



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA**

TESIS

**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO Y
ETANÓLICO DE *Eucalyptus globulus* L. (EUCALIPTO) SOBRE CEPAS
DE *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, IN VITRO”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES:

Bach. Carhuapoma Collantes, Billy Eli
Bach. Sánchez Paisig, María Dialenis

ASESOR:

Mg. Rojas Aire, Carlos Max

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos Naturales - Fitoquímica

Huancayo - Perú

2022

Dedicatoria

A DIOS, a mis hijos, a mi madre y en memoria de mi hermano que me apoyo de alguna u otra manera en lograr mis metas.

María

A mis padres que siempre se esforzaron en brindarme una buena educación.

Billy

Agradecimiento

A todas las personas de mi alrededor que me ayudaron de alguna manera pese a las adversidades en el camino de la vida y permitirme lograr una de mis metas propuestas, que es la culminación de mi tesis.

Los autores

Jurado de Sustentación

JURADOS

PRESIDENTE:

Dr. Edgar Robert Tapia Manrique

MIEMBRO SECRETARIA:

Mg. Carlos Max Rojas Aire

MIEMBRO VOCAL:

Mg. Juan Orlando Huaman Gutierrez

MIEMBRO SUPLENTE:

Mg. Ivar Jines Lavado Morales

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

DECLARACIÓN JURADA SIMPLE

Yo, **CARHUAPOMA COLLANTES BILLY ELI** de Nacionalidad Peruana, identificado con **DNI N° 46859720**, de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, autor de la tesis titulada. **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO Y ETANÓLICO DE *Eucalyptus globulus* L. (EUCALIPTO) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, IN VITRO**

DECLARACIÓN BAJO JURAMENTO:

QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ, siendo resultado del esfuerzo personal, que no ha sido copiado, sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor. En este sentido somos conscientes de que el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, son objeto de sanciones universitarias y/o legales.

Chiclayo. 06 de Marzo del 2022



CARHUAPOMA COLLANTES BILLY ELI

DNI: 46859720



HUELLA DIGITAL

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

DECLARACIÓN JURADA SIMPLE

Yo, **SÁNCHEZ PAISIG MARÍA DIALENIS** de Nacionalidad Peruana, identificado con **DNI N° 71298868**, de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, autor de la tesis titulada. **ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO Y ETANÓLICO DE *Eucalyptus globulus* L. (EUCALIPTO) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, IN VITRO**

DECLARACIÓN BAJO JURAMENTO:

QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ, siendo resultado del esfuerzo personal, que no ha sido copiado, sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor. En este sentido somos conscientes de que el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, son objeto de sanciones universitarias y/o legales.

Chiclayo. 06 de Marzo del 2022



SÁNCHEZ PAISIG MARÍA DIALENIS

DNI: 71298868



HUELLA DIGITAL

Índice

Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento	iii
Los autores.....	iii
Jurado de Sustentación	iv
Índice.....	vii
RESUMEN	xi
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUCCIÓN	13
II. MÉTODO.....	20
2.1. Tipo y diseño de investigación.....	20
2.2. Operacionalización de las variables.....	21
2.3. Población, muestra y muestreo ²³	21
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	22
2.5. Procedimiento.....	22
2.6. Método de Análisis de datos.....	23
2.7. Aspectos éticos	24
III. RESULTADOS.....	25
IV. DISCUSIÓN.....	31
V. CONCLUSIONES.....	33
RECOMENDACIONES.....	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	38

Índice Tablas

Tabla 1. Estadística descriptiva de los halos de inhibición para los grupos experimentales y control	25
Tabla 2. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos	27
Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)	28
Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)	28
Tabla 5. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	29
Tabla 6. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	30

Índice Figuras

Figura: 1. Recolección de la planta.....	53
Figura: 2. Lavado y desinfección de las hojas de la planta	53
Figura: 3. Secado a temperatura ambiente y en estufa de las hojas	53
Figura: 5. Pulverización en molinillo eléctrico de cuchillas	54
Figura: 6. Procedimiento de maceración en metanol y etanol.....	54
Figura: 7. Evaporación del filtrado en estufa	55
Figura: 8. Preparación de los extractos etanólico y metanólico de la planta	55
Figura: 9. Preparación del inóculo de trabajo.....	55
Figura: 10. Sembrado en placa de Staphylococcus aureus.....	56
Figura: 11. Aplicación de los extractos en placa Petri.....	56
Figura: 12. Incubación de los cultivos de Staphylococcus aureus con los tratamientos.....	57
Figura: 13. Halos de inhibición obtenidos sobre Staphylococcus aureus	57
Figura: 14. Medición de los diámetros de los halos de inhibición	57

Índice Anexos

Anexo 1: Instrumento de recolección de datos.....	39
Anexo 2: Operacionalización de las variables.....	40
Anexo 3: Formato de matriz de consistencia	41
Anexo 4: Validación de los instrumentos de los expertos	43
Anexo 5: Carta de aceptación del laboratorio	49
Anexo 6: Certificado botánico de la planta	50
Anexo 6: Certificado de análisis de la cepa	51
Anexo 7: Fotografías del trabajo realizado	53

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*.

Metodología: La investigación corresponde a un modelo cuantitativo de corte transversal y prospectiva con diseño experimental con grupo control, la población de estudio fue *Eucalyptus globulus* de la zona del distrito y provincia de Ferreñafe, departamento de Lambayeque, de la cual se consideró una muestra de 4 kg. de hojas de la especie vegetal obtenida mediante muestreo no probabilístico por conveniencia, se preparó extractos etanólicos y metanólicos a partir de esta muestra mediante maceración y se aplicó la técnica de difusión en pozo para determinar la actividad antibacteriana.

Resultados: Los resultados correspondientes al diámetro del halo de inhibición formado son para el extracto metanólico de *Eucalyptus globulus* al 100% y 50% fue de $27,58 \pm 0,30$ mm y halo de $23,46 \pm 0,53$ mm; el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 100% y 50% fue de $20,51 \pm 0,42$ mm y $19,72 \pm 0,39$ mm, con respecto a los grupos control, para el negativo de metanol fue de $8,64 \pm 0,46$ mm, de etanol fue de $8,64 \pm 0,34$ mm y para el control positivo fue de $43,64 \pm 0,48$ mm.

Conclusión: El extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) demostró actividad antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*.

Palabras clave: Extracto, metanólico, etanólico, *Eucalyptus globulus*, Eucalipto, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Objective: To determine the antibacterial activity of the methanolic and ethanolic extract of *Eucalyptus globulus* (*Eucalyptus*) on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, in vitro.

Methodology: The research corresponds to a quantitative cross-sectional and prospective model with an experimental design with a control group, the study population was *Eucalyptus globulus* from the area of the district and province of Ferreñafe, department of Lambayeque, of which a sample of 4kg of leaves of the plant species obtained by non-probabilistic convenience sampling, ethanolic and methanolic extracts were prepared from this sample by maceration and the well diffusion technique was applied to determine the antibacterial activity.

Results: The results corresponding to the diameter of the inhibition halo formed for the methanolic extract of *Eucalyptus globulus* at 100% and 50% was $27.58 + 0.30\text{mm}$ and halo $23.46 + 0.53\text{mm}$; the ethanolic extract of *Eucalyptus globulus* at 100% and 50% was $20.51 + 0.42\text{mm}$ and $19.72 + 0.39\text{mm}$, with respect to the control groups, for the negative of methanol it was $8.64 + 0, 46\text{mm}$, for ethanol it was $8.64 + 0.34\text{mm}$ and for the positive control it was $43.64 + 0.48\text{mm}$.

Conclusion: The methanolic and ethanolic extract of *Eucalyptus globulus* (*Eucalyptus*) demonstrated antibacterial activity on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, in vitro.

Keywords: Extract, methanolic, ethanolic, *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus*, *Staphylococcus aureus*

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana se ha convertido actualmente en uno de los problemas que requiere inmediata atención, como lo informan diferentes instituciones de salud a nivel mundial, esta problemática ha ocasionado incrementar las tasas de morbi-mortalidad en todo el mundo y hacer ineficaces el tratamiento con los antibióticos comunes¹.

Tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS) como la Organización Panamericana de Salud (OPS) son dos de las instituciones a nivel mundial que ha confirmado su preocupación por el incremento de la resistencia bacteriana y la falta de antibióticos eficaces para combatir las infecciones por estas nuevas cepas resistentes, siendo una gran preocupación las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y a vancomicina, las cuales generalmente son adquiridas en el ámbito intra-hospitalario².

Según el estudio realizado por el Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos en 22 países el cual se valió de una muestra de 500 mil individuos confirmó el problema de la resistencia bacteriana a nivel mundial².

En Estados Unidos se observa que el incremento de casos de infecciones por *Staphylococcus aureus* ha sufrido un incremento del 62% y que las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) se incrementaron en un 119% en el ámbito hospitalario, provocando así mismo, incremento de pacientes resistentes de un 43% a un 58%³.

De similar manera, estudios a nivel del Perú registran este incremento de contagio y resistencia de *Staphylococcus aureus*, por mencionar un estudio en 234 estudiantes de medicina mostraron que el 12.8% presentaban esta bacteria, pero eran portadores sanos, el 80% presentó cepas betalactamasas resistentes a vancomicina u otro antibiótico como eritromicina, clindamicina u metacilina⁵.

A nivel local, un estudio realizado en el Hospital Belén de Lambayeque, realizado al personal de salud de este nosocomio, mostró que el 20% del personal son portadores de *Staphylococcus aureus* y *S. pneumoniae*, siendo *S. aureus* el más frecuente con 92.86%⁶.

Esta realidad muestra a *Staphylococcus aureus* como una bacteria de alta patogenicidad, elevada resistencia y con gran potencial para incrementar los índices de mortalidad, en tal sentido, la necesidad de contrarrestar esta tendencia se constituye como necesidad imperiosa, por otro lado, la tendencia y empleo de plantas medicinales ayuda a evitar el riesgo de resistencia y mejorar los tratamientos con antibióticos, en ese sentido *Eucalyptus globulus L.* “eucalipto” es una planta que presenta muchas propiedades relacionadas con el tratamiento de infecciones respiratorias, entre otras.

Existen estudio a nivel nacional que demuestran la efectividad de *Eucalyptus globulus L.* en el tratamiento de las infecciones, como los que mencionaremos a continuación. Por ejemplo, el trabajo realizado por **Uriol D. y Espinoza M. (2021)**, el cual logró determinar la actividad antibacteriana de *Physalis peruviana L.* y de las hojas de *Eucalyptus globulus Labill* frente a *S. aureus*, mediante la técnica de Kirby Bauer, para lo cual se emplearon concentraciones del 40%, 70% y 100% de *Physalis peruviana L.* y *Eucalyptus globulus Labill* frente a esta bacteria resistente a oxacilina. Los resultados mostraron que el extracto de aguaymanto no presenta actividad similar al grupo control(vancomicina), el extracto de eucalipto (100%) mostró halos de inhibición de 16.00mm similar al producido por la vancomicina de 16.30mm. Por lo tanto, el estudio concluye que el extracto hidroalcohólico de “eucalipto” al 100% presenta similar actividad antibacteriana que la vancomicina⁷.

Por otro lado, **Montero M., et al. (2019)**, estudiaron la actividad antibacteriana del extracto metanólico de eucalipto (*Eucalyptus spp*) en cepas de *E. coli* y *Staphylococcus aureus* mediante un estudio in vitro, para lo cual prepararon el extracto por medio de maceración a las concentraciones del 30%, 60% y 90%, la determinación de la actividad antibacteriana se realizó mediante el método de difusión en disco, observando en los resultados halo de inhibición de 10.95mm, 13.65mm y 14.45mm para las concentraciones del 30%,60% y 90% respectivamente sobre *Staphylococcus aureus* y halos de inhibición de 10.25mm, 10.65mm y 10.95mm sobre *Escherichia coli* a las mismas concentraciones. El estudio confirmó que el extracto metanólico de eucalipto (*Eucalyptus spp*) presenta efectividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, pero esta es superior ante *Staphylococcus aureus*⁸.

Así mismo, **Amaya D. (2018)**, mediante su estudio comparó el efecto antimicrobiano que presenta el aceite de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y la oxacilina, en cepas de *Staphylococcus aureus*. El estudio evaluó el aceite de eucalipto obtenido mediante arrastre con vapor a las y preparado al 25.0%, 50.0%, 75.0% y 100.0% mediante el método de difusión en disco. Los resultados observados muestran diámetros de inhibición de 17.3mm para el aceite de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) al 100%, sin embargo, la oxacilina presentó halo de inhibición de 35.4mm. El estudio concluye con la confirmación que el aceite esencial de *E. globulus* (eucalipto) tiene menor actividad antimicrobiana que la oxacilina⁹.

Laura J. (2019), en su investigación evaluaron el efecto antimicrobiano de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) y muña (*Mintostachys mollis*) en su forma de aceite frente a *S. aureus* y *C. fecales*. El aceite se obtuvo mediante destilación por arrastre con vapor y la acción antimicrobiana se demostró por medio del método de Kirby Bauer. Los resultados encontrados mostraron halos de inhibición de 9.79mm, 10.74mm y 13.27mm para las concentraciones de 25%, 50% y 75% respectivamente para el aceite de muña frente a *C. fecales*, halos de inhibición de 9.96mm, 10.74mm y 13.15mm a los porcentajes de 25.0%, 50.0% y 75.0% respectivamente frente a *Staphylococcus aureus*, por su parte el aceite de *E. globulus* Labill mostro halos de 12.09mm, 13.29mm y 14.58mm con *Coliformes fecales* y halos de inhibición de 11.72mm, 13.56mm y 14.37mm frente a *Staphylococcus aureus* en ambos casos a las porcentajes de 25%, 50% y 75% respectivamente. El estudio confirma efecto antimicrobiano de ambos aceites esenciales, siendo superior frente a ambas bacterias el aceite de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill)¹⁰.

A nivel internacional, podemos citar el estudio de **Belén M., Serra M. y Andreatta A. (2020)**, quienes evaluaron el poder antimicrobiano de los extractos etanólicos de eucalipto entre otras plantas contra *Lactobacillus plantarum*, *E. coli* y *L. mesenteroides*, la metodología empleada fue experimental in vitro, los extractos se obtuvieron por medio de maceración con etanol y la acción antibacteriana por medio de Kirby Bauer. Como resultados se encontró un promedio de halo de inhibición de 12.17mm para el extracto etanólico de eucalipto, los otros extractos mostraron actividad antibacteriana similar. Se concluye que el extracto de eucalipto junto con laurel y berro tiene actividad bactericida superior¹¹.

Asimismo, **Da Silva S., Pereira B. y Couti A. (2019)**, mediante su estudio evaluaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *E. globulus* y *A. sativum* frente a *E. coli* y *S. aureus*, los extractos de ambas plantas se obtuvieron por maceración en frío y se aplicó la técnica de microdilución para demostrar la actividad antibacteriana. Los resultados mostraron luego del estudio que tanto *E. globulus* como *A. sativum* presentan actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, sin embargo, no son efectivos contra *Escherichia coli*, planteando los primeros como alternativas de principios activos en las formulaciones farmacéuticas¹².

Argote F., Suarez Z., Tobar M., Perez J., Hurtado A. y Delgado J. (2017), por su parte evaluaron la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos de eucalipto, limón y mandarina frente a *S. aureus* y *E. coli*, la metodología empleada en la investigación consistió en la maceración para la preparación de los extractos metanólicos de eucalipto, limón y mandarina y para demostrar la actividad antibacteriana se empleó la determinación de la CMI (concentración mínima inhibitoria) y CMB (concentración máxima bactericida), mediante la técnica de microdilución. Como resultados más eficaces contra *Staphylococcus aureus* se encontró al extracto metanólico de eucalipto con una CMI y CMB de 6,8 µL/mL y para *E. coli* una CMI y CMB de 13,2 µL/mL.¹³.

Por último, **Chavez T, et. al. (2018)** en su estudio “El aceite esencial de *Eucalyptus camaldulensis* Dehn potencia la actividad β-lactámica contra las cepas resistentes a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*”, con la finalidad de evaluar los componentes químicos del aceite de *Eucalyptus camaldulensis* Dehn como potencial agente antimicrobiano sobre *Staphylococcus aureus* productores de β-lactamasa y resistentes a la meticilina. El aceite fue obtenido por hidrodestilación y el perfil químico fue determinado mediante cromatografía de gases con detector de masas, donde se observó la presencia de cinco compuestos con 1,8 cineol (76,93%), β-pineno (11,49%) y α-pineno (7,15%) como sus principales constituyentes, con respecto a la prueba microbiológica el aceite presentó efecto antimicrobiano frente a cepas *S. aureus* y MRSA (MIC = 1000 µg mL⁻¹)¹⁴.

En relación al marco teórico definiremos los siguientes conceptos: El método maceración, según la farmacopea “es un método oficinal, que se utiliza según las características de las drogas”. Es uno de los procedimientos de mayor uso donde la muestra vegetal está en contacto con el

solvente extractor. La muestra seleccionada será previamente lavada y desinfectada, luego se secará en la estufa para eliminar cualquier resto de agua y se llevará a trituración para colocarla en un frasco ámbar con el solvente elegido¹⁷.

Con respecto al eucalipto, la madera se utiliza para carpintería, construcción, cercas, pilotes, plataformas, madera contrachapada, postes, cobertizos y estaciones, mangos de herramientas, chapa, etc. El aceite esencial, ampliamente utilizado en gotas para la tos, es antiséptico, rubefaciente y estimulante. El híbrido de eucalipto 'Mysore' es una fuente prometedora de pinenos, que se utilizan en alcanfor sintético, aceite de pino, disolventes y desodorantes baratos. Las hojas tienen una actividad antibiótica probada¹⁸.

El eucalipto presenta propiedades medicinales como antipirético, antiflogístico, antiséptico, astringente, desodorante, diaforético, expectorante, febrífugo, hemostático, inhalante, repelente de insectos, rubefaciente, sedante pero estimulante, supurativo y vermífugo, el eucalipto bluegum es un remedio popular para el absceso, la artritis, el asma, los forúnculos, la bronquitis, las quemaduras, el cáncer, el catarro, el resfriado, la tos, la diabetes, la difteria, la disentería, la dispepsia, la fiebre, la gripe, la gripe, la inflamación, la laringitis, la lepra, malaria, miasma, rinitis, llagas, dolor, espasmos, tuberculosis, tumores, vaginitis, heridas¹⁹.

Las hojas contienen 70-80% de eucaliptol (cineol). También incluye terpineol, alcoholes sesquiterpénicos, aldehídos alifáticos, alcohol isoamílico, etanol y terpenos. El tanino no es tan copioso en las hojas como el de muchas otras especies de *eucaliptos*. El kino, que contiene 28,7% de kino-tanino y 47,9% de catequina contiene el mismo antibiótico citriodorol. Se encontró un 20,2% de a-pineno, 25,2% de b-pineno y sólo 16,8% de cineol. Las hojas frescas contienen ácido cafeico y gálico, hojas secas, ferúlicas, quercetol, quercitrina, rutina y una mezcla de hiperósido de quercetol y glaucósido. N-titriacontan-16, 18-dione fue identificado como el compuesto responsable de la actividad antioxidante en la cera de la hoja¹⁹.

Ante lo mencionado nos planteamos el siguiente problema de estudio:

¿Cuál será la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*?

Así mismo, se formula los problemas específicos siguientes:

¿Cuál será la actividad antibacteriana del del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) al 100% sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*?

¿Cuál será la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) al 50% sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*?

¿Cuál será la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) comparada con ciprofloxacino sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*?

Los problemas de las infecciones bacterianas y la resistencia que esto produce al tratamiento con los antibióticos, ocasionan incremento en el costo de los medicamentos, mayores tasas de infecciones y muertes por contagio, incremento de los días de hospitalización con mayor costo al presupuesto del sector salud.

Por otro lado, *Eucalyptus globulus* conocido comúnmente como eucalipto es una planta con muchos beneficios para la salud de las personas, a la cual se les ha atribuido numerosas propiedades incluso para el tratamiento del COVID-19, sin embargo, los estudios *in vitro* para el tratamiento de infecciones específicas aún siguen en estudio; por tal razón, la presente investigación pretende ahondar en los beneficios medicinales que presenta esta planta mediante un estudio experimental *in vitro* que permite obtener información actualizada y que ayude a la comunidad científica como fuente de información y punto de partida para nuevas investigación, así mismo, servir de tratamiento alternativo a ciertas enfermedades y emplearse como principio activo para la preparación de fórmulas farmacéuticas eficaces.

Por tal motivo, se plantea el siguiente objetivo del estudio:

Determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*.

Así mismo, se formula los objetivos específicos siguientes:

Determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) al 100% sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*.

Determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) al 50% sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*.

Determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) comparada con ciprofloxacino sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*.

Así mismo, la hipótesis que plantea el estudio de manera general es: el extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) presentan efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*.

Las hipótesis específicas del estudio se formularon de la siguiente manera:

El extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) al 100% presenta actividad antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*.

El extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) al 50% presenta actividad antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*.

El extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) presentan mayor actividad antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro* comparados con ciprofloxacino.

II. MÉTODO

2.1. Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo de investigación

Se relaciona con el modelo cuantitativo, de corte transversal y prospectivo.

2.1.2. Diseño de investigación

Es experimental in vitro con grupos control negativo y positivo, sigue el siguiente esquema de diseño:

G1	X1	O1
G2	X2	O2
G3	+	O3
G4	-	O4

G1, G2 y G3: Cultivos en placa de *S. aureus* ATCC 25923

X1: Tratamiento 1: Extracto metanólico de *Eucalyptus globulus*

X2: Tratamiento 2: Extracto etanólico de *Eucalyptus globulus*

O1, O2 y O3: Respuesta o efecto.

- / + Grupos control (negativo y positivo)

2.2. Operacionalización de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i>	Solución acuosa obtenida del proceso de maceración con el solvente metanol y etanol	Concentración	100%	Porcentaje
			50%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Efecto antibacteriano	Disminución en el crecimiento normal de las bacterias	Halo de inhibición	Diámetro	mm

2.3. Población, muestra y muestreo

2.3.1. Población

La población de estudio está conformada por *Eucalyptus globulus* obtenida de la zona del distrito y provincia de Ferreñafe, departamento de Lambayeque.

2.3.2. Muestra : Se tomó una muestra correspondiente a 4 kg de hojas de *Eucalyptus globulus*.

Criterios de inclusión

- Hojas frescas y obtenidas del árbol directamente.
- Especie vegetal identificada

Criterios de exclusión

- Especie vegetal contaminada o con plaga
- Especie vegetal diferente a la estudiada.

2.3.3. Muestreo

Corresponde al tipo no probabilístico por conveniencia.

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

2.4.1. Técnicas

MACERACIÓN: Proceso físico mediante el cual el solvente entra en contacto con la muestra y extrae los principios activos contenidos en ella.

DIFUSIÓN EN POZO: Técnica modificada del método de Kirby Bauer que permite agregar mayor cantidad de la muestra y observar su actividad antibacteriana por medio de la formación de un halo de inhibición.

2.4.2. Instrumentos de recolección de datos

Ficha de registro: Ficha donde se registran de manera ordenada los resultados del estudio.

Vernier digital: Equipo digital que se emplea para medir el tamaño de los halos de inhibición.

2.5. Procedimiento

Preparación de los extractos

Se pesaron 1,5 Kg. de las hojas frescas las que fueron lavadas con abundante agua, luego fueron desinfectadas en una tina con lejía al 0,5% por 5 minutos, luego nuevamente se lavó con abundante agua, se dejó escurrir el agua y fueron colocadas sobre papel Kraft en una mesa para su secado a temperatura ambiente (24°C-27°C) por 48 horas para posteriormente ser colocadas en una estufa para su secado completo y deshidratación por 6 horas a temperatura de 40°C, transcurrido este tiempo se trozaron manualmente y colocaron en el molino de cuchillas y procedió a su pulverizado completo, el polvo obtenido fue tamizado con una malla de 1mm. El pulverizado obtenido se separó en dos porciones de 700 gr y colocaron en dos frascos ámbar de 4 litros para luego agregarles 1300 ml de etanol y metanol respectivamente, se dejó macerar por 7 días con agitación cada 12 horas por 5 minutos.

Luego se llevó a filtrado con papel de filtro Whatman N° 01 y luego el filtrado fue colocado en la estufa para su completa evaporación, hasta obtener el extracto seco.

Reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus*:

Staphylococcus aureus ATCC 25923 se activó con el apoyo de un profesional Biólogo y siguiendo los procedimientos de la empresa comercializadora de la cepa, para lo cual el liofilizado reconstituido se aplicó en placas con agar Braid Parker hisopando toda la superficie de la placa, se llevó a incubación por 24 horas y se confirmó el crecimiento de colonias negras, se tomaron dos colonias con un hisopo y se disolvió en solución salina fisiológica en un tubo de ensayo, y realizaron diluciones sucesivas hasta lograr alcanzar la concentración bacteriana similar al 0,5 en la escala de Mc Farland.

Sembrado en placa de cepa de *Staphylococcus aureus*:

De este último tubo se realizó un sembrado en estrías en placas Petri con agar Miuller Hinton, luego se preparan 2 pocitos en placas para los grupos de tratamiento con extracto metanólico y etanólico, al 100% y 50%, y los grupos control metanol y etanol; se aplicará 30uL de cada extracto y grupos control en los pocitos respectivamente y se llevará a una incubadora por 24 horas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ para luego visualizar el tamaño de los halos formados en cada placa.

Evaluación del efecto antibacteriano del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus*²⁴

Se retirará las placas y visualizará a tras luz la formación de halo de inhibición registrando en la ficha de recolección de datos en milímetros el diámetro del halo de inhibición.

2.6. Método de Análisis de datos

Los datos recolectados se analizaron mediante el empleo de la hoja de cálculo Excel y el programa estadístico SPSS v. 26, para lo cual se obtuvieron tablas estadísticas y pruebas inferenciales paramétricas como las de ANOVA y TUKEY con un nivel de confianza del 95%²⁵.

2.7. Aspectos éticos

- El criterio ético que se consideró en todo el proceso del estudio estuvo ligado al cuidado del medio ambiente, las buenas prácticas en el laboratorio y manejo de material biocontaminado, para evitar cualquier riesgo innecesario en el personal investigación, en tal sentido, se valió de Protocolos, guías y manuales en el manejo de material biocontaminado y desechos de material Biológico.^{26,27}

III. RESULTADOS

Tabla 1. Estadística descriptiva de los halos de inhibición para los grupos experimentales y control

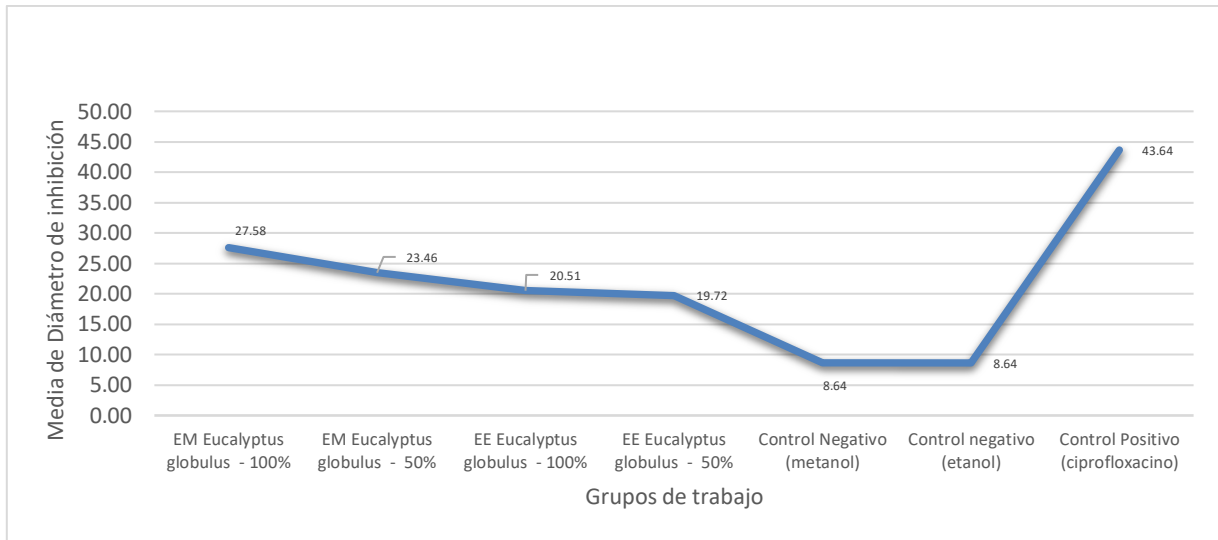
Diámetro del halo de inhibición (mm)

	N	Media	Desviación Estándar	Error Estándar	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
EM <i>Eucalyptus globulus</i> - 100%	15	27,58	0,30	0,08	27,42	27,75	27,10	28,37
EM <i>Eucalyptus globulus</i> - 50%	15	23,46	0,53	0,14	23,17	23,76	22,45	24,12
EE <i>Eucalyptus globulus</i> - 100%	15	20,51	0,42	0,11	20,27	20,74	19,75	21,54
EE <i>Eucalyptus globulus</i> - 50%	15	19,72	0,39	0,10	19,51	19,94	19,14	20,67
Control Negativo (metanol)	15	8,64	0,46	0,12	8,39	8,90	7,53	9,29
Control negativo (etanol)	15	8,64	0,34	0,06	8,51	8,77	8,29	9,15
Control Positivo (ciprofloxacino)	15	43,64	0,48	0,12	43,38	43,91	42,75	44,52

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 1, muestra la estadística descriptiva obtenida en función al tamaño de los halos de inhibición obtenidos para cada grupo experimental y control, se detallan los parámetros de Media, desviación estándar, error estándar, intervalos de confianza y valores máximo y mínimo obtenidos durante la recolección de los datos. El diámetro de inhibición promedio para el extracto metanólico de *Eucalyptus globulus* al 100% y 50% fue de $27,58 \pm 0,30$ mm y halo de $23,46 \pm 0,53$ mm; el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 100% y 50% fue de $20,51 \pm 0,42$ mm y $19,72 \pm 0,39$ mm, con respecto a los grupos control, para el negativo de metanol fue de $8,64 \pm 0,46$ mm, de etanol fue de $8,64 \pm 0,34$ mm y para el control positivo fue de $43,64 \pm 0,48$ mm.

Figura 1. Comportamiento según medias de los grupos experimentales y control



Fuente: SPSS ver. 26

La figura 1, muestra el comportamiento de los tamaños de los halos de inhibición obtenidos según grupo experimental, se observa una diferencia significativa en cuanto a los grupos control negativo, etanol y metanol con los respectivos grupos experimentales, así mismo, se observa un tamaño superior del grupo control positivo, por lo que se deduciría que los grupos experimentales muestran una efectividad menor al grupo control positivo.

Contrastación de la hipótesis:

H1: El extracto etanólico y metanólico de *Eucalyptus globulus* L. tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*.

H0: El extracto etanólico y metanólico de *Eucalyptus globulus* L. no tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*.

Análisis de datos

Tabla 2. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos

Grupos de trabajo	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición (mm)						
EM Eucalyptus globulus - 100%	0,185	15	0,179	0,919	15	0,184
EM Eucalyptus globulus - 50%	0,209	15	0,076	0,921	15	0,202
EE Eucalyptus globulus - 100%	0,194	15	0,133	0,902	15	0,104
EE Eucalyptus globulus - 50%	0,191	15	0,145	0,920	15	0,189
Control Negativo (metanol)	0,119	15	,200*	0,946	15	0,468
Control negativo (etanol)	0,177	15	,200*	0,951	15	0,534
Control Positivo (ciprofloxacino)	0,089	15	,200*	0,988	15	0,998

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 2, muestra el análisis realizado por dos pruebas de normalidad la de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, se verifica en todos los datos distribución normal en ambas pruebas al comparar los valores de significancia con el valor alfa de 0,05 por lo que se concluye que los datos recolectados en todos los grupos corresponden a una distribución normal.

Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

		Levene			
		Statistic	df1	df2	p-valor
Diámetro del halo	Se basa en la media	2,050	6	98	0,066
	Se basa en la mediana	1,726	6	98	0,123
de inhibición	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,726	6	88,006	0,124
	Se basa en la media recortada	1,970	6	98	0,077

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 3, se observa el análisis realizado por la prueba de Levene o de homogeneidad de varianzas, tal prueba busca determinar si las varianzas de todos los grupos de datos se corresponden entre sí, luego del análisis realizado se concluye que los grupos analizados presentan varianzas homogéneas.

Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	12986,196	6	2164,366	12653,295	0,000
Dentro de los grupos	16,763	98	0,171		
Total	13002,959	104			

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 4, muestra el análisis de los datos realizado mediante la prueba de ANOVA o el análisis de las varianzas, tal prueba permite determinar si los grupos de datos analizados presentan diferencias estadísticamente significativas al comparar sus medias; en tal sentido, luego del análisis realizado se obtuvo un valor $p=0,00$; por lo tanto, se confirma que los grupos de datos presentan al menos un grupo con diferencia estadísticamente significativa en su media comparada con los demás grupos.

Tabla 5. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

Diámetro del halo de inhibición (mm)

Tukey HSD^a

Grupos de trabajo	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Control negativo (etanol)	15	8,63					
Control Negativo (metanol)	15	8,64					
EE Eucalyptus globulus - 50%	15		19,72				
EE Eucalyptus globulus - 100%	15			20,50			
EM Eucalyptus globulus - 50%	15				23,46		
EM Eucalyptus globulus - 100%	15					27,58	
Control Positivo (ciprofloxacino)	15						43,64

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 5, se puede apreciar de manera precisa la comparación entre los grupos experimentales y control en función del diámetro promedio del halo de inhibición, el análisis nos muestra diferencias significativas en sus medias, excepto entre los grupos control negativo; así mismo, se observa al comparar los grupos experimentales con el control positivo de ciprofloxacino que no presenta similar efecto antibacteriano.

Decisión: Con un nivel de confianza del 95%, se afirma que no existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis alterna, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alterna que confirma que el extracto etanólico y metanólico de *Eucalyptus globulus* tiene efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*.

Tabla 6. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula	Sensible	Muy sensible	Sumamente sensible
	≤ 8 mm	8–14 mm	15-20 mm	> 20 mm
Ext. etanólico de Eucalyptus globulus (100%)				20,50
Ext. etanólico de Eucalyptus globulus (50%)			19,72	
Ext. metanólico de Eucalyptus globulus (100%)				27,58
Ext. metanólico de Eucalyptus globulus (50%)				23,46
Control negativo (metanol)		8,63		
Control negativo (etanol)		8,64		
Control positivo (ciprofloxacino)				43,64

La tabla 6, muestra la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* al tratamiento con los grupos experimentales y control, se observa que tiene sensibilidad al tratamiento con los grupos control negativo (metanol y etanol), es muy sensible al extracto etanólico al 50% y es sumamente sensible al resto de los extractos etanólico 100% y metanólico al 100% y 50%, incluyendo el grupo control positivo de ciprofloxacino.

IV. DISCUSIÓN

El estudio se basó en la determinación de la actividad antibacteriana de dos tipos de extractos de *Eucalyptus globulus*, obtenidos por medio de maceración con dos solventes distintos, etanol y metanol preparados a las concentraciones del 50% y 100% para lo cual se aplicó la técnica microbiológica de difusión en pozo, además se empleó grupos control tanto negativos como positivos, este último nos sirvió para comparar el poder de los extractos al compararlos contra ciprofloxacino. Los resultados encontrados en el estudio se discuten a continuación.

Con respecto al tamaño de los halos de inhibición obtenidos por cada grupo de tratamiento y control, tenemos que el grupo del extracto metanólico de *Eucalyptus globulus* al 100% y 50% fue de $27,58 \pm 0,30\text{mm}$ y halo de $23,46 \pm 0,53\text{mm}$; el extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* al 100% y 50% por su parte obtuvo halos de inhibición de $20,51 \pm 0,42\text{mm}$ y $19,72 \pm 0,39\text{mm}$, con respecto a los grupos control, para el control negativo de metanol obtuvo un halo de inhibición de $8,64 \pm 0,46\text{mm}$, de control negativo de etanol fue de $8,64 \pm 0,34\text{mm}$ y para el control positivo constituido por el ciprofloxacino fue de $43,64 \pm 0,48\text{mm}$. Estos resultados obtenidos se compararon con los obtenidos por otros autores en sus investigaciones como los que mencionaremos a continuación.

Con respecto a la actividad antibacteriana del extracto de las hojas de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Staphylococcus aureus*, **Uriol D. y Espinoza M. (2021)** en su investigación pudo determinar empleando el método de Kirby Bauer la formación de halos de inhibición de 16,00mm de diámetro, similares a los producidos por vancomicina de 16,30mm, demostrando al igual que nuestra investigación actividad antibacteriana de los extractos de *Eucalyptus globulus* Labill frente a *Staphylococcus aureus* pero con halos de inhibición de menor tamaño debido a la técnica empleada.

Del mismo modo, **Montero M., et al. (2019)**, estudió el poder antibacteriano del extracto etanólico de eucalipto (*Eucalyptus spp*) frente a cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, utilizando concentraciones del 30%, 60% y 90%, obtuvo halos de inhibición de 10.95mm, 13.65mm y 14.45mm para las concentraciones del 30%, 60% y 90% respectivamente sobre *Staphylococcus aureus*; sin embargo los resultados se muestran menores a los encontrados en nuestro estudio, explicación que estaría orientada a la técnica empleada. Así mismo, **Belén**

M., Serra M. y Andreatta A. (2020), al evaluar la actividad de los extractos etanólicos de *Eucalyptus globulus* frente a *Lactobacillus plantarum*, *E. coli* y *L. mesenteroides* obtuvieron como diámetros de halo de inhibición promedio frente a estos microorganismos 12.17mm.

El estudio del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* también ha evidenciado poseer actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* como lo demuestra **Amaya D. (2018)**, mediante su investigación en la cual obtuvo el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus*, aplicando el método de difusión en disco, determinó halos de inhibición promedio de 17,3mm para el aceite al 100%, siendo este resultado inferior al obtenido en nuestro estudio. Un estudio similar fue realizado por **Laura J. (2019)**, pero evidenciando halos de inhibición menor para los aceites obtenidos por arrastre con vapor a las concentraciones del 25%, 50% y 75% con la misma técnica con halo de 11.72mm, 13.56mm y 14.37mm respectivamente.

Así mismo, el análisis estadístico nos permitió determinar la diferencia estadísticamente significativa entre los grupos control y de tratamiento en relación a los halos de inhibición, mediante la aplicación de estadística descriptiva e inferencial utilizando el programa estadístico SPSS versión 26 y aplicando para la hipótesis de contrastación la prueba ANOVA y Tukey, además nos permitió determinar que los grupos de datos obtenidos corresponde a una distribución normal mediante la prueba de Shapiro Wilk y presentan varianzas homogéneas mediante la prueba de Levene. De tal manera, que del análisis realizado se concluye que ambos tipos de extractos, tanto metanólico como etanólico presentan actividad antibacteriana, siendo mayor la del extracto metanólico, así mismo, ambos extractos presentan menor actividad antibacteriana que el ciprofloxacino.

Por otro lado, la sensibilidad de *Staphylococcus aureus*, fue evaluada mediante la escala de Duraffourd observando que esta bacteria es sensible al etanol y metanol; así mismo, es muy sensible al extracto Ext. etanólico de *Eucalyptus globulus* (50%) y es sumamente sensible al Ext. etanólico de *Eucalyptus globulus* (100%); Ext. metanólicos de *Eucalyptus globulus* (100% y 50%) y ciprofloxacino.

V. CONCLUSIONES

1. Mediante el método de Kirby Bauer, se determinó la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923.
2. Mediante la escala de Duraffourd (tabla 6), se determinó la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) al 100% respectivamente sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, siendo esta Sumamente sensible.
3. Mediante la escala de Duraffourd (tabla 6), se determinó la actividad antibacteriana del Ext. etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) al 50% respectivamente sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, siendo esta muy sensible; y el Ext. metanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) al 50% respectivamente sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, siendo esta sumamente sensible.
4. La actividad antibacteriana de los extractos metanólico y etanólico de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) al compararse con ciprofloxacino sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, *in vitro*, resultó ser menor.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda a las instituciones educativas fomentar la investigación y realizar estudios sobre diferentes partes de la planta *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) y obtener extractos empleando diferentes solventes para lograr un mayor efecto antibacteriano.
- Así mismo, es preciso fomentar en la población el uso de la medicina natural a partir de plantas medicinales que ayuden a disminuir los problemas de resistencia bacteriana y mejoren las condiciones de salud de las personas.
- Se hace un llamado a las instituciones educativas a realizar estudios de mayor impacto sobre los metabolitos que actuarían como agentes antimicrobianos en los extractos de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) con la finalidad de aislarlos y potenciar su efecto.
- Así mismo, a las instituciones de salud se recomienda implementar programas de medicina natural para el tratamiento de enfermedades con ayuda de plantas medicinales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Serra M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Rev Habanera Ciencias Médicas* [Internet]. 2017 [citado 21 de noviembre de 2021];16(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011
2. OMS y PAO. Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS - OPS [Internet]. Organización Panamericana de la Salud. 2021. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms>
3. Martínez R., Montalvo F., Magaña M. TY y PJ. Prevalencia y caracterización genotípica de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina aisladas en un hospital regional mexicano. *Rev Chil Infectol* [Internet]. 2020;37(1):37-44. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182020000100037
4. Hernández R., Bustamante L., Lesport L. NN y MI. Prevalencia y perfil de susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente de fenotipo comunitario en jóvenes deportistas. *Rev Mex Pediatr* [Internet]. 2019;86(1):13-7. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0035-00522019000100013&script=sci_arttext
5. Domínguez N., Palomino S. PL y VR. Prevalencia De *Staphylococcus Aureus* Meticilino Resistente (Sarm) En Mucosa Nasal De Estudiantes De Medicina. *Rev la Fac Med Humana*. 2016;16(1):20-3.
6. Aguilar F, Niño J, Moreno M. Portadores nasofaríngeos de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* en personal de salud del hospital Provincial Docente Belén de Lambayeque. *Rev Exp en Med* [Internet]. 2015;1(2):46-50. Disponible en: <http://rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/17/15>
7. Uriol D. y Espinoza M. Actividad antimicrobiana in vitro de los extractos hidroalcohólicos de frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) y de hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) frente a *Staphylococcus aureus*. *ArnaldoA* [Internet]. 2019;28(1):115-24. Disponible en: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/5849>
8. Montero M, Morocho M, Avilés D, Carrasco A, Ramiro E. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus* spp) sobre cepas de *E. coli* y *Staphylococcus aureus*. *Rev Investig Vet del Peru*. 2019;30(2):932-8.
9. Amaya D. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina [Internet]. Universidad César Vallejo. 2018. Disponible en: <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/10053/1/T-UCSG-PRE-MED-ENF-413.pdf>
10. Laura J. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales de

eucalipto (*Eucalyptus globulus*), muña (*Mintostachys mollis*) frente a *Staphylococcus aureus* y Coliformes fecales [Internet]. Universidad Peruana Unión; 2019. Disponible en: <http://repositorio.upeu.edu.pe/handle/UPEU/2671>

11. Belén M. SM y AA. Actividad Antimicrobiana de Diversos Aceites Esenciales en Bacterias Benéficas , Patógenas y Alterantes de Alimentos. *Rev Tecnol y Cienc.* 2020;92:92-100.
12. Da Silva S. PB y CA. Estudio y evaluación de la acción antibacteriana de *Eucalyptus globulus* L. y *Allium sativum* L. sobre bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. *Rev Investig Cient* [Internet]. 2019;1(2):19. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/ESTUDO-E-AVALIAÇÃO-DA-AÇÃO-ANTIBACTERIANA-DE-L.-E-E-Gomes-Bittencourt/6439135b47b810538948d528184f38a851b34f42>
13. Argote F., Suarez Z., Tobar M., Perez J. HA y DJ. Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Biotechnol en el Sect Agropecu y agroindustrial.* 2017;2(2):52-60.
14. Chaves T, Pinheiro R, Melo E, Soares M, Souza J, Andrade T, et al. Essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn potentiates β -lactam activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* resistant strains. *Ind Crops Prod* [Internet]. 1 de febrero de 2018;112:70-4. Disponible en: https://www.mendeley.com/catalogue/97a0cdb5-b1b2-39a3-8313-b7fc3f02276e/?utm_source=desktop&utm_medium=1.19.8&utm_campaign=open_catalog&userDocumentId=%7Bfac6b1bf-3a53-3dc0-93ad-5def46490068%7D
15. Farmacopea Britanica. Extractos. En: *British Pharmacopoeia Vol III* [Internet]. 2017. Disponible en: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/extractos/>
16. Kuklinski C. Farmacognosia: «Estudios de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural» [Internet]. Barcelona - España: Ediciones Omega S.A.; 2010. 400 p. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/280112637/100352432-Farmacognosia-C-Kuklinski-pdf>
17. Cedeño A., Moreira C., Muñoz J., Muñoz A. PS y RM. Comparacion de métodos de destilacion para la obtencion de aceite esencial de eucalipto. *Rev Colón Ciencias, Tecnol y Negocios* [Internet]. 2019;6(1):10. Disponible en: <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/215/2151021002/2151021002.pdf>
18. Carretero M. y Ortega T. Eucalipto en afecciones respiratorias. Universidad Complutense de Madrid. 2018;7.
19. CENSI. CENSI del INS habla sobre las propiedades del “eucalipto”. [Internet]. Instituto Nacional De Salud. 2019 [citado 21 de julio de 2021]. Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/es/prensa/noticia/censi-del-ins-habla-sobre-las-propiedades-del-eucalipto-durante-segunda>
20. Coyle M, Cavalieri SJ, Rankin ID, Harbeck RJ, Sautter RL. Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana [Internet]. 2016. 248 p. Disponible en:

<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>

21. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del Staphylococcus aureus [Internet]. Vol. 61, Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2014 [citado 15 de octubre de 2020]. Disponible en: www.medigraphic.com/patologiaclinicawww.medigraphic.org.mx
22. Murray P., Rosenthal K y PFM. Microbiología médica [Internet]. Google Libros. 2017 [citado 19 de julio de 2021]. Disponible en: https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=GOaVDgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&q=medios+de+cultivo+microbiológico&ots=hRiSHMJWol&sig=Q_hlut3UZJnoJKJ_NQR4FNIVcU4#v=onepage&q=medios+de+cultivo+microbiológico&f=false
23. Lopez P. Poblacion, muestra y muestreo. Punto cero [Internet]. 2016;09(08). Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1815-02762004000100012
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition [Internet]. CLSI. 2020. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
25. Díaz V. Metodología de la Investigación Científica y Bioestadística [Internet]. 2da ed. RIL®, editor. Chile: Universidad Finis Terrae; 2010. 564 p. Disponible en: <https://www.digitaliapublishing.com/a/29778/metodologia-de-la-investigacion-cientifica-y-bioestadistica--2a-ed.->
26. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A, Cisneros R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Raton [Internet]. Instituto nacional de salud. 2008. 1-54 p. Disponible en: www.ins.gob.pe/insvirtual/images/.../GUIA_ANIMALES_RATON.pdf
27. Jayo M, Cisneros F. Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio Contenido. Inst Lab Anim Resour [Internet]. 1999; Disponible en: <http://www.uss.cl/wp-content/uploads/2014/12/Guía-para-el-Cuidado-y-Uso-de-los-Animales-de-Laboratorio.pdf>

ANEXOS

Anexo 1: Instrumento de recolección de datos

Placa	Control			Extracto metanólico de <i>Eucalyptus globulus</i>		Extracto etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i>	
	negativo Metanol (mm)	positivo (mm)	negativo Etanol (mm)	100% (mm)	50% (mm)	100% (mm)	50% (mm)
1	8,48	43,82	8,54	27,58	23,49	20,58	19,56
2	9,12	43,34	9,15	28,37	23,99	21,18	19,50
3	8,78	44,52	8,53	27,49	23,82	20,76	19,69
4	8,90	44,30	8,38	27,24	23,57	20,38	19,17
5	9,03	43,28	8,66	27,10	22,45	20,62	20,67
6	9,29	43,85	8,85	27,85	24,12	20,30	19,87
7	8,85	42,98	8,83	27,53	22,77	20,53	19,14
8	8,23	43,37	8,47	27,87	23,81	21,54	19,77
9	8,32	43,61	8,87	27,28	23,26	20,31	19,49
10	7,53	42,75	8,77	27,45	22,96	20,50	19,65
11	9,14	44,17	8,50	27,60	23,84	20,26	20,18
12	8,38	43,50	8,81	27,67	24,06	19,75	19,67
13	8,61	43,67	8,29	27,49	23,87	20,19	19,70
14	8,23	43,59	8,36	27,57	22,86	20,28	19,61
15	8,72	43,91	8,55	27,64	23,10	20,42	20,19

Anexo 2: Operacionalización de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i>	Sustancia concentrada obtenida de una planta obtenida por maceración u otra técnica con la ayuda de un solvente orgánico.	Concentración	100%	Porcentaje
			50%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Efecto antibacteriano	Acción o actividad de una sustancia que impide o evita el crecimiento de una bacteria	Halo de inhibición	Diámetro	mm

Anexo 3: Formato de matriz de consistencia

Autor (es): Bach. SÁNCHEZ PAISIG, María Dialenis ; Bach. CARHUAPOMA COLLANTES, Billy Eli
Tema: ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO Y ETANÓLICO DE <i>Eucalyptus globulus</i> L. (EUCALIPTO) SOBRE CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, IN VITRO

Problema general	Objetivo general	Hipótesis general	Variables y dimensiones	Metodología
¿Cuál será la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) sobre cepas de <i>Staphylococcus</i>	Determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i>	El extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) presentan efecto antibacteriano sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i> .	Variables: X1: <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) Dimensiones Concentración	Alcance de la investigación: Aplicativa Método de la investigación:

<p><i>aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i>?</p> <p><u>Problemas Específicos</u></p> <p>¿Cuál será la actividad antibacteriana del del extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) al 100% sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i>?, ¿Cuál será la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) al 50% sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i>? y ¿Cuál será la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) comparada con ciprofloxacino sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i>?</p>	<p><u>Objetivos Específicos</u></p> <p>Determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) al 100% sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i>.</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) al 50% sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i>.</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) comparada con ciprofloxacino sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i>.</p>	<p><u>Hipótesis Específicas</u></p> <p>El extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) al 100% presenta actividad antibacteriana sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i>.</p> <p>El extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) al 50% presenta actividad antibacteriana sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i>.</p> <p>El extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i> (Eucalipto) presentan mayor actividad antibacteriana sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC N° 25923, <i>in vitro</i> comparados con ciprofloxacino.</p>	<p>Y1: Efecto antibacteriano</p> <p>Dimensiones: Halo de inhibición</p>	<p>Transversal, prospectivo</p> <p>Diseño de la investigación: Experimental</p> <p>Población: <i>Eucalyptus globulus</i></p> <p>Muestra: Extracto metanólico y etanólico de <i>Eucalyptus globulus</i></p> <p>Técnicas de recopilación de información: Cuaderno de registro Base de datos Vernier digital</p> <p>Ficha de recolección de datos</p> <p>Técnicas de procesamiento de información: ANOVA Tukey</p>
--	--	--	---	---

Anexo 4: Validación de los instrumentos de los expertos

FORMATO: B

**FICHAS DE VALIDACIÓN DEL INFORME DE OPINIÓN POR
JUICIO DE EXPERTO**

I. DATOS GENERALES

1.1. Título de la Investigación : ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO Y ETANÓLICO DE *Eucalyptus globulus* L. (EUCALIPTO) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, IN VITRO.

1.2. Nombre del instrumento : CUESTIONARIO DEL NIVEL DE CONOCIMIENTO DEL USO RACIONAL DE MEDICAMENTOS.

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Indicadores	Criterios	Deficiente				Baja				Regular				Buena				Muy Buena			
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. Claridad	Está formulado con lenguaje Apropiado																		X		
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables																		X		
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia pedagógica																		X		
4. Organización	Existe una organización Lógica																		X		
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad																		X		
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar los instrumentos de investigación																		X		
7. Consistencia	Basado en aspectos teóricos científicos																		X		
8. Coherencia	Entre los índices e Indicadores																		X		
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico																		X		
10. Pertinencia	Es útil y adecuado para la Investigación																		X		

PROMEDIO DE VALORACIÓN

Muy buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) Muy Buena

Nombres y Apellidos : Rojas Aire Carlos Max
DNI N° : 40126133
Dirección domiciliaria : Jr. Zorritos N°1339 -cercado de Lima
Título Profesional : Químico Farmacéutico
Grado Académico : Magister
Mención : Docencia Superior e Investigación



ROJAS AIRE CARLOS MAX

Lugar y fecha: Lima 6 de marzo del 2022

FORMATO: B

FICHAS DE VALIDACIÓN DEL INFORME DE OPINIÓN POR JUICIO DE EXPERTO

III. DATOS GENERALES

1.1. Título de la Investigación : ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO Y ETANÓLICO DE *Eucalyptus globulus* L. (EUCALIPTO) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, IN VITRO.

1.2. Nombre del instrumento : CUESTIONARIO DEL NIVEL DE CONOCIMIENTO DEL USO RACIONAL DE MEDICAMENTOS.

IV. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Indicadores	Criterios	Deficiente				Baja				Regular				Buena				Muy Buena			
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. Claridad	Está formulado con lenguaje Apropiado																		X		
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables																		X		
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia pedagógica																		X		
4. Organización	Existe una organización Lógica																		X		
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad																			X	
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar los instrumentos de investigación																		X		
7. Consistencia	Basado en aspectos teóricos científicos																		X		
8. Coherencia	Entre los índices e Indicadores																		X		
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico																X				
10. Pertinencia	Es útil y adecuado para la Investigación																		X		

PROMEDIO DE VALORACIÓN

Muy buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) Muy Buena

Nombres y Apellidos : **IRIS MELINA ALFARO BELTRAN**
DNI N° : 17825965
Dirección domiciliaria : Av. Sánchez Carrión 513. El Porvenir
Título Profesional : Químico Farmacéutico
Grado Académico : Magister
Mención : FARMACIA CLÍNICA



IRIS MELINA ALFARO BELTRAN
QUÍMICO FARMACEUTICO
C.Q.F.P. 02795

IRIS MELINA ALFARO BELTRAN

Lugar y fecha: Chiclayo 10 de marzo del 2022

FORMATO: B**FICHAS DE VALIDACIÓN DEL INFORME DE OPINIÓN POR
JUICIO DE EXPERTO****V. DATOS GENERALES**

1.1. Título de la Investigación : ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO Y ETANÓLICO DE *Eucalyptus globulus* L. (EUCALIPTO) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, IN VITRO.

1.2. Nombre del instrumento : CUESTIONARIO DEL NIVEL DE CONOCIMIENTO DEL USO RACIONAL DE MEDICAMENTOS.

VI. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Indicadores	Criterios	Deficiente				Baja				Regular				Buena				Muy Buena			
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. Claridad	Está formulado con lenguaje Apropiado																		X		
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables																			x	
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia pedagógica																		X		
4. Organización	Existe una organización Lógica																		X		
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad																		X		
6. Intencionalidad	Adecuado para valorar los instrumentos de investigación																		X		
7. Consistencia	Basado en aspectos teóricos científicos																		X		
8. Coherencia	Entre los índices e Indicadores																		X		
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico																			x	
10. Pertinencia	Es útil y adecuado para la Investigación																		X		

PROMEDIO DE VALORACIÓN

Muy buena

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) Muy Buena

Nombres y Apellidos : **DEMETRIO RAFAEL JARA AGUILAR**
DNI N° : 17936729
Dirección domiciliaria : Mz. A Lote 12. Urb. Huerta Bella – El Porvenir
Título Profesional : Químico Farmacéutico
Grado Académico : Magister
Mención : EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Dr. Rafael Jara Aguilar

QUÍMICO FARMACÉUTICO

C.Q.F.P. 02615

DEMETRIO RAFAEL JARA AGUILAR

Lugar y fecha: Chiclayo 10 de marzo del 2022

Anexo 5: Carta de aceptación del laboratorio



CARTA DE ACEPTACIÓN

EL QUE SUSCRIBE

Hace constar

Que, SÁNCHEZ PAISIG, María Dialenis y CARHUAPOMA COLLANTES, Billy Elí, bachilleres en Farmacia y Bioquímica han sido aceptados por este laboratorio para realizar la ejecución de su trabajo de investigación titulado “**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO METANÓLICO Y ETANÓLICO DE *Eucalyptus globulus* L. (EUCALIPTO) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923, IN VITRO**”.

Trujillo, 02 de marzo del 2022



REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO NO ESTA PERMITIDA SIN LA AUTORIZACIÓN PREVIA Y EXPRESA DE MICROCLIN SRL.

EL LABORATORIO DE LA REGION

Marcial Acharán N° 587- Urb. Las Quintanas Telef.: 44 208302 Telefax 44 249115 Celular 948051687

Trujillo-Perú

Web: www.microclin.com

e-mail: microclin@microclin.com

Anexo 6: Certificado botánico de la planta

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "EUCALIPTO" proporcionada por los Bachilleres, CARHUAPOMA COLLANTES, Billy Elí y SÁNCHEZ PAISIG, María Dialenis, Tesistas de la Universidad Privada de Huancayo "Franklin Roosevelt", ha sido estudiada científicamente y determinada como *Eucalyptus globulus* L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Myrtales
Familia: Myrtaceae
Género: *Eucalyptus*
Especie: *Eucalyptus globulus* L.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

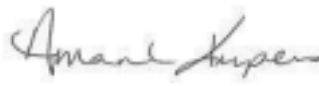


Lima, 17 marzo 2022


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton W. Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
C.R.P. 2719

Anexo 7: Certificado de análisis de la cepa



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-407** Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2022/6/21 Release information: Quality Control Technologist: Keshia L Negen Release Date: 2020/5/20</p>
Performance	
<p>Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters</p>	<p>Medium: SBAP smooth, Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefnase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm</p> <p style="text-align: center;"> Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE</p>
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p>	
<p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p>	
<p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p>	
<p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p>	
 ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02	<p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p>
 ACCREDITED TESTING CERT #2655.01	<p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</p>

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results**Meaning of Score Values**

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Sample Description: 0360
 Sample ID: 360-407
 Sample Creation Date/Time: 2018-09-05T12:23:16.417 MLB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E12 (+++) (A)	360-407	Staphylococcus aureus	2.34

Comments:

N/A

Anexo 8: *Fotografías del trabajo realizado*

Recolección, lavado y secado de la muestra vegetal



Figura: 1. Recolección de la planta



Figura: 2. Lavado y desinfección de las hojas de la planta



Figura: 3. Secado a temperatura ambiente y en estufa de las hojas

Preparación de los extractos



Figura: 4. Pulverización en molinillo eléctrico de cuchillas



Figura: 5. Procedimiento de maceración en metanol y etanol



Figura: 6. Evaporación del filtrado en estufa



Figura: 7. Preparación de los extractos etanólico y metanólico de la planta

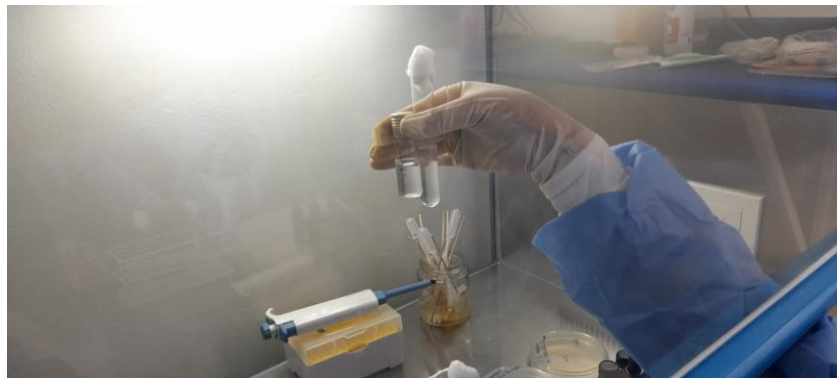


Figura: 8. Preparación del inóculo de trabajo



Figura: 9. Sembrado en placa de Staphylococcus aureus

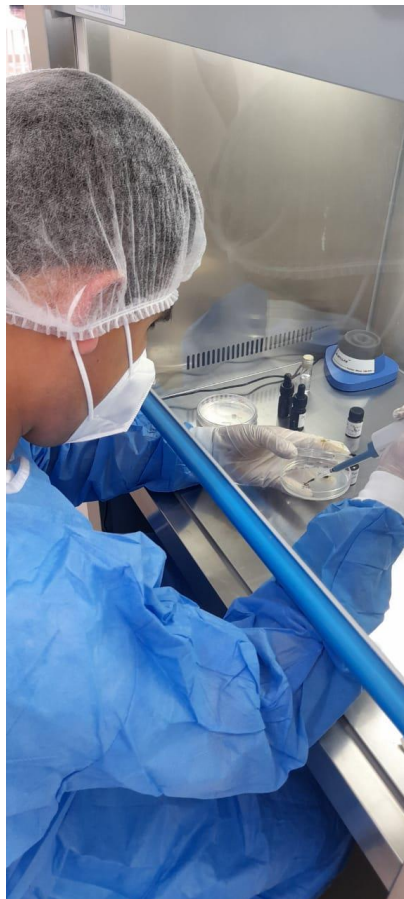


Figura: 10. Aplicación de los extractos en placa Petri



Figura: 11. Incubación de los cultivos de *Staphylococcus aureus* con los tratamientos

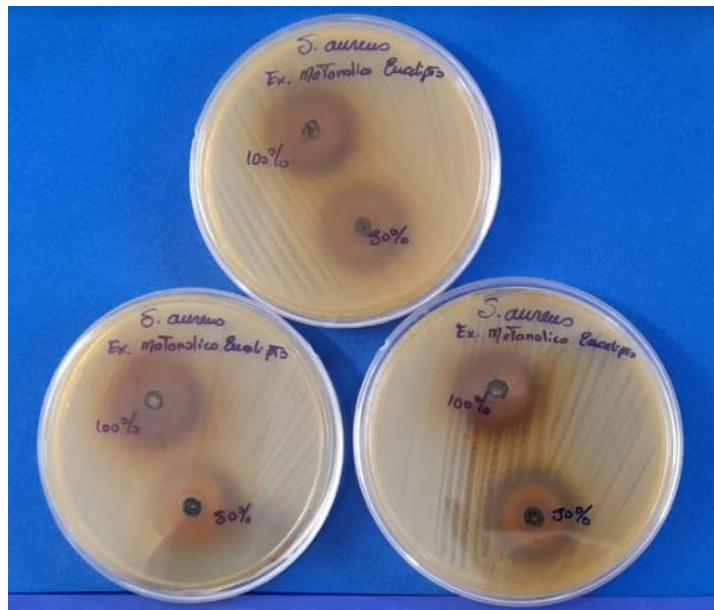


Figura: 12. Halos de inhibición obtenidos sobre *Staphylococcus aureus*



Figura: 13. Medición de los diámetros de los halos de inhibición