologías de importancia, para comparar su efecto inhibidor.
- Considerar evaluar el efectos de los diferentes extractos de *Cymbopogon citratus* “Hierba luisa”.

REFERENCIAS

1. Paganini H. Infecciones por *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente proveniente de la comunidad: Un nuevo desafío para los Pediatras. *Medicina Infantil*. 2007; 292-95 [citado 23 de Set. de 2021]. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/17148/1/T34046.pdf>
2. Organización Mundial de la Salud. Enfermedades infecciosas. [Citado 23 de Abr. de 2017]. Disponible en http://www.who.int/topics/infectious_diseases/es/.
3. Alhalel G. Infecciones emergentes y re-emergentes en el Perú. Perú: Academia Nacional de Medicina, 2002; nro 11 [citado 28 de Ago. de 2021] Disponible en http://www.acadnacmedicina.org.pe/publicaciones/anal_2000/XI_infeccionesemergentesyreemergentesenelperu.pdf
4. Organización Mundial de la Salud. La mortalidad y las estimaciones globales de salud. 2013. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud. 2013 [citado el 20 de agosto de 2021]. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/131953/1/9789240692695_spa.pdf
5. Morejón M. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: un problema actual. Art de Revisión. *Dermatol Perú*. 2012; 22 (1):30. [Internet]. 2012 [citado 23 de Set de 2021]. Disponible en http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v22_n1/pdf/a05v22n1.pdf

6. Moran G, Krishndasan A, Gorwitz R. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med* 2006; 355:666- 74 [citado 28 de Agosto 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16914702>
7. Fridkin S, Hageman JC, Morrison M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease in three communities. *N Engl J Med* 2005; 352:1436-44 [citado 20 de Setiembre de 2021] Disponible en <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa043252#t=article>
8. Reyes J, Rincón S, Díaz L, Panesso D, Contreras G, Zurita J, et al. Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 sequence type 8 lineage in Latin America. *Clin Infect Dis* 2009; 49:1861-67 [citado 20 de Jun. de 2021]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2787674/>
9. Kollef MH, Fraser VJ. Antibiotic resistance in the intensive care unit. *Ann Intern Med* 2001;134: 298 -314. [citado 20 de Jun. de 2021]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4281952/>
10. Ministerio de salud (MINSA). Manejo de la prescripción y uso de antimicrobianos en la consulta ambulatoria de hospitales. Lima. 2007. [citado el 30 de Abril de 2017]. Disponible en: http://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGEMID/836_DIGEMID57.pdf
11. Del Rio M. Actividad biocida de un propolis chileno frente a *porphyromonas gingivalis*, estudio in vitro. Santiago de Chile: Univ. de Chile. Facultad de Odontología, 2006. p 13. [Internet]. 2006 [Citado 19 setiembre 2021]. Disponible en: http://www.tesis.uchile.cl/tesis/uchile/2006/delrio_p/sources/delrio_p.pdf

12. Oliveira, J. B., Teixeira, M. A., Paiva, L. F., Oliveira, R. F., Mendonça, A., & Brito, M. *In Vitro* and *In Vivo* Antimicrobial Activity of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. Against *Staphylococcus* spp. Isolated from Newborn Babies in an Intensive Care Unit. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 25(10), 1490–1496. . [Internet]. 2019 [citado 19 noviembre 2021]. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0047>
13. Mendoza Buñay, A. F. Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Cymbopogon citratus* frente a cepas de *Staphylococcus Aureus* y *Escherichia Coli*. [Internet]. 2018 [Citado 02 Diciembre 2021]. Disponible en: <https://dspace.uniandes.edu.ec/handle/123456789/8754>
14. Pájaro N, León G, Osorio M, García Y, Torrenegra M. Potencialidades de una mezcla de aceites esenciales frente a bacterias implicadas en el acné. *Revista Cubana de Farmacia*. [Internet]. 2019 [citado 6 diciembre 2021]; 51 (4). Disponible en: <http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/257>
15. Fon Fay F, Casariego A, Falco A, Pino J. Actividad antimicrobiana de aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm, *Bursera graveolens* (Kunth) Triana y Planch, *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. y *Curcuma longa* (L) sobre microorganismos contaminantes de alimentos. En: Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Cuba: La Habana; [Internet]. 2017. Vol. 27, No. 3. [citado 26 de octubre 2021]. Disponible en: <https://www.revcitecal.iiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/114/97>

16. Morillo J. Efecto Inhibitorio del aceite esencial del *Cymbopogon Citratus* en diferentes concentraciones sobre cepa de *porphyromona gingivalis* ATCC 33277, estudio in vitro. Quito: Univ. Central de Ecuador; 2017 [Citado 19 de Set. de 2021]. Disponible en <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/9134>
17. Azuero A, Jaramillo C, San Martin D, Armas H. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. 2016. Revista Ciencia UNEMI, Vol.9 (20):11 – 18. Ecuador: Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud y Universidad Técnica de Machala. [Internet]. 2016 [citado 19 de setiembre de 2021]. Disponible en <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/344/297>
18. Chamba L, Lanas G. Efecto antifúngico del aceite esencial del *origanum vulgare* (orégano) y *cymbopogon citratus* (hierba luisa), sobre cepas de *cándida albicans* en comparación con la nistatina estudio in vitro. Ecuador: Univ. central del ecuador; [Internet]. 2015. [citado 17 de Setiembre 2021]. Disponible en <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/3538>
19. Valverde P. Composición química, potencial antimicrobiano y letal de los aceites esenciales de las hojas de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), mastrante (*Ageratum conyzoides*), guabiduca (*Piper carpunya*), ajeno (*Artemisia absinthium*) y cedrón (*Lippia citriodora*), cultivados en la República del Ecuador. Ecuador: Univ. Técnica de Machala; [Internet]. 2015. [citado el 24 de octubre de 2021]. Disponible en <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2799/6/CD000013-TRABAJO%20COMPLETO-pdf>

20. Meza K, Vargas G. Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de Hierba luisa (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) en un formulación cosmética con finalidad antiacnéica. Quito: Univ. Politécnica Salesiana. [Internet]. 2013 [citado 19 noviembre de 2021]. Disponible en <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/6005/1/UPS-QT03735.pdf>
21. Soares M. O, Vinha A. F, Coutinho F, Pires P. Antimicrobial natural products. Angola. Formatex. [Internet]. 2013 [consultado 20 octubre de 2021]. Disponible en <http://www.formatex.info/microbiology4/vol2/946-950.pdf>
22. Machado M, Pires P, Dinis A.M, Santos-Rosa M, Alves V, Salgueiro L, Cavaleiro C, Sousa M. Monoterpenic aldehydes as potential anti-Leishmania agents: Activity of *Cymbopogon citratus* and citral on *L. infantum*, *L. tropica* and *L. major*. *Experimental Parasitology*, Vol. 130 (3), 2012. P 223-231, ISSN 0014-4894. [Internet] 2012. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2011.12.012>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014489411003596>).
23. Medeiros L, Fernández A, De Lima C, Albuquerque E, De Moráis S, Afranio F & Barreira E. Perfil de sensibilidad de bacterias frente a oleos esenciales de algunas plantas del nordeste de Brasil. 2005 *Rev. Infarma*, 17. 80-83 [Internet]. 2005 [citado el 06 de Setiembre de 2021]. Disponible en http://cebrim.cff.org.br/sistemas/geral/revista/pdf/17/perfil_bacterias.pdf
24. Guerra M, Rodríguez J, García G, Llerena C. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y crema de *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf. *Rev Cubana Plant Med* [Internet]. 2004 Ago [citado 2021 Oct 25]; 9(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000200005&lng=es.

25. Cabrera CE. Actividad antimicrobiana de un sistema a base de un extracto vegetal y tres aceites esenciales. *Ciencia e investigación* [Internet]. 19 de agosto de 2019 [citado 6 de noviembre de 2021]; 22(1):21-5. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/16811>
26. Quintos D. Efecto antibacteriano del aceite esencial del *Cymbopogon Citratus* "Hierba luisa" sobre cepas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175. . [Internet]. 2019 [citado 2021 Octubre 2021]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12802/7657>
27. Fernández Robles, S. Eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* "Hierba Luisa" sobre *Escherichia Coli* ATCC25922 comparada con Ciprofloxacino. Perú: Univ. Cesar Vallejo; [Internet]. 2018. [citado el 20 octubre 2021]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/25853>
28. Paravecino L. Efectividad antibacteriana, in vitro, del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (Hierba Luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo – 2018. Peru: Univ. Catolica de los Angeles Uladech; [Internet]. 2019 [Citado el 20 de Oct. Del 2021]. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/14487>
29. Auccapiña E, Champi J, Lino D. Caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) obtenido por el método de arrastre con vapor. [Internet]. 2017 [citado el 20 de octubre 2021]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.12952/3536>

30. Cerna V. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Perú: Univ. Antenor Orrego; [Internet]. 2016. [citado el 22 de octubre 2018]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12759/2785>
31. Aguilar L. Comparación del efecto Inhibitorio in vitro del extracto etanólico con el aceite esencial de *Cymbopogon* “Hierba Luisa” sobre una cepa de *Cándida albicans*. Perú: Univ. Nacional de Trujillo. [Internet]. 2013 [citado el 20 de junio de 2018]. Disponible en:
http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/208/AguilarMoscoso_L.pdf?sequence=1&isAllowed=y
32. Borja F. Actividad antibacteriana y concentración mínima inhibitoria del aceite esencial del *Cymbopogon citratus* frente al *Streptococcus mutans* in vitro. Perú: Univ. Nacional Federico Villarreal. [Internet]. 2012. [citado el 06 de junio de 2021]. Disponible en
<http://www.cop.org.pe/bib/tesis/FADIATHALITHABORJASIHUINTA.pdf>
33. Maraví G. Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de: *Menta piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Cándida albicans* ATCC 90028. Perú: Univ. Privada Norbert Wiener. [Internet]. 2012 [citado el 20 de octubre 2021]. Disponible en
<http://www.cop.org.pe/bib/tesis/GISELLA%20GIOVANNA%20MARAVI%20INGA.pdf>
34. Cabrera C, Camino H, Campos E, Canales S. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) frente a vancomicina contra *Staphylococcus aureus*. Perú: Univ. Nacional Federico Villarreal; [Internet]. 2008. [citado el 24 de noviembre del 2021]. Disponible en

<https://es.scribd.com/doc/55098944/Hierba-Luisa-Articulo-Cientifico>
(<https://dokumen.tips/documents/hierba-luisa-articulo-cientifico.html>)

35. Alzamora L, Morales L, Armas L y Fernández G. Medicina tradicional en el Perú: Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. *Anales de la Facultad de Medicina* [en línea] 2001[citado 23 de abril, 2018]; 62 (2): 156-16. Perú: Univ. Nacional Mayor de San Marcos. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37962208>
36. Organización Mundial de la Salud. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. [Internet]. 2014 [citado 2021 Abril del 30]. Disponible en: www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/
37. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos. Nota descriptiva N°194. [Internet]. 2016. [citado el 31 abril de 2020]. Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
38. Sadava D. *Vida la Ciencia de la Biología*. 8ª ed. México: Edit. Médica Panamericana; 2009, pp. 565-566.
39. Ryan K, Ray G. *Sherris Microbiología Médica*. 5ª ed. Estados Unidos: McGrawHill; 2011.
40. Woolverton C, Willey J, Sherwood L. *Microbiología de Prescott, Harley y Klein*. 7ª ed. Estados Unidos: McGraw-Hill; 2009.

41. Organización Mundial de la Salud. Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales. [Internet]. [citado el 19 de Junio del 2018]. Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>
42. Organismo Andino de Salud–Convenio Hipólito Unanue. Plantas Medicinales de la Subregión Andina [Internet]. Perú: ORAS-CONHU; [Internet]. 2014. p162. [citado el 24 de Junio de 2020]. Disponible en <http://www.orasconhu.org/sites/default/files/LIBRO%20PLANTAS%20MEDICINALES%20DE%20LA%20SUBREGI%C3%93N.pdf>
43. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la amazonia peruana. 2ª ed. Perú (Lima): Agencia Española de Cooperación Internacional (AECI)/ Inst. de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP); 2000, p 286.
44. Ekpenyong, C. E., Akpan, E., & Nyoh, A. (2015). Ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extracts. Chinese journal of natural medicines, 13(5), 321–337. [Internet]. . Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(15\)30023-6](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(15)30023-6)
45. Cruz Suarez J. Más de 100 Plantas Medicinales. 1ª ed. Isla Canaria: Edit. Obra Social de la Caja Canaria; 2007, p 197-200.
46. Programa de Política Económica y Desarrollo de Agronegocios. Perfil de Proyecto de cultivo de Zacate Limón Orgánico. IICA/USAIS.1ª ed. Venezuela (Managua): Editarte; 2004, p.44.

47. Ocampo R, Valverde R. Manual de cultivo y conservación de plantas medicinales. 1ª ed. Costa Rica: R.A. Ocampo S; 2000. p. 78-81.
48. Campos G. Plantas que Curan. España (Madrid): Edit. Visión Libro; 2012. 240 pp, p197-198.
49. Lavabrel M. Aromaterapia: Libro Práctico [Libro en línea]. Editor: Simon and Schuster. 1ª ed. México: Edit. Inner Traditions; 1995, p 96. [Internet]. 1995 [citado el 25 de Junio del 2018]. Disponible en <https://books.google.com.pe/books?id=WA5WMzeRfugC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
50. León J. Botánica de los Cultivos Tropicales [Libro en línea]. 2ª ed. Costa Rica: IICA; 1987; 445 pp. [Internet]. [Citado 24 de Jun. 2021]. Disponible en <https://books.google.com.pe/books?id=bOMNAQAIAAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
51. Arango S. Guía de Plantas Medicinales de Uso común en Salento, Colombia. U.S.A: Missouri Botanical Garden Press; 2004. p33
Nicolás JP. Manual de Plantas Medicinales del Altiplano de Guatemala para el Uso Familiar. 1ª ed. Francia/Guatemala: Asociación Jardines del Mundo/Edic. Médicos Descalzos; 2013. p 208
52. Avoseh O, Oyedeji O, Rungqu P, Nkeh-Chungag B, Oyedeji A. Cymbopogon Species; Etnofarmacología, fitoquímica e importancia Farmacológica. Moléculas [Internet] 2015; 20 (5): 7438–53. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules20057438>
53. Guerra M, Valdez R. Actividad antibacteriana del colutorio a base del aceite esencial de las hojas de Cymbopogon citratus “Hierba Luisa” en cepas

aisladas de Streptococcus mutans de niños de la I.E. 82003 “Nuestra Señora De La Merced” Cajamarca 2018. 2019.
<http://repositorio.upagu.edu.pe/handle/UPAGU/1165>

54. Green A. El Libro de las Especies: Hierbas aromáticas y especias [Libro en línea]. Barcelona: Robinbook; 2007. p59-60. [Internet]. 2007. [citado el 24 de Junio del 2021]. Disponible en https://books.google.com.pe/books?id=u_H8R3fdi8IC&pg=PA61&lpg=PA61&dq=LIBRO+DE+HIERBA+LUISA&source=bl&ots=1BVBUQxdoL&sig=jG6JioR2ko23b9fqJJJeOrnnweuk&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwipu6eDn9fUAhWJ2yYKHc5XDQwQ6AEIUTAK#v=onepage&q=LIBRO%20DE%20HIERBA%20LUISA&f=false
55. PubMed (NCBI). Componentes antibacterianos en el aceite esencial de Cymbopogon citratus. J Ethnopharmacol; [Internet]. 1984. [Citado el 20 de Jun. de 21]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6442749>
56. Flores J. Farmacología Humana. 3ª ed. España (Madrid): Masson, S.A; 1997. Cap. 65, pp.1116-1119.
57. Goodman & Gilman. Las Bases farmacológicas de la Terapéutica. 12ª ed. México: McGraw Hill Interamericana Editores; 2012. pp. 1539-1542.
58. Patel J, Cockerill F, Bradford P, Eliopoulos G, Hindler J, Jenkins G et al .Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI document M100-S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; [Internet]. 2014 [Consultado el 20 de Jun. de 18]. Disponible en <https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwj0x7j-is3UAhXlyYKHWKbBYYQFgguMAI&url=https%3A%2F%2Fwww.research>

gate.net%2Ffile.PostFileLoader.html%3Fid%3D581d9d8fcbd5c2f99c04d4b1%26assetKey%3DAS%253A424985668919296%25401478335887189&u sg=AFQjCNGPTb4thWEELSAen57wBDDO-QH5Zg&sig2=voGGsiDxhQF6JXt7FySu6g

59. Sistema de Gestión de la Calidad del Pronahebas, Ministerio de Salud (Minsa). Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, 2004. NORMA TÉCNICA N° 015 - MINSa / DGSP - V.01. [Internet]. 2004. Perú. [Consultado el 02 de Jun. de 2018]. Disponible en <http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>
60. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; [Internet]. 2007. [consultado el 01 de junio de 2019]. Disponible en http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf
61. Instituto Nacional de Salud. Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión. Serie de Normas Técnicas N°30. Perú: Minsa; [Internet]. 2002. [Citado el 02 de Jun. de 2020]. Disponible en http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua_l%20sensibilidad.pdf
62. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. [Internet]. 2000. [Citado el 02 de Junio de 2020]. Disponible en <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
63. Dawson B, Trapp R. Bioestadística Médica. 3ª ed. México: El Manual Moderno; 2002.

64. Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA). Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales extraídos de las plantas medicinales y aromáticas [Libro en Línea]. Bogotá: SENA; 2012. pp 22, 34. [Internet]. 2012 [citado el 25 de Junio de 2020]. Disponible en http://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/#

65. Del Pozo X. Extracción, caracterización y determinación de la actividad antibacteriana y antimicótica del aceite esencial de Hierba Luisa [tesis para optar el título de Ingeniero en Biotecnología]. Quito: Escuela Politécnica; 2006. [citado el 24 de Jun. 2021]. Disponible en <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/511/1/T-ESPE-025025.pdf>

66. Tadeo V. Métodos de Separación por Destilación. Bogotá: Univ. de Bogotá; 2004. [citado el 24 de Jun. de 2021]. Disponible en http://avalon.utadeo.edu.co/comunidades/estudiantes/ciencias_basicas/analitica_instrumental/guia_2_3.pdf

ANEXO N° 01

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

EXPERIMENTO CON MÚLTIPLES REPETICIONES

RG1	X1	O1
RG2	X2	O2
RG3	X3	O3
RG4	X4	O4
RG5	X5	O5
RG6	---	O6

Donde:

RG: Grupos de Estudio: 06

X1: Dilución del aceite esencial de las hoja del *Cymbopogon citratus* al 25%

X2: Dilución del aceite esencial de las hoja del *Cymbopogon citratus* al 50%

X3: Dilución del aceite esencial de las hoja del *Cymbopogon citratus* al 75%

X4: Dilución del aceite esencial de las hoja del *Cymbopogon citratus* al 100%

X5: Control Positivo: Vancomicina (Tratamiento Gold estándar).

X6: Control negativo: DMSO.

O: Las observaciones de diámetro de halo de inhibición.

ANEXO N° 02:

TAMAÑO DE MUESTRA

MUESTRA

Se consideró la siguiente fórmula: ⁶²

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\delta^2}{(x_1 - x_2)^2}$$

$$Z_{\alpha/2} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$X_1 = 15$ mm, Diámetro del halo de inhibición de la Vancomicina. ^{61,62}

$X_2 = 16,9$ mm, Diámetro de halo de inhibición del Aceite Esencial del *Cymbopogon citratus* (hierba luisa).²¹

$$\delta = 1,6mm$$

$$n = 12$$

Para el estudio se consideró **14 repeticiones por cada grupo de estudio**, se cultivaron 14 placas Petri y se harán 84 observaciones.

ANEXO N° 03

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE(S)	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
<p>AGENTES ANTIBACTERIANOS PARA <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923</p>	<p>Principio activo que inhibe el crecimiento bacteriano.</p>	<p>El <i>Cymbopogon citratus</i> estuvo dividida en las siguientes diluciones:</p> <p>a) 100% b) 75% c) 50% d) 25% e) Vancomicina. d) DMSO.</p>	<p>RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6</p>	<p>Cualitativa nominal</p>
<p>EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL <i>Cymbopogon citratus</i>.</p>	<p>Observación del crecimiento bacteriano cuando se expone a un agente que sea capaz de inhibir el crecimiento.</p>	<p>Se midió el aumento del halo de inhibición por medio del Método de Kirby Bauer^{58,62} Utilizando los criterios del estándar M100-S27 del CLSI (34). Se consideró eficaz si: ⁶¹</p> <p>a. Sensible: >= 15mm. b. Resistente: <15mm.</p>	<p>SI EFECTIVIDAD >=15mm NO EFECTIVIDAD <15mm</p>	<p>Cualitativa nominal</p>

ANEXO N° 04

EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE LA HOJA DE *Cymbopogon citratus* MEDIANTE DESTILACIÓN POR ARRASTRE A VAPOR

Métodos de extracción de aceites esenciales

Los Aceites Esenciales se definen como mezclas de componentes volátiles, productos del metabolismo secundario de las plantas, se pueden obtener de diversas formas. Los aceites esenciales son mezclas de sustancias orgánicas químicamente constituidas por terpenos y compuestos aromáticos que se localizan en determinados órganos de la planta.

Fundamento: Consiste en calentar la planta hasta que sus componentes más volátiles pasen a la fase de vapor y a continuación se enfría el vapor para recuperar dichos componentes en forma líquida por medio de la condensación (el aceite esencial).

1. Tratamiento de la muestra

Para la recolección de las plantas frescas (hojas) de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), se obtuvieron en el mercado Mayorista de Trujillo, procedentes de Chirán, en una cantidad de 5 a 6 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones; 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).

2. Obtención del Aceite Esencial

El aceite esencial de *Cymbopogon citratus* 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 que consistió en colocar las hojas cortadas dentro de la máquina 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.



Figura 1: Recolección de la Planta.



Figura 2: Procedimiento de la extracción de aceite esencial de *Cymbopogon citratus*.

ANEXO N° 05

DETERMINACIÓN DE SENSIBILIDAD ANTIBACTERIANA POR EL METODO DE DISCO DIFUSIÓN: KIRBY & BAUER

MEDIO DE CULTIVO

Agar Mueller Hinton

INÓCULO

Suspensión directa de la colonia en caldo Mueller Hinton o solución salina al 0.9 % a partir de un cultivo en agar no selectivo de 18 – 24.

MÉTODO DEL ANTIBIOGRAMA DISCO-PLACA: FUNDAMENTO

El antibiograma disco-placa basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración.

Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución. Se mide el diámetro de la zona de inhibición obtenida por cada una de tales cepas y se grafica dicha medida frente a la CMI, obteniéndose la línea de regresión o "recta de concordancia" que proporciona la correspondencia entre las CMI y los diámetros de inhibición. Para determinar la CMI de una cepa se procede a medir el diámetro de la

zona de inhibición y luego extrapolarlo en el gráfico para obtener la CMI. Existen, por tanto, unos diámetros de inhibición, expresados en mm, estandarizados para cada antimicrobiano. La lectura de los halos de inhibición debe interpretarse como sensible (S), intermedia (I) o resistente (R) según las categorías establecidas por el NCCLS.

PREPARACIÓN DEL MEDIO PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD:

Se empleó el agar Müller Hinton, dado que se considera el mejor medio para las pruebas de sensibilidad de rutina.

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

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.

PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD (PRUEBA DE DISCO DIFUSIÓN EN AGAR)

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.

a) 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 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, 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.)

b) Siembra del microorganismo

Se sembró el microorganismo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, 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.

c) Preparación de las concentraciones del AE

A partir del AE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 µL de AE y 250 µL de DMSO al tubo de 75%, 500 µL de AE y 500 µL de DMSO al tubo de 50%, y 250 µL de AE y 750 µL de DMSO al tubo de 25%.

d) Preparación de los discos de sensibilidad con AE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 µL en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 µL de AE al 25% y se colocó en un disco, 10 µL de AE al 50% en otro disco, 10 µL de AE al 75% en otro disco y 10 µL de AE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

e) 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 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, 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 vancomicina (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.

f) 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 *Staphylococcus aureus* ATCC

25923 y para la vancomicina. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.

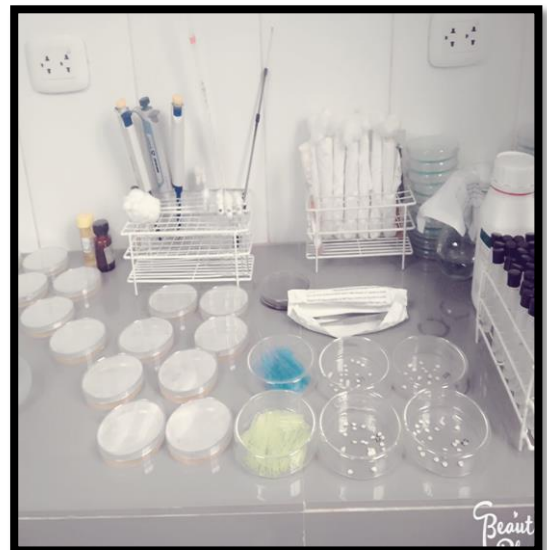


Figura 3: Procedimiento de Sensibilidad Antibacteriana con la técnica de Kirby & Bauer.

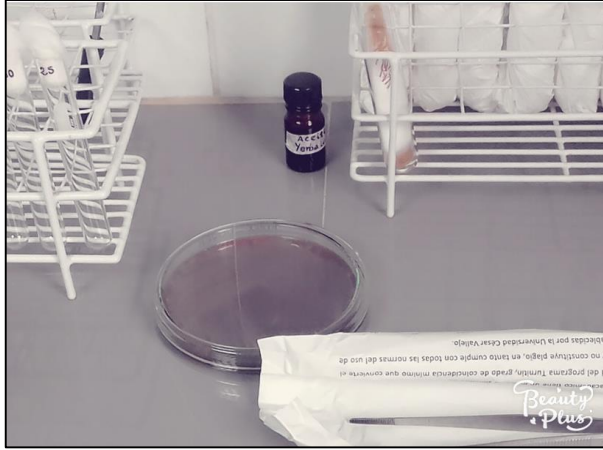


Figura 4: Preparación de los discos y diluciones del aceite esencial de *Cymbopogon citratus*

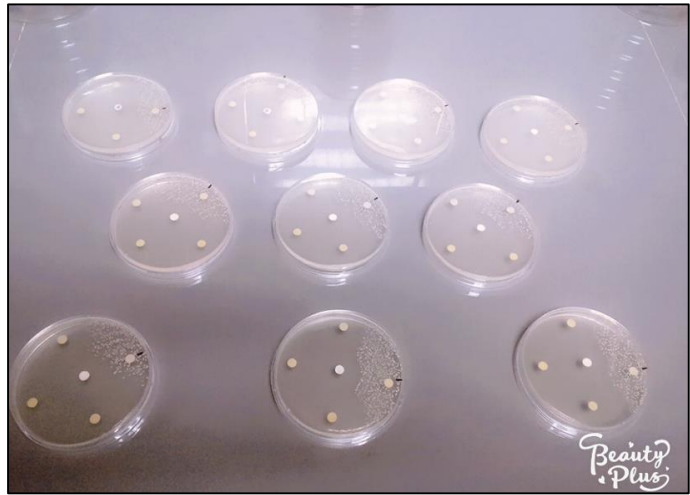


Figura 5: Medición de Halos de inhibición de aceite esencia de *Cymbopogon citratus*.

ANEXO N° 06

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA MEDIR EL TAMAÑO DE LOS
HALOS DE INHIBICIÓN SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 29213**

CEPA <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL <i>Cymbopogon citratus</i> “HIERBA LUISA”				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN(MM)					
Nº de Muestras	25% (1.25 mg)	50% (2.5 mg)	75% (3.75mg)	100% (5mg)	Vancomicina	DMSO
Muestra 1	14	20	35	35	26	0
Muestra 2	15	21	37	37	28	0
Muestra 3	11	21	33	33	24	0
Muestra 4	10	22	38	38	26	0
Muestra 5	12	20	39	39	25	0
Muestra 6	9	20	36	36	27	0
Muestra 7	7	19	36	36	30	0
Muestra 8	11	20	34	34	23	0
Muestra 9	12	21	40	46	26	0
Muestra 10	10	22	37	37	27	0
Muestra 11	10	20	38	35	24	0
Muestra 12	9	21	36	39	28	0
Muestra 13	8	19	39	34	29	0
Muestra 14	11	20	37	40	31	0



ANEXO N° 07

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO



TIPO DE MÉTODO: Cuantitativo

PARÁMETROS: Lo conforman:

CEPA <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL <i>Cymbopogon citratus</i> "HIERBA LUISA"				CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO
	DIÁMETROS DEL HALO DE INHIBICIÓN(MM)					
N° de Muestras	25% (1.25mg)	50% (2.5 mg)	75% (3.75 mg)	100% (5mg)	Vancomicina	DMSO
Muestra 1						
Muestra 2						
Muestra 3						
Muestra 4						
Muestra 5						
Muestra 6						
Muestra 7						
Muestra 8						
Muestra 9						
Muestra 10						
Muestra 11						
Muestra 12						
Muestra 13						
Muestra 14						

VALIDADO POR:  

  
Eric Gustavo Anzures
Microbiología
C.B.P. 13651

 
María Soledad Ayala Revilla
Microbiología
C.B.P. 13651

ANEXO N° 08

CONCENTRACION DE CADA DILUCION DEL ACEITE ESENCIAL DE

μL

$$\mu\text{L} \times 1\text{ml}/10^3 \mu\text{L} = 0,0005 \text{ ml en cada disco.}$$

- Haciendo equivalencia de ml a gr (Peso-volumen)
- 1ml es equivalente a 1g.

Entonces: $0.005 \text{ ml} \times 1\text{g}/1\text{ml} = 0.005 \text{ g.}$

$0.005 \text{ g} = 5 \text{ mg}$ en cada disco al 100%

Para 75% $\longrightarrow 5\text{mg} \times \frac{3}{4} = 3.75 \text{ mg}$ en cada disco.

Para 50% $\longrightarrow 5\text{mg} \times \frac{1}{2} = 2.5 \text{ mg}$ en cada disco.

Para 25% $\longrightarrow 5\text{mg} \times \frac{1}{4} = 1,25 \text{ mg}$ en cada disco.

ANEXO N° 09

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD

PRINCIPALES MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD

El personal involucrado en los diferentes procesos debe aplicar las medidas de bioseguridad establecidas en las Normas de Bioseguridad (Serie Normas Técnicas N° 18-INS), aplicable al personal, uso y desecho de sustancias y materiales, acceso a los locales, y el medio ambiente.

Las principales medidas de seguridad incluyen:

- Ingreso restringido al laboratorio.
- Utilizar siempre guardapolvo o mandilones de laboratorio en la zona de trabajo.
- El guardapolvo no debe salir de la zona del laboratorio, salvo para enviarlo a lavar.
- No pipetear con la boca.
- Está prohibido comer, beber, fumar, guardar alimentos, ni aplicarse cosméticos en el laboratorio.
- En caso de tener cabello largo, recogerlo y cubrirlo.
- Lavarse las manos luego de quitarse los guantes y antes de salir del laboratorio.
- Utilizar protección para los ojos cuando el procedimiento genere gotas o aerosoles.
- Utilizar siempre guantes estériles y mascarillas.
- Las cortaduras o rasguños en las manos y brazos deben protegerse bien.
- Utilizar zapatos protectores que cubran completamente los pies (no usar sandalias o zapatos abiertos).
- El procesamiento de las muestras debe realizarse sobre una superficie de trabajo cubierta con papel absorbente plastificado o papel de filtro.
- Las superficies de trabajo deben ser descontaminadas por el operador antes y después de cada actividad.
- Los reactivos deben estar etiquetados y almacenados en viales adecuados con tapa rosca.
- Todos los laboratorios deben tener a disposición un equipo de primeros auxilios.

- Informar inmediatamente cualquier accidente al jefe de laboratorio.
- Debe disponer de un lugar para el lavado de ojos en caso de exposición accidental a salpicaduras.
- Todos los desechos del laboratorio deben descontaminarse adecuadamente, antes de eliminarlos en solución desinfectante o ser autoclavados a 121°C durante 20 minutos, o incinerarse.
- El material infeccioso debe ser fácilmente identificado como tal y ser esterilizado lo antes posible.
- Limpiar a diario los pisos con un trapeador limpio y solución desinfectante.

ANEXO N° 10:

PRUEBA DE NORMALIDAD

Pruebas de Normalidad						
Dilución	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístic o	Gl	Sig.	Estadístic o	gl	Sig.
25%	0.149	14	,200 [*]	0.966	14	0.824
50%	0.248	14	0.020	0.893	14	0.088
75%	0.131	14	,200 [*]	0.973	14	0.912
100%	0.151	14	,200 [*]	0.883	14	0.065
Vancomicina	0.120	14	,200 [*]	0.974	14	0.922

Los datos son normales por tener una significancia $p > 0.05$ según Shapiro wilk

ANEXO N° 11

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

Prueba de homogeneidad de varianzas

Diámetro de Halo (cm)	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	1.8	4.0	65.0	0.1
Se basa en la mediana	1.7	4.0	65.0	0.2
Se basa en la mediana y con gl ajustado	1.7	4.0	44.5	0.2
Se basa en la media recortada	1.7	4.0	65.0	0.2

Los datos de las diluciones presentan igual varianzas por tener una significancia $p > 0.05$