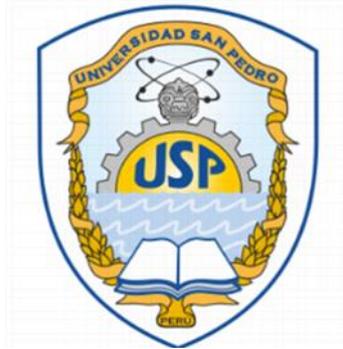


UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



**Evaluación del efecto antibacteriano In vitro del aceite esencial de las hojas de
Eucalyptus globulus en cultivos de Staphylococcus aureus ATCC 25923**

Tesis Para Obtener el Título de Químico Farmacéutico

Autores:

Br. Morales Castro Juliet Azucena

Br. Villegas Chero Magda Esther

Asesor:

Mg. Sarmiento Espinoza Soledad Elizabeth

CHIMBOTE – PERÚ

2019

i.-Palabras clave

Tema	Fitoterapia
Especialidad	Farmacia y Bioquímica

Keywords

Subject	Phytotherapy
Speciality	Pharmacy and Biochemistry

Línea de investigación	Estudios etnobotánicos de recursos naturales terapéuticos
Área	Ciencias médicas y de la salud
Subárea	Medicina básica
Disciplina	Farmacología y farmacia

ii.- Título

Evaluación del efecto antibacteriano In vitro del aceite esencial de las hojas de Eucalyptus globulus en cultivos de Sthaphylococcus aureus ATCC 25923

iii.- Resumen

El presente proyecto tuvo como finalidad evaluar el efecto antibacteriano In vitro del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* en cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. El mismo que se desarrolló en los laboratorios de microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad San Pedro, y se utilizó el aceite esencial de eucalipto y cultivos bacterianos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, para tal fin se preparó 06 placas por cultivos bacteriano, en los que se impregnaron 5 discos por placa conteniendo eritromicina 15µg y extracto en las concentraciones de 100, 75, 50, 25 % los que se incubaron por un periodo de 24 h, posteriormente se tomó medida de los halos de inhibición. Encontrándose un mayor grado de inhibición bacteriana (83%), con el extracto puro. Por lo cual se llega al resultado que el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* posee efecto antibacteriano In vitro frente a cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Palabras clave: Evaluación antibacteriana, aceite esencial, *Eucalyptus globulus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

iv.-Abstract

The objective of this project was to evaluate the in vitro antibacterial effect of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* in cultures of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The one that was developed in the microbiology laboratories of the San Pedro University School of Medicine, and The essential oil of eucalyptus and bacterial cultures of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was used, for which 06 plates were prepared per bacterial cultures, in which 5 discs per plate containing 15 µg erythromycin and extract in concentrations of 100, 75, 50, 25% those who were incubated for a period of 24 h, then inhibition halos were measured. Finding a greater degree of bacterial inhibition (83%), with the pure extract. Therefore it is concluded that the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* has an antibacterial effect in vitro against cultures of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Keywords: Antibacterial evaluation, essential oil, *Eucalyptus globulus*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

INDICE	Pág
Palabras clave.....	i
Título de la investigación.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
Índice	v
Introducción.....	01
Antecedentes y fundamentación científica.....	01
Justificación de la investigación.....	12
Problema	13
Marco Referencial.....	16
Hipótesis.....	35
Objetivos.....	35
Metodología.....	36
Tipo y Diseño de investigación.....	36
Población y Muestra.....	36
Técnicas e instrumentos de investigación.....	37
Resultados.....	44
Análisis y Discusión.....	47
Conclusiones.....	48
Recomendaciones.....	49
Agradecimientos.....	50
Referencias Bibliográficas.....	51
Anexos.....	57

I. Introducción

1.1. Antecedentes y fundamentación científica.

Mohammed (2014), en su estudio llamado evaluación de la acción antibiótica de extractos metanólicos de plantas de uso medicinal y tradicional (*Eucalyptus spathulata*). Método: La actividad antimicrobiana se valoró a través de pruebas con muestras de fluido salival de pacientes que padecen problemas odontológicos. La prueba antimicrobiana se efectuó a través del método de difusión en recipientes conteniendo agar. Resultados: el promedio del campo de inhibición fue 124mm contrastado con 152mm de gentamicina y 51 mm frente *C. albicans*. En conclusión: se determinó que el extracto metanólico de *Eucalyptus spathulata* tiene mayor eficacia para tratar *Streptococcus Mutans* que, para tratar *C. Albicans*.

Damjanovic, y col. (2011), efectuó el estudio de la acción contra microbios por parte del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* Labill. Los componentes químicos del aceite esencial extraído de *Eucalyptus globulus* Labill., recogido en Montenegro, el estudio fue a través de gas, se estudió la cromatografía de la medición de espectro de masas y su acción antibiótica frente a 17 organismos microscópicos. El performance del extracto fue del 1,8% (w / w) en la base del peso fresco, por otro lado, con el estudio se pudo identificar un total de 11 componentes, α -pineno (7,2%), β -mirceno y 1,8 cineol (1,5%) son los agregados primordiales. Resultado: el ensayo de la acción antimicrobiana arrojó como

resultado que el aceite esencial extraído de *Eucalyptus globulus* posee una potente acción antibiótica, en especial frente a *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Streptococcus pyogenes*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, y *Klebsiella pneumoniae*. La concentración mínima inhibitoria mostró menos acción contra *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella infantis* (3,13 mg / ml), en tanto que la actividad mayor fue contra *S. aureus*, *E. coli*, y *S. pyogenes* (0,09 mg / ml). El análisis puso en evidencia que el aceite esencial extraído del eucalipto *globulus* Labill, cosechado en Montenegro cuenta con más de una acción antibiotica importante frente a patógenos que afectan a humanos y otros microorganismos.

Días y col. (2010), su estudio se centró en estudiar la acción antimicótica in vitro del aceite esencial extraído de *Eucalyptus globulus* L. frente a problemas de candidiasis relacionadas con afecciones bucales. Material y Métodos: para hallar la CMI (Concentración Mínima Inhibitoria) y la MFC (Concentración Mínima Fungicida) se realizó, para cada uno, usando la técnica de microdilución y la constitución de unidades de colonización en medios sólidos. Resultado: el aceite esencial extraído de *Eucalyptus globulus* L. demostró la MIC de 312.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ a 76,2% para las cepas de *Candida* y 625 CFM $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para el 81% de las cepas estudiadas. El 100 % de las muestras resultaron susceptibles contra el antimicótico sintético. Se emplearon como controles a la Nistatina y el Miconazol.

Conclusión: el óleo esencial extraído de *Eucalyptus globulus* L. demostró acción antimicótica frente a muestras de *Candida*.

Pranay y col. (2010), en su estudio la extracción metanólica de la corteza y foliar de *Eucalyptus tereticornis* se estudiaron para comprobar la acción antimicrobiana frente a patógenos que afectan a humanos, que incluye bacterias Gram positivas (+), *Streptococcus Mutans* (MTCC 497), *Staphylococcus aureus* (MTCC 7443) Y la bacteria Gram negativa (-) *Escherichia coli* (MTCC 5704) y una levadura: *Candida albicans* (MTCC 3017). A posteriori se efectuó un examen fitoquímico de extracto bruto para definir los compuestos fitoquímicos que son activos causantes de la acción antimicrobiana. Resultado: el extracto metanólico de la corteza de *E. tereticornis* tiene mayor eficacia en la inhibición contra los cuatro patógenos de prueba con sitios de inhibición que variaba entre 17 y 27 mm, frente al extracto metanólico de hojas, que variaba de 18 a 24 mm. El cribado fitoquímico de los extractos de hojas y de la corteza cruda evidenciaron que los dos componentes cuentan con Saponinas, flavonoides, esteroides y taninos, en tanto que solamente el extracto de la corteza cuenta con glucósidos con efectos cardiacos. Conclusión: los extractos obtenidos de la hoja y la corteza pueden ser aprovechados con fines farmacológicos naturales con el objeto de tratar diferentes patologías infecciosas ocasionadas por estos organismos,

Bachir y Renali (2008), evaluaron la actividad antibacteriana de aceites esenciales de dos especies de eucaliptos (*globulus* y *Camaldulensis*) frente a la bacteria Gram (+) *Staphylococcus aureus* y Gram (-) *Escherichia coli*. Método: la acción inhibitoria fue valorada a través de tres formas: aromagrama, microatmosfera y gérmenes en suspensión. Resultados: las dos especies, en sus hojas, poseen

potente acción inhibitoria sobre *S. aureus*, más que ante de *E. coli*. Conclusión: los hallazgos un gran potencial en cuanto a la utilización de los dos tipos de *Eucalyptus* como elemento antibacteriano, desinfectante o antiséptico.

Rodríguez y col. (2016). En su estudio experimental evaluó la acción de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto) in vitro contra muestras de *Candida sp.* Método: se prepararon extractos etanólicos y se acondicionaron cultivos de *Candida albicans* ATCC 10231 *Candida albicans* y *Candida sp.*, los extractos y cultivos fueron contrastados a través de la prueba de difusión en disco. Resultado: se pudo hallar inhibición del incremento que puso en relieve su relación de antagonismo. El estudio de estadística arrojó que no existen grandes diferencias ($p > 0.05$) entre el extracto etanólico obtenido del eucalipto y el obtenido de uña de gato, sobre *Candida sp.* Concluyendo que el extracto etanólico obtenido de *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y *Eucalyptus globulus* (eucalipto) poseen acción antifúngica, contra *Candida sp.* Pero no hay diferencia significativa en cuanto a la acción que realizan.

Jiménez. (2010), estudió la acción antimicrobiana del extracto acuoso y etanólico *Eucalyptus Globulus L* (Eucalipto), contra el desarrollo de una cepa de *Lactobacillus spp*, con el objetivo de hallar opciones para prevenir infecciones en beneficio de la población. Método: este análisis se efectuó en las instalaciones del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad

Privada Antenor Orrego; en el cual se prepararon diferentes concentraciones del extracto de eucalipto (100%, 50%, 25%, 12.5, 6.25%,3.13%, 1.56%, 0.78%) y fueron expuestas al microorganismo a estudiar, de esa forma se logró evidenciar el cese de crecimiento de las colonias de la cepa. Resultados: en el informe alcanzado por espectrofotómetro, se evidenció que en ANOVA y en la prueba de Turkey, el extracto acuoso demostró más trascendencia en comparación del extracto etanólico. El resultado a través de la lectura de placas, arrojó que el extracto etanólico al 100%,50%, 25%, 12.5, 6.25% y 3.13% de concentración, demuestra inhibición del aumento de *Lactobacillus* spp, siendo la CMI al 3.13% y la CMB al 6.25%. No obstante, el preparado acuoso carece de acción antibacteriana frente a la cepa de *Lactobacillus* spp. Conclusión: el concentrado etanólico posee mayor acción antibacteriana que el concentrado acuoso de *Eucalyptus globulus* contra *Lactobacillus* spp.

Humberto y col. (2011), estudiaron in vitro la acción antimicrobiana del extracto de *Caesalpinia spinosa* "tara" y también de *Eucalyptus* sp. "eucalipto" usando muestras de bacterias del tipo Gram (+) (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*) y Gram (-) (*Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. y *Shigella flexneri*). Se empleó como solvente para un preparado de alcohol-acetona (en proporción1:1); la acción biológica obtenida de los extractos se estimó con la técnica de difusión en disco. Las hojas del eucalipto sp. y la cascara del fruto de *Caesalpinia spinosa* revelaron un efecto de selección sobre bacterias del tipo Gram (+) que fueron testeadas.

Alzamora y col. (2011) buscaron definir la acción antibiótica del aceite esencial de cinco plantas utilizadas en medicina usada tradicionalmente en Perú: *Eucalyptus globulus* Labill, eucalipto; *Tagetes pusilla* Lag. Anís serrano; *Senecio tephrosioides*, Turcz huamanripa., *Lepechinia meyenii*, (Walp) Epling salvia y *Cymbopogon citratus*, (D.C.) Staff hierba luisa. Los aceites esenciales se obtuvieron por condensación de arrastre de vapor, se probaron contra *Salmonella typhi* ATCC 6539, *S. enteritidis* INS, *Vibrio cholerae* ATCC E-7946 OGAWA, *S. typhimurium* ATCC 14028, *Pseudomonas aeruginosa* GT 28, *Candida albicans* ATCC 10231, *Staphylococcus aureus* INS, *S. aureus* ATCC 6538P y *Shigella flexneri* INS. Se utilizaron discos de antimicrobianos como controles. Las muestras de aceites esenciales manifestaron efectos variados sobre bacterias del tipo Gram (+) y Gram (-) pero ninguno pudo inhibir a *Pseudomonas aeruginosa*.

En vista del uso de plantas en base a conocimientos antiguos es que nosotras como integrantes del personal de salud decidimos efectuar esta investigación, teniendo como referencia el uso de esta planta, se propuso evaluar el efecto antibacteriano In vitro del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* en cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

1.2. Justificación de la investigación:

El trabajo de investigación que aquí se presenta, se realiza con la finalidad de demostrar un producto natural antibacteriano como alternativa en infecciones cutáneas y de las mucosas relativamente benignas producidas por microorganismo como *Staphylococcus aureus* ya que no existen muchas investigaciones reportadas realizadas en el Perú y el Extranjero. (Zapata, 1987)

El *Staphylococcus aureus* se cataloga como uno de los organismos microscopicos de mayor relevancia en la praxis médica que se da a diario. Con el potencial de causar varios tipos de patologías, puede ser por acción directa o mediante la acción de sus toxinas. *Staphylococcus aureus* tiene la facultad de establecerse en las mucosas y la piel de los seres humanos y de diferentes animales. Diferentes ensayos revelan el protagonismo de su colonización en el desarrollo de la enfermedad y la epidemiología de las afecciones provocadas por *S. aureus*. Se ha comprobado que los portadores nasales configuran un recurso primordial de difusión de la bacteria (Rodríguez, 2015).

El tratamiento de estas infecciones es algo muy complejo en la actualidad, debido a la aparición de cepas de *S. aureus*, resistentes a la meticilina, que complican a pacientes en situación fuera riesgo, por ejemplo, niños y adolescentes. (Álvarez, 2012).

La diaria y creciente necesidad de uso de productos de origen natural para el tratamiento de diversas enfermedades motiva a elaborar productos que ayuden a

cubrir la demanda en salud de la población, se debe impulsar el uso de tratamientos naturales como el látex de *Croton lechleri* “Sangre de Grado” y así ampliar alternativas terapéuticas efectivas sin efectos colaterales. Ya que en nuestro país no existe un plan estratégico que orienta la investigación y uso en forma sistemática de los recursos vegetales que tengan como finalidad su incorporación al Programa de Salud. (Zapata, 1987).

El Perú, es considerado el tercer país con mayor biodiversidad del planeta, ha contribuido con aportes importantes para el mundo, cuenta con 84 de las 103 zonas de vida conocidas, donde hay aproximadamente 50 mil especies vegetales (20% de las que existen en la Tierra) de las cuales 2,000 son usadas con fines sanatorios. En la actualidad, esta abundancia de recursos de elementos para la terapia vegetal, junto al ancestral conocimiento de su utilidad etnofarmacológico, se convierte en un importante recurso para aprovechar adecuadamente a través del desarrollo conciente y sostenible en pro de la humanidad y, especialmente, en beneficio de las comunidades nativas que han preservado estos valiosos recursos hasta el día de hoy (Li, 2010).

La OMS considera fundamental separar lo real de lo falso en medicina tradicional, tener la capacidad de diferenciar las prácticas y los remedios válidos de los peligrosos y sin eficacia; promoviendo esta actividad mediante estrategias que garanticen calidad, seguridad y eficacia. Si bien es cierto, el tratamiento de los componentes químicos de origen vegetal es relativamente reciente, el propósito de su uso sigue siendo el mismo que le dieron nuestros antepasados en

su momento, con la salvedad que ahora ya se está en la posibilidad de sacar provecho del rápido desarrollo de la fitoquímica y sostener científicamente los estudios en plantas. Para brindar la seguridad de los preparados medicinales se crean mecanismos a nivel mundial, que demandan grandes estudios farmacotoxicológicos en animales de experimentación antes de iniciar su aplicación en seres humanos (Pérez, 2007).

1.3 Problema

La obtención de nuevos fármacos a partir de la biodiversidad es uno de los ejercicios científicos más importantes, tomando en consideración la potencialidad de encontrar productos fitoterapéuticos. no sólo basada en el conocimiento o la sabiduría popular, sino que se debe garantizar su uso seguro y económico al alcance de toda la población, por lo tanto, nos planteamos el siguiente problema. ¿El aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* tendrá efecto antibacteriano In vitro sobre los cultivos de *Sthaphylococcus aureus*, cepa ATCC 25923?

1.4 Marco Referencial

1.4.1 EUCALYPTUS GLOBULUS

1.4.1.1 TAXONOMIA (Humberto, 2001)

DOMINIO:

Eucariota

REINO:

Plantae

DIVISIÓN:

Magnoliophyta

CLASE:

Magnoliopsida

SUBCLASE:

Rosidae

ORDEN:

Myrtales

FAMILIA:

Myrtaceae

SUBFAMILIA:

Myrtoideae

TRIBU:

Eucalypteae

GÉNERO:

Eucalyptus

ESPECIE:

Eucalyptus Globulus

NOMBRE COMUN:

Eucalipto

1.4.1.2 DESCRIPCION

Es el tipo de eucalipto mayormente conocido, plantado y más ecuménico. Es de fácil adaptación, de rápido crecimiento, resistente a fuertes vientos y climas fríos y muy fríos. Es una planta de regular tamaño y forma, utilizado como decorativo por su característico follaje de color plata, es fácil de reconocer por el fuerte olor a alcanfor que desprenden las hojas al estrujarlas, (Becerra, 2010).

Posee un tronco cilíndrico, recto, de regular grosor que puede alcanzar hasta 2m de diámetro, alcanza hasta 60 m de altura. Copa irregular y alargada sobre una base limpia de ramas que pueden medir hasta en 2/3 de su altura total. Tiene una corteza de aproximadamente 3 cm. de espesor que suelta en tiras cuando está maduro, dejando una segunda corteza lisa otorgando al árbol un aspecto característico y en ocasiones emana resina.

Caracteres botánicos: Las hojas jóvenes son contrarias, sésiles, de base cordada, de color característico gris-azulado, de 8-15 cm. de longitud y

4-8 cm. de ancho. Las adultas se alternan, pecioladas, con la base cuneada, linear-lanceoladas, de 15-25 cm de longitud, con el ápice acuminado. Flores axilares, solitarias o en grupos de 2-3, de hasta 3 cm de diámetro, con varios estambres de color blanco. Su fruto es en cápsula en forma de campana, color glauco y cubierta de un polvo blanquecino, de 1.4-2.4 cm. de diámetro. Las semillas fértiles son de color negro, rugosas y más grandes, los óvulos abortados, son de color rojizos y livianos (Tarte, 1986).

1.4.1.3 HABITAT Y DISTRIBUCION:

El tipo árbol, de la subespecie globulus, se puede encontrar sobre todo en la costa sur y este de Tasmania, asimismo, en pequeños bolsones de la costa de la parte occidental, también de Tasmania, en un archipiélago en el estrecho de Bass en la parte septentrional de Tasmania y en el Cabo Otway y el Promontorio de Wilson en la parte meridional de Victoria, en Australia. Eucalyptus deriva del griego que significa “bien cubierto”, por la capa que cobertura a las flores y globulus, que refiere la forma del fruto (Humberto, 2001).

El Eucalyptus Globulus, oriundo de Australia se introdujo a la sierra del Perú en la década de 1860-1870, mayormente en los valles interandinos, en el valle del Mantaro se registra desde 1876; la especie se aclimató

rápidamente a las condiciones geográficas y ambientales de la sierra, costa y también la selva alta. No obstante, su silvicultura, no está definida la técnica adecuada para su masificación. Tanto así que se han establecido plantaciones en suelos pobres, degradados, efímeros y marginales sin definir su finalidad de uso. En terrenos comunales, el eucalipto alcanza un 95% de reemplazo a las especies de árboles endémicos, nativos de la biodiversidad de la flora peruana. El beneficio directo e indirecto va principalmente a los campesinos y la población urbano-marginal de las ciudades (Tarte, 1986).

Eucalyptus globulus es un árbol que proporciona madera, abarca más del 90% en extensión de las plantaciones en el Perú, en su mayoría en la región sierra. Adaptado magníficamente a la sierra del Perú (2000 a 3500 m.s.n.m.), sobresalen su rusticidad, la disposición de la madera para construir en zonas andinas, sirve para colocar de puntales en minería, para fabricar muebles y otros (Damjanovic, 2011).

1.4.1.4 CLIMA:

Las introducciones más exitosas del eucalipto en el mundo, se han dado en lugares con clima tropical, sin menospreciar su capacidad de adaptación a un clima templado y moderado o en elevaciones con temperaturas frías en las áreas tropicales. Las precipitaciones estacionales no genera preocupación para la especie. Aunque por lo general tiene buen crecimiento en los lugares con un máximo de

precipitación mediterráneo o cuando atraviesa la estación fría, también tiene buen crecimiento en los climas con lluvias de verano en Etiopía y Argentina (Damjanovic, 2011).

1.4.1.5 BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA

- Longevidad: Árbol perenne.
- Madurez sexual: alcanza la madurez a partir de los de 5 años.
- Reproducción: tipo sexual y asexual (brotes de cepa).
- Producción de semillas/planta: Del orden de centenas.
- Resistencia a factores externos: Suceptible frente a los climas fríos y a terrenos fangosos. Puede padecer el ataque de las siguientes plagas: Armillaria mellea (Fungi), mal azul (Botrytis sp.) y Stereum hirsutum (Fungi), Gonipterus scutellatus (coleoptero), Phytomonas tumafaciens (bacteria). Tiene la capacidad de rebrotar luego de padecer incendios (Alegría, 2010).

1.4.1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL EUCALIPTO

Resalta en su constitución química aceite esencial constituido principalmente por cineol o eucaliptol (éter óxido terpénico). Así mismo: carburos terpénicos (alfapineno), aldehídos (butírico, valeriánico, caprónico) alcoholes alifáticos y sesquiterpénicos (eudesmol), y cetonas.

Cuenta también con una sustancia detoxificante (tanino), heterósido fenólico complejo y pigmentos flavónicos (heterósidos del quercetol)

el caliptósido, ácidos fenólicos (gálico, caféico), resina y un principio amargo.

- linalol 0,001 %
- α -terpineol 0,93 %
- α -eudesmol 0,0046 %
- A-tujeno 0,07 %
- α -pineno 0,0006 %
- limoneno 0,001 %
- 1,8-cineol 57,49 %
- β -pinene 0,0002 %
- p-cymene 20,43 %
- α -phellandrene 0,003 %

1.4.1.6 PROPIEDADES

Propiedades reconocidas del eucalipto y su aceite esencial se han sometido a varias investigaciones: propiedades antitusígenas,

expectorantes y antisépticas. Se han comprobado también, mediante experimentos, efectos hipoglucemiantes.

Al margen de su vía de administración, la eliminación del aceite esencial es en su mayoría por la vía pulmonar, lo que demuestra su predilección en el caso de las afecciones nasofaríngeas y del tracto bronquio-pulmonar. Los aceites esenciales del *Eucalyptus* se extraen de las hojas, son recomendados para realización de inspiraciones que, gracias a su acción, eliminan y detienen el crecimiento de organismos patógenos que afectan el aparato respiratorio, por ejemplo: *Candida* o estafilococo, virus de la tuberculosis, bacterias y la rabia, etc...; puede ser usado como antiséptico en lugares con pocos recursos para operaciones de desinfección, en especial, ambiental para evitar la difusión aérea de enfermedades como el cólera (*Eucalyptus globulus* Labill, 2011).

Se usa con frecuencia para despejar las vías respiratorias, ya que es un magnífico expectorante. También cuenta con capacidad contra la inflamación, que le otorga ventaja para tratar bronquitis, gripe, faringitis, rinitis, sinusitis, asma; aclara la piel y elimina piojos. (Damjanovic, 2011).

El eucalipto, para el tratamiento de la piel, atenúa las manchas, forúnculos y granos además de mejorar la circulación sanguínea. Se puede aplicar en dosis pequeñas, ya que si se aplica en altas cantidades puede irritar en la zona a tratar. Resulta muy potente para añadirlo en

tratamientos para el cutis; pero, una gota mezclada con una cucharada de aceite de jojoba funciona como un práctico aceite de masaje para espaldas y cutis con manchas (Damjanovic, 2011).

1.4.1.7 USOS (Tarte, 1986).

- Acné: Ayuda a reducir barros, granos, espinillas, etc. En un recipiente con un litro de agua se disuelve 30 ml. de aceite esencial y se aplica esta mezcla con un trapo limpio o gasa sobre la parte afectada.
- Problemas de la Piel: como antiséptico y también astringente. En un litro de agua, verter 30 ml. de aceite esencial y se aplica esta mezcla con un trapo limpio o gasa sobre la herida.
- Aftas Bucales: previene infecciones y cicatriza heridas orales. En un litro de agua se disuelve 30 ml. de aceite esencial, hacer gárgaras procurando no pasar el líquido. Para heridas externas empaparlas con un trapo limpio o gasa.
- Arañazos, Cortes, Heridas, Pinchazos, etc.: En un litro de agua disolver 30 ml de aceite esencial y aplicar esta mezcla con un trapo limpio o gasa sobre la zona afectada.
- Artritis Reumatoide: Reduce el dolor de la articulación afectada y baja la hinchazón. En un litro de agua disolver 20 ó 30 ml de aceite esencial y realizar fricciones sobre la articulación que se encuentre afectada.
- Artrosis: En un litro de agua disolver 20 o 30 ml de aceite esencial y realizar fricciones sobre la articulación afectada.

- Para problemas asmaticos: Disminuye la inflamación y ayuda a mejorar la respiración al paciente asmático. Se pone a hervir una porción (lo que quepa en la mano) en u litro de agua. Se Aspiran los vapores tapándose la cabeza con una toalla. Fumar cigarrillos acondicionados con dos hojas secas. Fumar un par de cigarrillos al día.

- Bronquitis: Reduce la inflamación de los bronquios y ayuda a eliminar el exceso de secreciones.

Se prepara 60 gramos de hojas en un litro de agua. Se tapa la cabeza con un paño y se aspiran los vapores. Se prepara media cucharada sopera de hojas secas para tomar en infusión en una taza de agua, 3 veces al día.

- Catarro: Combate el catarro, reduce la tos, ayuda a eliminar el mucus, relaja la garganta, etc. En un litro de agua poner a hervir un puñado de hojas. Se aspira los vapores tapándose la cabeza con un paño Se prepara media cucharada sopera de hojas secas para tomar en infusión en una taza de agua, 3 veces al día.

- Diabetes: Ayuda a reducir el nivel de azúcar en la sangre. En una taza de agua se agrega una cucharada de hojas secas 3 minutos. Colar y tomar dos veces al día.

- Dolor de Garganta: Reduce la inflamación de amígdalas, disminuye la carraspera y la infección. Hacer enjuagues bucales con la decocción de un puñado de hojas en un litro de agua.

- Faringitis: Para combatir los microorganismos que causan la inflamación y ablanda la faringe. En un litro de agua se pone a hervir un puñado. Para infusión aplicar media cucharada de sopa llena de hojas secas por cada taza de agua, tomar tres veces al día.

- Laringitis: En un litro de agua, poner a hervir un puñado de hojas. Se tapa la cabeza con un paño y se aspira los vapores. Para infusión aplicar media cucharada sopera de hojas secas por taza de agua, tomar tres veces al día.

- Mal Aliento: Ataca la halitosis. Preparar enjuagues bucales con la decocción de hojas (un puñado) por litro de agua. También se puede tomar en infusión unas hojas en agua.

- Rinitis: Disminuye la inflamación de las fosas nasales. En un litro de agua, cocer 60 gramos. Cubrirse la cabeza con un paño y aspirar los vapores.

- Sinusitis: Ayuda a Desinflamar los senos paranasales y facilita la expulsión del exceso de mucosidad. Cocción de un puñado de hojas. Cubrirse la cabeza con un paño y aspirar los vapores.

- Tos: Reduce la sensación de toser. Hacer vahos con el cocimiento de un par de cucharadas por litro de agua.

-Tos Ferina: Respirar el vapor de la cocción de un par de cucharadas por litro de agua.

USO MEDICINAL (*Eucalyptus globulus* Labill, 2011).

Entre los usos tenemos:

El uso de la fitoterapia ha sido más conocido y estudiado en la ciencia médica, que en otras especialidades de la salud, como la odontología.

Muchos componentes pueden desarrollar; por ejemplo, inhibición del crecimiento o desarrollo de microorganismos causantes de la placa bacteriana dental humana. Así tenemos:

El eucaliptol y el aceite esencial de naranja han evidenciado una actividad solvente de la gutapercha tan eficiente en cuanto al xilol y halotano.

- La eucaliptona es un compuesto que se extrae de las hojas de *Eucalyptus Globulus* y constituye un novel elemento cariostático.

- *Eucalypto globulus* Labill (eucalipto) posee un contenido aproximado de 3 a 5% de aceite esencial, con 60% o más de eucaliptol (1,8 cineol) , elemento que actúa contra la gripe, balsámico y adstringente, siendo utilizado para combatir la inflamación gingival.

- El uso medicinal y el conocimiento tradicional relata que posee efecto antiséptico, expectorante y desinfectante.

- Los efectos bacteriostáticos y bactericidas han sido estudiados in vitro contra varios gérmenes (estafilococos, neumococo, proteus, coliformes) y contra hongos y levaduras (Cándida).

1.4.1.8 CONTRAINDICACIONES (Skolmen & Thomas, 2000).

- No administrarse por vía enteral durante el embarazo, lactancia y niños hasta de 6 años. Contraindicado vía tópica para niños menores de 2 años o con alergia respiratoria.
- Suspendir su uso en caso de reacciones de hipersensibilidad a su aceite esencial.
- No debe administrarse en simultáneo con otros medicamentos ya que promueve la función de los microsomas del hígado, con lo que acorta el tiempo para realizar el catabolismo.
- No administrarse si existe inflamación del tracto gastrointestinal, biliar o alguna enfermedad hepática.
- No administrarse en simultáneo con medicamentos sedantes, analgésicos o sedantes.

1.4.2. Staphylococcus aureus:

1.4.2.1 ASPECTOS GENERALES

Los estafilococos constituyen un gran grupo de bacterias Gram (+) positivas, tienen un diámetro que oscila entre 0.5 y 1.5 micras. Este grupo se caracteriza por su división en grupos que asemejan racimos de uva y, hasta hoy, se han podido identificar 35 especies con 17 subespecies en el género *Staphylococcus*. Este género posee gran adaptabilidad, motivo por el cual se ven afectadas todas las especies conocidas de mamíferos, incluye también a los roedores comunes de laboratorio. Es por eso que, gracias a su fácil difusión, se da la transmisión interespecie, siendo frecuentes los casos humano-animales y viceversa (Zendejas-Manzo, 2014).

1.4.2.2 METABOLISMO

Staphylococcus aureus posee un metabolismo de tipo fermentativo y anaerobio facultativo, catalasa positiva y oxidasa negativa. Tiene la capacidad de oxidar la glucosa sin producción de gases y puede producir acetil metil carbinol. Así mismo, fermenta el manitol con formación de ácidos y puede hacerlo en anaerobiosis. No hidroliza el almidón y tiene la capacidad de crecer en presencia de un 40% de bilis. Su temperatura ideal de crecimiento va de 35 a 40 °C y el pH óptimo oscila entre 7,0 y 7,5 pero pueden soportar pH mucho más extremos. Es capaz de soportar tasas altas de cloruro sódico, hasta un 15%. Posee la coagulasa, una enzima que la distingue del resto de las especies del género; ésta tiene la

facultad de reaccionar con el fibrinógeno originando un coágulo de fibrina. Cuenta de igual manera con una desoxirribonucleasa o DNasa, una nucleasaexocelular que despolimeriza el ADN. A esta enzima se la denomina termonucleasa por ser termoresistente en las cepas de *S. aureus*. También presentan la proteína A, una proteína de unión no específica a anticuerpos que está relacionada con su virulencia. Un medio diferencial para *S. aureus* es el medio manitol-salino o Chapman (Zendejas-Manzo, 2014).

1.4.2.3 COLONIZACIÓN POR *Staphylococcus aureus*

La colonización está definida como la presencia, crecimiento y diseminación de un organismo microscópico en un individuo que actúa de hospedador sin ocasionar una respuesta inmunológica específica o infección. En el caso de *S. aureus*, la colonización se llega a dar en el órgano olfatorio, en especial en el vestíbulo nasal y en mayor parte en el tejido escamoso húmedo del tabique contiguo al orificio nasal. No obstante, se puede portar el microorganismo en otras áreas corporales como la piel, el periné, la nasofaringe y, con menor incidencia, el tracto gastrointestinal, la vagina y las axilas.

La portación de este organismo microscopico se ha clasificado en tres tipos de portador: portador persistente, portador intermitente y no portador. Los portadores del tipo persistentes son sujetos colonizados por

una cepa específica por largos períodos; se estima que del 10% al 35% de la población presenta este patrón de colonización. Los Portadores del tipo intermitentes son los individuos cuyas cepas colonizadoras cambian con frecuencia; se calcula que la población que pertenece a este grupo está entre el 20% y 75%. Y, por último, se denomina no portadores a quienes nunca han estado en contacto con *S. aureus*; se estima que son entre el 5% y el 50% de la población. Actualmente no se sabe a ciencia cierta qué factores del hospedador favorecen cada uno de estos grupos de portación (Rodríguez, 2015).

1.4.2.4 INFECCION POR staphylococcus aureus:

El *Staphylococcus aureus* es el principal causante de infecciones por bacterias que compromete el torrente circulatorio, el sistema respiratorio, la piel y los tejidos blandos.

Es un microorganismo muy agresivo, causante de un amplio espectro de morbilidad, estafilodermia como forunculosis y foliculitis, hasta infecciones que conlleva gravedad como neumonía necrosante, endocarditis y osteomielitis. Además, una característica es poseer una gran adaptación a los antibióticos adquiriendo mecanismos para resistir a la mayor parte de ellos, en especial a la metilina, lo que complicó aún más el panorama (Echevarría, 2003).

1.4.2.5 Staphylococcus aureus METICILINO RESISTENTE

Las afecciones por *S. Aureus* meticilino resistente (SAMR) ocurren por lo general en sujetos comprometidos con los servicios nosocomiales (cirugía previa, hospitalización, cateterismo endovenoso, usuario de diálisis, etc.). No obstante, desde los años 90 se empezaron a describir infecciones por SAMR en grupos de personas sin los factores clásicos arriba mencionados, comenzaron a reconocerse como infecciones de SAMR adquiridos en la comunidad (AC) para poder diferenciar de aquellos adquiridos en el hospital (AH). Las primeras observaciones se hicieron en grupos de niños, hombres que tenían sexo con hombres, equipos de jugadores, reos, entre otros. Luego, la infección se volvió más frecuente en algunos países del primer mundo. Moran et al. Describieron una prevalencia que bordea el 60 % de SAMR en infecciones dérmicas y partes blandas en las salas de emergencia en varios hospitales de USA en el 2004/05.

El mecanismo de resistencia a meticilina desarrollado por *S. aureus* sienta sus bases en producir de una proteína que se une a la penicilina (PUP) adicional, la PUP2a, la cual es totalmente funcional y no tiene predilección por los antibióticos β -lactámicos. Esta proteína está codificada por el gen *mecA*, que se localiza en un elemento genético móvil llamado cassette cromosómico estafilocócico *mec* (SCC*mec*) (Roca, 2013)

1.4.2.6. EPIDEMIOLOGÍA

Desde su hallazgo realizado por Alexander Ogston en 1880, *S. aureus* ha sido y es un problema para los médicos hoy en día. A partir de la utilización de la penicilina para combatir las afecciones por *S. aureus* y su resistencia a posteriori, hasta 1960 con la aparición de la meticilina, su uso en tratamiento clínico y la aparición de las primeras cepas resistentes a meticilina, se ha extendido en los nosocomios y sobre todo en UCI (unidades de cuidados intensivos). En las últimas décadas se ha prestado gran atención a MRSA por ser el agente principal de infecciones bacterianas en todo el mundo, pues tiene el potencial para causar una amplia gama de enfermedades que varían en gravedad. Es preciso señalar que la mayor parte de pacientes de MRSA son resistentes a todas las penicilinas disponibles, así como a otros antibióticos β -lactámicos (Cervantes, 2015).

A partir de 1990, los registros de infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente (SAMR) en individuos sin exposición previa con algún centro nosocomial, dieron el surgimiento de una nueva cepa de *S. aureus*, denominada *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente adquirido en comunidad (SAMR-AC).

En un principio, los informes por SAMRAC, presentaban infecciones relativamente leves, ubicadas en piel y tejidos blandos (como abscesos, foliculitis, celulitis e impétigo); no obstante, casos de infecciones graves de partes blandas (fasciitis necrotizante), asociados a bacteriemia y neumonía, fueron posteriormente reportados y han sido causantes del aumento en la mortalidad (Echevarría, 2003).

Se han reportado casos en EE. UU., Canadá, Finlandia, Francia, Reino Unido, Nueva Zelanda, Suiza, Australia y Samoa (5,6). En Sudamérica se ha descrito en Uruguay, Argentina, Chile, Ecuador, Colombia y Venezuela. Es por este motivo que las infecciones por SAMR-AC, en la actualidad es considerada una enfermedad emergente, que no solo involucra a países desarrollados, sino también a países en desarrollo (Carmona, 2012).

Se calcula que dos billones de personas portan este microorganismo en el mundo, de ellas 1% es por SAMR, la mucosa de la nariz representa el lugar predilecto de colonización. Estos acontecimientos han impulsado una serie de estudios sobre la prevalencia de portadores, el estado del portador y la relación del riesgo de infección y a plantear la posibilidad de eliminar este estado como medida para prevenir infecciones (Roca, 2013). Frente a este escenario, en muchos lugares del mundo se incluye a la vancomicina como parte del tratamiento empírico de las infecciones de piel y partes blandas adquiridas en la comunidad (Carmona, 2012).

En el Perú, ningún caso de SAMR adquirido en la comunidad ha sido reportado. La primera sospecha ocurrió en el 2008, se trató de un paciente varón de 39 años de edad que laboraba en Argentina en un restaurante como cocinero sin ningún antecedente patológico importante. El sujeto desarrolló una infección purulenta en el tercer dedo de la mano izquierda después de lo cual viajó al Perú. Cinco días después de los primeros síntomas fue admitido en la emergencia (20/03/2008) por presentar sepsis severa, neumonía e infección de piel y partes blandas que comprometía el miembro superior izquierdo. Se aisló *S. aureus* de la secreción purulenta y de la sangre. Ambos aislamientos fueron resistentes a oxacilina y cefalosporinas, pero sensibles a los otros antimicrobianos.

El paciente estuvo nueve días en UCI, administrándosele inotrópicos y requiriendo ventilación mecánica. Se aplicó vancomicina endovenosa por 12 días y posteriormente clindamicina.

1.5. Hipótesis

El aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* tiene efecto antibacteriano *In vitro* sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus*, cepa ATCC 25923

1.6.Objetivos

Objetivo general:

- Evaluar el efecto antibacteriano In vitro del aceite esencial de las hojas de Eucalyptus globulus sobre los cultivos de Staphylococcus aureus ATCC 25923

Objetivos Específicos:

- Obtener el aceite esencial de las hojas de Eucalyptus globulus.
- Realizar el estudio fitoquímico del aceite esencial de las hojas Eucalyptus globulus
- Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de Eucalyptus globulus frente a Staphylococcus aureus cepa ATCC25923.

II. METODOLOGÍA

2.1 Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo

El estudio es de tipo analítico-experimental, aleatorizado, completo, pre-clínico in vivo.

2.1.2 Diseño

Este diseño experimental utilizó la técnica estadística que sirvió para poder identificar y medir las causas de un efecto dentro de un estudio experimental pre clínico in vivo. En este diseño se manipuló deliberadamente una o más variables, vinculadas al efecto antibacteriano (halos de inhibición).

Grupo	Tratamiento frente a Staphylococcus aureus
I	Solución de Eritromicina 15 µg
II	A.P. 25 %
III	A.P. 50 %
IV	A.P. 75 %
V	A.P. 100 %

2.2 Población y muestra

2.2.1 Población

- Eucalyptus globulus
- Staphylococcus aureus

2.2.2 Muestra

- Hojas de Eucalyptus globulus: 05 kg
- Staphylococcus aureus: Cepa ATCC 25923

2.3. Técnicas e instrumentos de investigación:

2.3.1. Obtención y preparación de la muestra

Se recolectó el material vegetal fresco del vivero forestal de Chimbote en cantidad suficiente de 5 Kg, la muestra vegetal fue seleccionada y lavada y acondicionada en una caja de cartón para su traslado al laboratorio.

2.3.2. Extracción del aceite esencial

Se efectuó a través del método de destilación por arrastre de vapor de agua, el cual consistió en hacer pasar el vapor del agua a través de la muestra vegetal, arrastrando la esencia hacia la cámara condensadora, el vapor se pasó durante una hora a un kilogramo de droga vegetal, se empleó un destilador semi-industrial piloto proporcionado por la Facultad de Medicina Humana, Escuela de Farmacia y Bioquímica. El hidrolato obtenido separado en una pera de decantación, se saturó utilizando cloruro de sodio para retirar el agua contenida en el aceite, luego se filtró y envasó en un frasco ámbar. Este proceso se determinó por triplicado para cada muestra (Wankat, 1988).

2.3.3 Estudio fitoquímico del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus*

(Lock de Ugaz, 1994).

El estudio fitoquímico del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* se realizó en las instalaciones de laboratorio de microbiología de la Facultad

de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, al cual se le practicó, las reacciones utilizando la codificación: Ausencia (-), Poca cantidad (+), Regular Cantidad (++), y por último Abundante cantidad (+++).

a) Identificación de Alcaloides

Ensayo de Dragendorff

Se depositó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, luego se añadió 3 gotas del reactivo de Dragendorff, y se procedió a observar considerándose positivo la formación de un precipitado rojo ladrillo.

Ensayo de Mayer

Se depositó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se añadió 3 gotas del Reactivo de Mayer y se procedió a observar considerándose positivo la formación de un precipitado blanco.

Ensayo de Wagner

Se depositó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se añadió 3 gotas del Reactivo de Wagner y se procedió a observar considerándose positivo la formación de un precipitado café.

b) Identificación de Flavonoides

Ensayo de Shinoda

Se depositó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, luego se agregó limadura de magnesio seguido de 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado y se procedió a observar considerándose positivo si la reacción es de rojo oscuro intenso.

c) Identificación de compuestos fenólicos y/o taninos

Ensayo de Cloruro Férrico (FeCl₃)

Se depositó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se agregó 3 gotas del reactivo FeCl₃ al 10% y se procedió a observar considerándose positivo la aparición de coloración verde oscuro.

d) Identificación de triterpenoides y/o esteroides

Ensayo de Liebermann-Burchard

Se depositó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, a continuación se añadió 5 gotas de ácido acético seguido de 5 gotas de anhídrido acético, luego se agregó 1 gota de ácido sulfúrico y se procedió a

observar considerándose positivo para triterpenoides una coloración rojo-marrón y para esteroides la presencia de anillo color verde.

e) Identificación de Quinonas

Ensayo de Borntrager

Se depositó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se agregó 5 gotas del reactivo de Borntrager y se procedió a observar considerándose positivo si la reacción es de color rojo intenso o rosado oscuro.

f) Identificación de Azúcares reductores

Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, primero se mezcló Fehling A + Fehling B y luego se añadió a la muestra. Considerándose positivo un precipitado rojo.

g) Identificación de Saponinas

Se depositó 1 mL extracto en un tubo de ensayo y se diluyó con 5 veces su volumen en agua y se agitó la mezcla fuertemente durante

2 minutos. Considerándose positivo la aparición de espuma de 2mm de altura en la superficie y si persistió por más de 2 minutos.

2.3.4 Determinación del efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* sobre los cultivos de *Staphylococcus aureus* cepa ATCC25923.

2.3.4.1 Preparación de los discos saturados con el aceite esencial

Los discos de papel filtro de 6 mm de diámetro se autoclavarón a 120° C por 15 minutos y se impregnaron cada uno con aceite esencial en concentraciones de 25, 50, 75 y 100%. Los discos se dejaron secar antes de ser colocados en la superficie de las placas sembradas (Kirby – Bauer, 1996)

2.3.4.2 Preparación de los discos saturados con Eritromicina

Los discos de papel filtro de 6 mm de diámetro se autoclavarán a 120° C por 15 minutos y se impregnaron cada uno con 15 mg de eritromicina, para ello se partió de una solución y se calculó la cantidad en solución para garantizar la concentración mencionada. Los discos se dejaron secar antes de ser colocados en la superficie de las placas sembradas (Kirby – Bauer, 1996)

2.3.4.3 Prueba de agar placa bacterial

Se preparó una suspensión homogénea de bacterias en solución salina fisiológica estéril, cuidando que la concentración sea 3×10^8 bacterias/ml. Esto se determinó usando un nefelómetro. Las bacterias fueron sembradas en la superficie de las placas Petri conteniendo agar Müller Hinton para todas cepas. Luego se dejarán secar en estufa a 37°C por un tiempo aproximado de 15 minutos.

Los discos preparados con el aceite volátil en las diferentes concentraciones y el disco control con eritromicina fue colocado sobre la superficie del agar en las placas, los que luego fueron puestos a incubación en la estufa a 37°C , durante 24 horas. Los halos de inhibición de crecimiento bacteriano se medieron con una regla milimetrada (Kirby – Bauer, 1996)

2.4. Procesamiento y análisis de la información

La data fue expresada a través de la estadística descriptiva, donde se utilizó valores medios \pm error estándar (EA), límites inferior y superior a un intervalo de confianza del 95%, los valores fueron significativos con una $p < 0,05$; se empleó el programa estadístico SPSS.

III. RESULTADOS

Tabla 1. marcha fitoquímica del aceite esencial de las hojas de Eucalyptus globulus

Reacción	Metabolito	Cantidad
Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
Shinoda	flavonoides	+++
Espuma	saponinas	++
Gelatina	Taninos	++

Leyenda: (+++) = abundante; (++) = regular; (+) = trazas; (-) = ausencia

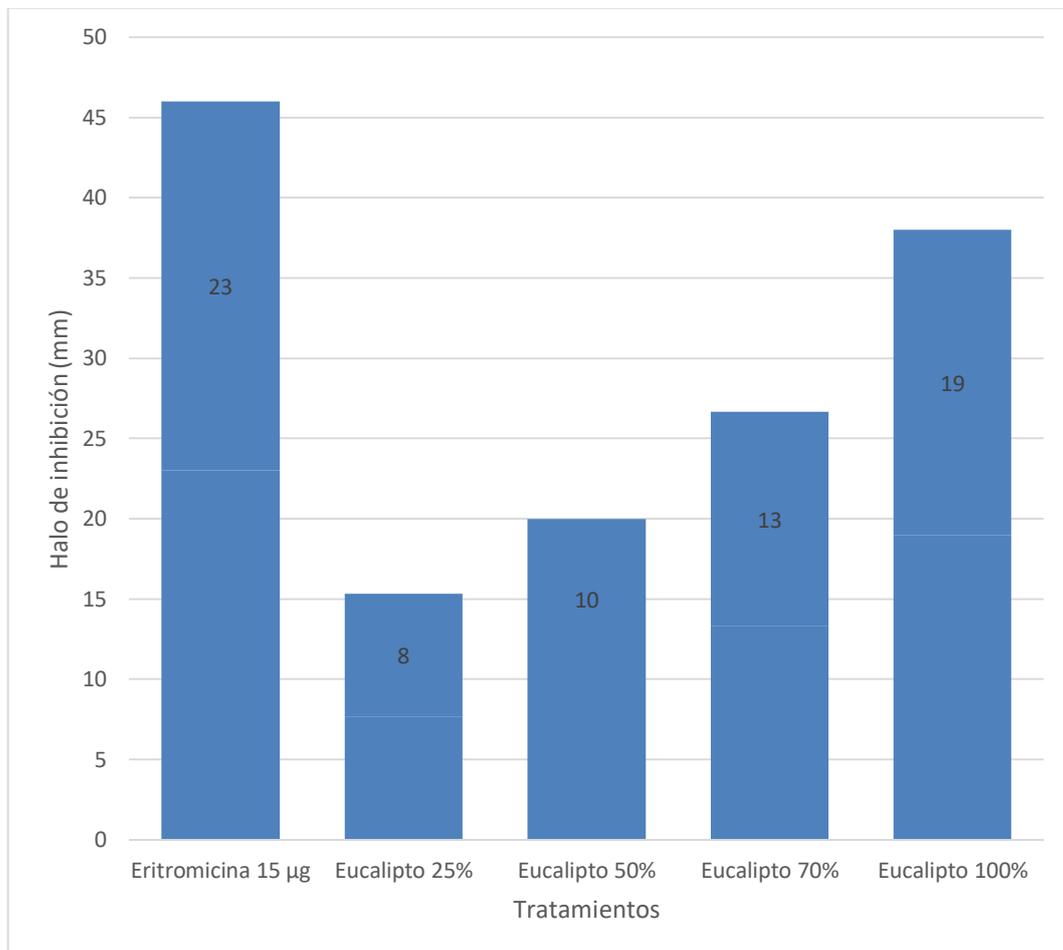


Figura 01. Promedio de los halos de Inhibición al evaluar del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus*, al evaluar la actividad antibacteriana, frente a *Staphylococcus aureus*.

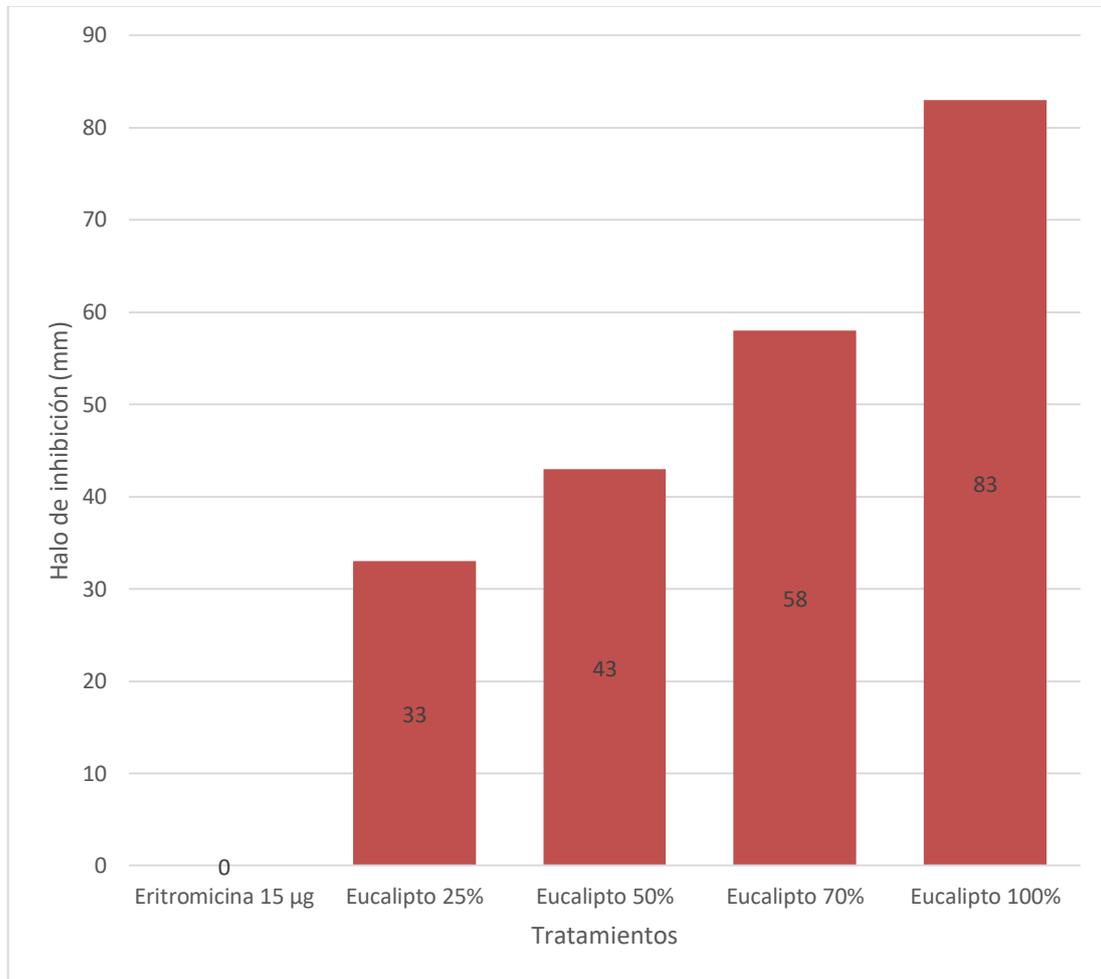


Figura 02. Porcentaje de inhibición bacteriana del crecimiento bacteriano por tratamientos al evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus*.

IV. DISCUSIÓN

El estudio fitoquímico realizado al aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* ha evidenciado abundantes flavonoides y compuestos fenólicos, y en regular cantidad las saponinas y taninos (tabla 1).

En la figura N°01, se ilustra el promedio de los halos de inhibición en las tres distintas concentraciones de aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus*, y de los controles positivos (eritromicina 15 µg) observándose que los promedios de los halos de inhibición formados para las concentraciones del 100% 75%, 50% y 25% muestran diferencias estadísticamente significativas entre ellas.

Así también, los resultados indican que la mayor actividad antibacteriana se da a concentraciones puras del producto a los que se puede deber a sus compuestos que se encuentran en mayor proporción como son los componentes fenólicos y flavonoides, de tal manera que ejercen un efecto bacteriostático, como la eritromicina, (Tamariz, 2003), que actúa inhibiendo la síntesis de proteínas.

En el proceso de síntesis proteica de los macrolidos como la eritromicina se logra discriminar tres estadios: iniciación, elongación de la cadena polipeptídica y terminación. La etapa de elongación está compuesta, a su vez, tres fases: reconocimiento, transferencia y translocación. Después de sintetizadas, varias cadenas polipeptídicas se unen para formar una proteína, que luego atraviesa un

proceso de plegamiento y finalmente adquiere una configuración espacial determinada. (Willett, 1994). (Figura 1).

El ribosoma de la bacteria posee una estructura la cual, su constante de sedimentación es 70S y está conformado por dos subunidades (30S y 50S) (Gómez, 2005). Los macrólidos se fijan en forma reversible al sitio P, que se encuentra cerca del dominio V del componente 23S de la subunidad 50S y del centro que contiene a la enzima peptidiltransferasa. Su acción la realizan inhibiendo la translocación durante la síntesis proteica bacteriana, acción que es específica sobre células procariotas debido a la ausencia de subunidad 50S en eucariotas (Mulazimoglu, 2005).

Se han podido identificar las proteínas que intervienen en la interacción macrólido-ribosoma, constatando que la proteína L22 es el sitio de fijación para eritromicina, mientras que L27 permite que se fije la espiramicina. Estos descubrimientos sugieren que diferencias estructurales de los macrólidos se reflejan en dianas ribosomales específicas (Giner, 1995).

Físicamente, los macrólidos se sitúan a la salida del túnel por donde el péptido naciente escapa del ribosoma. Al interactuar grupos reactivos de la desosamina y el anillo lactona, se constituyen puentes de hidrógeno y la luz del túnel se ve reducido de 15 Å a 10 Å. Dicha interacción es determinante de la acción antimicrobiana y se sabe que el impedimento de la misma, sea por dimetilación de la adenina o reemplazo

de la adenina por otra base, genera completa resistencia. Como resultado de la ubicación de la molécula, se obtura el pasaje de la cadena peptídica que está atravesando la fase de elongación. Empero, como el sitio se encuentra DISTANTE del centro donde se halla la enzima peptidiltransferasa, algunos polipéptidos cortos logran ser sintetizados. Efectos indirectos de la unión de los macrólidos al ribosoma son: fomento de la disociación del peptidil-ARNt del ribosoma, interferencia en el ensamblaje de la subunidad 50S e impedimento en la formación de la unión peptídica. Este último punto relevante en el caso de los derivados semisintéticos 16-membrados que cuentan con una mayor extensión de la desosamina. Dicha extensión puede protruir sobre el sitio donde se ubica la enzima peptidil-transfrasa e inhibir la ubicación del sustrato en el sitio P. La interacción de la clánidosa con el ribosoma no ha sido analizada en detalle. No obstante, se cree que actúa como reforzador de la unión del antibiótico con el sitio target, ya que al ser removida se observa una disminución en la actividad antibacteriana (Mulazimoglu, 2005), lo que queda confirmado al obtenerse un mayor grado de inhibición 83% con aceite al 100% (Figura 2).

V. CONCLUSIONES

El análisis fitoquímico cualitativo del aceite de hojas de eucalipto, se ha evidenciado la existencia de compuestos fenólicos, flavonoides, y saponinas en mayor cantidad.

En condiciones experimentales se ha demostrado que el aceite de eucalipto, evaluado in vitro sobre cultivos de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, posee mayor efecto antibacteriano cuando se utiliza al 100%.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar investigaciones de la actividad antibacteriana de los componentes del aceite de eucalipto en modelos experimentales in vivo, además de evaluar su actividad frente a otras especies bacterianas.
- Realizar estudios con otras partes vegetales de la muestra en estudio y con la totalidad de la planta.
- Realizar estudios de seguridad, que permitan aplicar este producto natural en investigaciones del tipo clínico.

VII. AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser mi inspiración, a mis padres por darme todo lo que soy, por inculcarme buenos valores, principios, y motivar mi perseverancia, mi empeño. A mis hermanos; por la compañía y el apoyo que me brindan. Sé que cuento con ellos siempre y espero ser un buen ejemplo para ellos. Mi triunfo lo dedico a ellos.

GRACIAS.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alegría, A. (2010). Prevalencia de caries del tal en niños de 6-12 años de edad atendidos en la clínica pediátrica de la Universidad Alas peruanas utilizando los criterios ICDAS II. Peru: Universidad Alas Peruanas. (Tesis de pregrado) Obtenido de <https://www.cop.org.pe/bib/tesis/ANDREADELROSARIOALEGRIAA GURTO.pdf>
- Álvarez, I. (2012). The evolution of an old pathogen called *Staphylococcus aureus*. *Rev cubana Pediatr* vol.84 no.4, 53-54. Obtenido de: https://www.researchgate.net/publication/287843042_The_evolutionn_of_an_old_pathogen_called_Staphylococcus_aureus
- Alzamora, Libertad, et al. (2001) Medicina tradicional en el Perú. Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. En *Anales de la Facultad de Medicina*. Lima- Perú. Pág. 156-161. Obtenido de: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/4167>
- Bachir R, B. R., & Mohamed, B. (2008). Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. *African journal of Pharmacy and pharmacology*, 2(10), 211-215. Obtenido por: http://www.academicjournals.org/app/webroot/article/article138082306_9_Ghalem%20and%20Mohamed.pdf
- Becerra, M. (2010). Efecto antibacteriano "in vitro" del extracto etanólico y acuoso de *Eucalyptus Globulus* L.(eucalipto) en diferentes concentraciones sobre cepas de *Lactilobacillus* spp. Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo – Perú. 2010 (Tesis Doctoral) Obtenido de: <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/KATHERINMELISSABECERRAJIM ENEZ.pdf>

- Carmona, E. (2012). Frecuencia y susceptibilidad antibiótica del staphylococcus aureus proveniente de hisopados asales en una población urbano marginal de Lima, Perú. Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia. , Vol 92 (2).
Obtenido de:
<https://imtavh.cayetano.edu.pe/en/component/content/article/99-publications/177-publicaciones-nacionales-2012.html>
- García, R., Salazar, M., & Cervantes, E. (2015). Staphylococcus aureus asociado a la comunidad (CA-MRSA). Rev Latinoam Patol Clin Med Lab , 100 111. Obtenido de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2015/pt152f.pdf>
- Echevarria J. (2003). Estafilococo Meticilino resistente, un Problema actual en la Emergencia de Resistencia entre los Gram Positivos. Rev Med Hered., 195-203. Lima. Obtenido de:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2003000400008
- Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. (1995). Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 220. Obtenido de:
<http://www.cytcd.org/es/cytcd>
- Damjanovic (2011). Antimicrobial effect of essential oil isolated from Eucalyptus globulus Labill. From Montenegro. Czech Journal of Food Sciences. 29(3) 277-284. Obtenido de:
<https://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/39925.pdf>
- Diaz, R., & De Oliveira, E. (2010). Atividade antifúngica in vitro do óleo essencial de Eucalyptus globulus L. sobre Candida spp. Rev Odontol UNESP. 39(3): 179-184 Marsh P. Microbiología oral. 5ta edición. Venezuela: editorial AMOLCA. Obtenido de:

http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4181/Cahuana_Pineda_Lizbeth_Vanessa_Condori_Cueva_Tania_Vaneza.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Eucalyptus globulus Labill (2011). Base de datos de invasores Biologicas para Uruguay. Abril.

Giner, S., Canós, M., Rodilla, F., & Ferrer, C. (1995) Nuevos macrólidos ¿Superan a la Eritromicina?. Farm Hosp 19 (5): 59-265.

Humberto, L. (s.f) Evaluacion de la actividad antibacteriana in vitro de los extratos de Caesalpinia Spinosa "tara"y Eucalyptus .Facultad de medicina humana de la universidad de san martin de Porres.Lima.

Jimenez, K. (2010). Efecto antibacteriano "in vitro" del extracto etanólico y acuoso de Eucalyptus Globulus L.(eucalipto) en diferentes concentraciones sobre cepas de Lactilobacillus spp. [Tesis Doctoral]. Perú: Universidad Privada Antenor Orrego.

Kirby, W., & Bauer, A. (1996). Antibiotic suceptibility testing by a standarizer single method. Am. J Clinic Pathol 45: 493 – 496.

Li, E. (2010). Estado del Arte del Sector de Plantas Medicinales en Perú. PRODUCE. Disponible en: 32 http://www.unido.org/fileadmin/import/69934_PERU_Informe_final_plantas_medicinales_2vf.pdf

Lock de Ugaz. (1994). Investigacion Fitoquimica, Metodos en el estudio de productos. 5-7.

Mohammed, N.(2014). Antimicrobial activity of leaves extracts of eucalyptus spathulata against streptococcus Mutans and candida albicans. Journal of Al Rafidain University College. 33: 183(193)

Mulazimoglu, L., Tulken, P. M., & Van Bambeke, F. (2005) Macrolides. In: Yu VL, Edwards G, McKinnon PS, Peloquin C and Morse GD (eds),

Antimicrobial Therapy and Vaccines, Volume II: Antimicrobial Agents
(2nd Ed) Pittsburg, ESun Technologies, p. 243-280.

- Pérez, M., Cid, M., Méndez, R., Rodríguez, M., & Arboláez, M. (2007). Proposal
e{ guideline for c/inica/ tria/ protocols with herbal drugs. J Biomed,
citado I Ene 2007, Disponible en: <http://biomed.uninet.edu/2007/n1/perez.html>
- Pranay, J. (2010). antimicrobial activity and phytochemical analysis of
eucalyptus tereticornis bark ana leaf methanolic extrants. Journal of
pharmaceutical sciences review and research. Vol 4(2):126-128
- Roca, D. A. (2013). Staphylococcus aureus resistente a meticilina asociado a la
comunidad: aspectos epidemiológicos y moleculares. An. Fac. med. v.74
n.1.
- Rodríguez, B. (2016). Eficacia antifúngica in vitro de Uncaria tomentosa frente a
Eucalyptus globulus sobre Cándida sp. [Tesis] Universidad privada
antenor Orrego.
- Rodríguez, E.(2015). Factores relacionados con la colonizacion por
Staphylococcus aureus. Iatreia vol.28 no.1, 3-4.
- Skolmen, R., Thomas, L. (2000). Eucalyptus globulus Labill. Eucalipto goma
azul. US Forest Service.
- Tarte, R. (1986). Sevicultura de especies promisorias para producción de leña en
América Central. Costa Rica: CATIE- ROCAP.
- Wankat, P. C. (1988). Equilibrium Staged Separations. Separations in Chemical
yield and chemical composition of the essential oil of Satureja hortensis.
Food Chemistry. 99; 19 – 23.
- Willett, H. P. (1994) Agentes antimicrobianos. En: Wolfgang KJ, Willett HP,
Amos DB, Wilfert CM (eds): Zinsser Microbiología (2ª Ed) Buenos
Aires, Ed. Panamericana, p. 221-283.

- Zendejas-Manzo, G. (2014). Microbiología general de Staphylococcus aureus: Generalidades, Patogenicidad y Metodos de Identificacion . Rev Biomed, 129-143.
- Zapata, R. (1987). Actividad antimicrobiana in vitro de la droga comercializada como Sangre de. Lima-Peru: Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico.

IX. ANEXOS

Anexo 1.- Tabla de recolección de datos al evaluar el efecto antibacteriano de aceite de las hojas de eucalipto (n=6)

tratamientos	1	2	3	4	5	6
Eritromicina 15 µg	24	23	18	19	28	26
Eucalipto 25%	8	8	7	6	9	8
Eucalipto 50%	10	9	12	10	11	8
Eucalipto 70%	15	10	14	12	16	13
Eucalipto 100%	16	22	19	20	19	18