



Actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos acuosos de *Eucalyptus globulus* Labill. y *Cinnamomum zeylanicum* Blume sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*

In vitro antibacterial activity of aqueous extracts of *Eucalyptus globulus* Labill. and *Cinnamomum zeylanicum* Blume on *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*

Jorge Villacrés-Vallejo^{1,2}, Candy E. Barreto-Salcedo³

¹Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Iquitos, Perú.

²Instituto de Medicina Tradicional, Seguro Social de Salud. Iquitos, Perú.

³Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo, Perú.

RESUMEN

Introducción. En el Perú se ha mostrado una notable atención respecto al estudio de plantas de uso tradicional, útiles para el desarrollo y síntesis de antibacterianos. **Objetivo.** Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos acuosos liofilizados de hojas de *Eucalyptus globulus* y corteza de *Cinnamomum zeylanicum* frente a *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. **Materiales y métodos.** Estudio experimental *in vitro*. Los extractos acuosos liofilizados de *E. globulus* y *C. zeylanicum* se evaluaron a concentraciones de 600, 700 y 800 mg/mL frente a las cepas de *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Utilizando como control positivo a la Gentamicina y como control negativo al suero fisiológico usando el método de difusión de Kirby-Bauer y se hallaron las concentraciones mínimas inhibitorias por el método de macro dilución en medio líquido. Se realizó un tamizaje fitoquímico. Se usó la prueba de ANOVA para comparar medias y el *post hoc* de Bonferroni. Se consideró un $p < 0,05$ como estadísticamente significativo. **Resultados.** Se observó halos de inhibición mayores al control negativo en los grupos experimentales ($p > 0,05$), esto en todas las dosis evaluadas. Así mismo, las concentraciones mínimas inhibitorias de *E. globulus* y *C. zeylanicum* para *E. coli*, *E. faecalis* y *S. aureus* fueron 16 mg/ml, 16 mg/mL y 32 mg/ml; y 64 mg/ml, 32 mg/ml y 64 mg/ml; respectivamente **Conclusiones:** Los extractos acuosos liofilizados de las hojas de *E. globulus* y la corteza de *C. Zeylanicum* tienen actividad antibacteriana frente a *E. coli*, *E. faecalis* y *S. aureus*.

Palabras clave: eucalipto; canela; actividad antibacteriana; *Escherichia coli*; *Enterococcus faecalis*; *Staphylococcus aureus* [Fuente: DeCS/MeSH].

ABSTRACT

Introduction. In Peru, notable attention has been shown regarding the study of plants of traditional use, useful for the development and synthesis of antibacterials. **Objective.** To determine the in vitro antibacterial activity of lyophilized aqueous extracts of *Eucalyptus globulus* leaves and *Cinnamomum zeylanicum* bark against *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Materials and methods.** In vitro experimental study. The lyophilized aqueous extracts of *E. globulus* and *C. zeylanicum* were evaluated at concentrations of 600, 700 and 800 mg/mL against *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains. Using Gentamicin as a positive control and physiological serum as a negative control using the Kirby-Bauer diffusion method and the minimum inhibitory concentrations were found by the method of macro dilution in liquid medium. Phytochemical screening was performed. The ANOVA test was used to compare means and the Bonferroni *post hoc*. A $p < 0.05$ was considered statistically significant. **Results.** Inhibition halos greater than the negative control were observed in the experimental groups ($p > 0.05$), this in all the doses evaluated. Likewise, the minimum inhibitory concentrations of *E. globulus* and *C. zeylanicum* for *E. coli*, *E. faecalis* and *S. aureus* were 16 mg/ml, 16 mg/ml and 32 mg/ml; and 64mg/ml, 32mg/ml and 64mg/ml; respectively **Conclusions.** The lyophilized aqueous extracts of the leaves of *E. globulus* and the bark of *C. Zeylanicum* have antibacterial activity against *E. coli*, *E. faecalis* and *S. aureus*.

Keywords: eucalyptus; cinnamon; antibacterial activity; *Escherichia coli*; *Enterococcus faecalis*; *Staphylococcus aureus* [Source: DeCS/MeSH].

Información del artículo

Fecha de recibido

5 de enero 2022

Fecha de aprobado

14 de marzo 2022

Correspondencia

Jorge Ysaac Villacrés Vallejo jorge.villacres@essalud.gob.pe; villacresvallejo@gmail.com
Samanes Ocampo 185, Iquitos, Loreto, Perú. +51 965 932 007; +51 065 23 41 40

Conflictos de interés

Los autores han declarado que no existen conflictos de intereses.

Contribuciones de autoría

Todos los autores participaron en la concepción del estudio, recolección de datos, análisis de datos y redacción del manuscrito.

Fuente de financiamiento

Este estudio fue financiado por el Instituto de Medicina Tradicional.

Citar como: Villacrés-Vallejo J, Barreto-Salcedo CE. Actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos acuosos de *Eucalyptus globulus* Labill. y *Cinnamomum zeylanicum* Blume sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. Rev Peru Med Integrativa. 2022; 7(1):22-27.

INTRODUCCIÓN

La resistencia a antibióticos constituye un problema de salud pública creciente en todo el mundo debido al proceso de mutación ocurridas al azar en la población bacteriana. Las mutaciones ocurridas responden a distintos factores como el uso indiscriminado de medicamentos y antibióticos, uso de inmunosupresores, la saturación del sistema de atención primaria. Estos factores influyen, además, al aumento de patologías infecciosas las cuales son responsables del 70% de muertes prematuras en países en vías de desarrollo y constituyen la tercera causa de muerte prematura en el mundo⁽¹⁻³⁾.

Debido a que los antibacterianos sintéticos no alcanzan las concentraciones necesarias para un efecto bactericida en el sitio de infección se ha observado que, en países como Estados Unidos, existe un deceso anual de aproximadamente 23 000 personas por infecciones de bacterias resistentes a antibióticos^(4,5). Esto ha llevado a que los consumidores eviten el uso de antibacterianos sintéticos buscando nuevas alternativas⁽⁶⁾.

En el Perú, a pesar de ser un país con una amplia biodiversidad de flora, no se había estudiado las propiedades químicas y farmacológicas de gran relevancia para el desarrollo y síntesis de nuevos medicamentos, limitando el reconocimiento de ciertas especies como fitofármacos⁽⁷⁾. Actualmente, debido al aumento de las limitaciones de los antibacterianos sintéticos se ha observado un notable interés del estudio y análisis de plantas de uso tradicional, por lo cual la necesidad de realizar un estudio para observar el potencial bactericida de los aceites esenciales y extractos de distintas especies se ha vuelto imperativo.

Si bien es conocido el gran potencial antibacteriano de los aceites esenciales y extractos de *Eucalyptus globulus* (*E. globulus*) y *Cinnamomum zeylanicum* (*C. zeylanicum*) sobre *Staphylococcus aureus*⁽⁸⁻¹⁰⁾, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*⁽⁸⁾, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*⁽¹¹⁾, *Salmonella typh*⁽¹⁰⁾ y *Streptococcus mutans*⁽¹²⁾ poco se conoce acerca de la actividad de éstas especies en otras cepas bacterianas. Es por ello que el objetivo del estudio fue determinar la actividad de los extractos acuosos liofilizados de *Eucalyptus globulus* (*E. globulus*) y *Cinnamomum zeylanicum* (*C. zeylanicum*) sobre cepas de *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*⁽¹³⁾.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño y área de estudio

Estudio cuasi experimental, analítico y prospectivo. Realizado en los laboratorios del Instituto de Medicina Tradicional del Seguro Social de Salud (IMET-EsSalud), en la ciudad de Iquitos, provincia de Maynas.

Población y muestra

La población del estudio estuvo conformada por las siguientes cepas bacterianas: *E. coli* ATCC 25992, *E. faecalis* ATCC 29212 y *S. aureus* ATCC 25923. El aislamiento, purificación e identificación de dichas cepas, fue realizado por el Instituto Nacional de Salud (INS), con sede en la ciudad de Lima y enviadas al IMET-EsSalud con cuatro meses de anticipación a la ejecución del experimento.

Variables e instrumentos

La variable independiente fue el tratamiento con los extractos acuosos liofilizados de *Eucalyptus globulus* y *Cinnamomum zeylanicum* a concentraciones de 600 mg/mL, 700 mg/mL y 800 mg/mL. La variable dependiente fue el efecto inhibitorio sobre *E. coli*, *E. faecalis* y *S. aureus*, medido mediante los siguientes indicadores: 1) las medidas del halo de inhibición (HI) comparadas entre los grupos control gentamicina 10ug y suero fisiológico y valorados a través de la Escala de Duraffourd: nula <8mm, sensible 9-14 mm, muy sensible 15-20 mm y sumamente sensible >20 mm⁽¹⁴⁾. Y, 2. La concentración mínima inhibitoria (CMI), para ello se utilizaron extractos acuosos liofilizados a concentraciones de 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1 mg/mL. Los resultados también se expresaron en escala de concentración mínima inhibitoria (mg/mL) de los extractos vegetales sobre los microorganismos patógenos, según el método de Kirby-Bauer.

Procedimientos

Material vegetal

Las hojas de *Eucalyptus globulus* (Registro de Herbarium 41464) y corteza de *Cinnamomum zeylanicum* (Registro de Herbarium 20234) fueron colectadas del distrito Puerto Bermúdez, provincia Oxapampa, Cerro de Pasco, altitud 257 msnm, latitud:-10,2975, longitud:-74,9356. Dos meses antes de la ejecución del experimento fueron enviadas al IMET-EsSalud, La identificación de las muestras vegetales se realizó en el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP).

Preparación del pulverizado vegetal

El material biológico seleccionado e identificado taxonómicamente, se secó a una temperatura de 60°C por 120 horas; se pulverizó en una licuadora de cuchillas de acero inoxidable y se pesó en una balanza analítica (Mettler Toledo AG 204). El pulverizado se guardó en frascos oscuros. A partir de los pulverizados de hojas y corteza, se prepararon los extractos acuosos al 10% (P/V), a una temperatura entre 70 a 80°C durante dos horas; se filtraron en papel filtro (Whatman Cat No 1440 150) y se guardaron en refrigeración a 5°C. Se concentraron en rotavapor (MRC ROVA- 100) y se congelaron a -20°C en frascos especiales para su posterior liofilizado (SCIENTZ-50N, Labotec) a una temperatura de -40°C y una presión de 1,33 x 10⁻³ mbar durante 72 horas. Los extractos

liofilizados fueron guardados en frascos de vidrio a 5°C, protegidos de la luz hasta su posterior uso en las pruebas.

Caracterización de los extractos

Los extractos fueron sometidos a un tamizaje cualitativo para la detección de los principales grupos fitoquímicos empleando métodos establecidos⁽¹⁵⁾, los cuales se realizaron en el Laboratorio de Farmacognosia del IMET-EsSalud.

Preparación de los extractos a diferentes concentraciones

Se pesó 2,5 g de extracto liofilizado y se disolvió en 2,5 mL de agua destilada estéril para obtener la solución stock con una concentración de 1000 mg/mL. A partir de esta solución stock se procedió a preparar las siguientes concentraciones: 600, 700, 800 mg/mL.

Preparación de los discos de sensibilidad con los extractos vegetales

Los discos de sensibilidad se prepararon utilizando papel Whatman Cat No 1440 150, seguidamente se esterizaron en autoclave (CISA S.p.A) a 121°C en 15 libras de presión por 15 minutos. Luego se procedió agregar a cada uno de los discos 10 µL de las concentraciones de los extractos vegetales, las que se dejaron secar a 45°C por espacio de 24 horas.

Prueba de sensibilidad

Se preparó agar tripticosa de soya (TSA) para obtener cepas jóvenes de *S. aureus*, *E. faecalis* y *E. coli*, incubándose en estufa a 37°C por 24 horas. Estos microorganismos fueron inoculados en la superficie de agar Mueller-Hinton, estriando con un hisopo en tres direcciones. Se colocaron los discos con gentamicina de 10 µg, suero fisiológico y extractos de *E. globulus* y *C. zeylanicum* a concentraciones de 600, 700 y 800 mg, sobre la superficie del medio con ayuda de una pinza estéril presionando ligeramente para asegurar el contacto uniforme. Los discos fueron colocados a una distancia de 2,5 cm uno del otro y a 1,5 cm del borde de la placa. Se invirtieron las placas y fueron incubadas a 37°C durante 18 horas. Con un vernier calibrado se midieron los diámetros de las zonas de inhibición completa (incluyendo el diámetro completo). Las pruebas se realizaron por triplicado. Este método está basado en el método de Kirby-Bauer⁽¹⁶⁾, es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos.

Concentración mínima inhibitoria (CMI)

El medio de cultivo utilizado fue el caldo Mueller Hinton, donde se trabajó con el inóculo al 1% (suspensión bacteriana en solución salina al 0,9% a partir del cultivo en agar tripticosa de soya de 18 – 24 h de incubación), ajustando la turbidez equivalente al estándar 0,5 de la escala de Mc Farland, aproximadamente 106 ufc/mL. Los tubos de ensayo conteniendo el extracto

acuoso liofilizado de *E. globulus* y *C. zeylanicum* se prepararon a concentraciones de 512; 256; 128; 64; 32; 16; 8; 4; 2; 1; 0,5; 0,25 mg/mL. Mientras que el grupo control estaba conformado por tubos de ensayo que contenían el medio de cultivo y el inóculo (bacteria). Se incubaron los tubos a 37°C durante 18 horas, y se calculó la CMI al observar la turbidez de cada dilución.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron en el programa estadístico SPSS versión 18.0. Se calcularon la media, desviación estándar y normalidad de los diámetros de los halos de inhibición. Luego, se compararon los resultados con el análisis de varianza de una vía (ANOVA), con un nivel de significancia de $p < 0,05$; y las diferencias entre medidas de cada grupo se analizaron mediante el test de comparaciones múltiples. El valor $p < 0,05$ fue considerado significativo.

Aspectos éticos

Esta investigación fue aprobada y autorizada por el Comité de Investigación y Ética de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Además, se consideraron los principios de bioseguridad de la Declaración de Helsinki.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se expone los metabolitos encontrados en *E. globulus* y *C. zeylanicum*, los cuales fueron alcaloides, azúcares reductores, saponinas, fenoles y taninos.

La Tabla 2 muestra que *E. globulus* tuvo similar efecto inhibitorio contra los tres microorganismos estudiados *E. coli*, *E. faecalis* y *S. aureus*. *C. zeylanicum* tuvo mayor efecto inhibitorio contra *E. faecalis* y *S. aureus*, y menor efecto contra *E. coli*. Además, *E. globulus* tuvo mayor efecto inhibitorio comparado con la solución salina y *C. zeylanicum* contra *E. coli*, *E. faecalis* y *S. aureus*, pero menor efecto que la gentamicina. El valor de p de la prueba de ANOVA para cada una de las tres cepas bacterianas fue menor a 0,05.

Finalmente, la Tabla 3 presenta la concentración mínima inhibitoria de los extractos acuosos liofilizados de *E. globulus* y *C. zeylanicum*.

DISCUSIÓN

Las bacterias multirresistentes a los medicamentos son un problema creciente en los hospitales de todo el mundo. A *E. coli*, se le considera una bacteria intrínsecamente susceptible a casi todos los antibióticos relevantes, pero con alta capacidad de adquirir genes de resistencia por transferencia genética horizontal⁽¹⁷⁾. Asimismo, la infección por *Enterococcus* resistente a vancomicina (ERV), sobre todo por las especies *E. faecium* (77%) y *E. faecalis* (9%), se asocia a una mayor tasa de mortalidad⁽¹⁸⁾. Por otro lado, *S. aureus* resistente a metilicina,

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico de los extractos acuosos liofilizados de *E. globulus* y *C. zeylanicum*

Metabolitos	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>
	H ₂ OEx	H ₂ OEx
Alcaloides (Drangerdorff)	+++	+++
Triterpenos y esteroides (Liebermann- burchard)	Nd	Nd
Quinonas (Borntrager)	Nd	Nd
Cumarinas (Baljet)	Nd	Nd
Aceites y grasas (Sudan III)	Nd	Nd
Azúcares reductores (Fehling)	+++	+++
Saponinas (Espuma)	+++	+
Fenoles y taninos (Cloruro férrico)	++	+++
Aminoácidos y aminas (Ninhidrina)	Nd	Nd
Glicosidos Cardiotónicos (Kedde)	Nd	-
Glicosidos (Molish)	+	-

(+), (++) y (+++) indican presencia e intensidad; (-) indica ausencia; (Nd) no determinado; (Ex) extracto; (Et) etanol; (DCM) diclorometano y (H₂O) agua.

produce, en el 93% de los casos, leucocidinapanton-valentine (exotoxina causante de la destrucción rápida de los leucocitos polimorfonucleares); fascitis y neumonía necrosante grave⁽¹⁹⁾. Ante esta problemática creciente, se están investigando especies vegetales como agentes antimicrobianos, una alternativa eficaz en el tratamiento de diversas patologías.

Nuestros hallazgos demuestran que el extracto acuoso liofilizado de *E. globulus*, tiene actividad antibacteriana, según la Escala de Duraffourd, contra *E. coli*, *E. faecalis* y *S. aureus*, a concentraciones de 600, 700 y 800 mg/ml, coincidiendo con los resultados de los extractos hidroetanólicos⁽²⁰⁾ y acuosos⁽²¹⁾; y de manera similar, con los extractos hidroalcohólicos^(9,22) y aceites

esenciales^(23,24). Estos resultados avalarían el uso de *E. globulus* para tratar problemas diarreicos y afecciones respiratorias de naturaleza infecciosa, sobre todo en *E. coli* por su alta capacidad de adquirir genes de resistencia por el uso de fármacos⁽¹⁷⁾; debido a los diferentes compuestos químicos de sus hojas, tales como, globulol, 1-8 cineol, trans-inocarveol, entre otros⁽²⁵⁾.

Por otro lado, la respuesta de *E. coli* fue menos sensible, según la Escala de Duraffourd, al extracto acuoso liofilizado de *C. zeylanicum*. Asimismo, se encontró menor actividad antibacteriana de este extracto comparado con *E. globulus* contra *E. faecalis* y *S. aureus* en todas las concentraciones analizadas. Esto se explica por la presencia de aceites esenciales⁽²⁶⁾ y abundantes compuestos fenólicos⁽²⁷⁾. Otro

Tabla 2. Sensibilidad antimicrobiana producida por los extractos acuosos liofilizados de *E. globulus* y *C. zeylanicum*

Extractos	Cepas bacterianas								
	<i>E. coli</i> ATCC 25932			<i>E. faecalis</i> ATCC 29212			<i>S. aureus</i> ATCC 25923		
	mm	%	Valor de p	mm	%	Valor de p	mm	%	Valor de p
<i>E. globulus</i>									
600 mg/mL	15,33 ± 0,57	80,7	<0,001*	15,00 ± 0,00	62,5	<0,001*	14,66 ± 0,57	66,6	<0,001*
700 mg/mL	15,66 ± 0,57	82,4	<0,001*	15,33 ± 0,57	63,9	<0,001*	14,66 ± 0,57	66,6	<0,001*
800 mg/mL	15,66 ± 0,57	82,4	<0,001*	16,33 ± 0,57	68,0	<0,001*	15,00 ± 0,57	68,2	<0,001*
<i>C. zeylanicum</i>									
600 mg/mL	8,00 ± 0,00	42,1	<0,001*	11,16 ± 0,57	55,8	<0,001*	10,00 ± 0,00	45,5	<0,001*
700 mg/mL	9,00 ± 0,00	47,4	<0,001*	12,00 ± 0,00	60,0	<0,001*	13,00 ± 0,00	59,1	<0,001*
800 mg/mL	9,00 ± 0,00	47,4	<0,001*	11,00 ± 0,00	55,0	<0,001*	12,50 ± 0,57	56,8	<0,001*
Gentamicina	19,00 ± 0,00	100	<0,001*	24,00 ± 0,00	100	<0,001*	22,00 ± 0,00	100	<0,001*
10 µg									
Suero fisiológico	6,00 ± 0,00	30		6,00 ± 0,00	30		6,00 ± 0,00	30	

*En comparación con el suero fisiológico.

Halos de inhibición expresados en media ± desviación estándar (mm) y porcentaje de inhibición (%).

Tabla 3. Concentración mínima inhibitoria de los extractos acuosos liofilizados de *E. globulus* y *C. zeylanicum* a diferentes concentraciones

Extractos	Cepas bacterianas		
	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>
	ATCC 25932	ATCC 29212	ATCC 25923
<i>E. globulus</i>	16 mg/mL	16mg/mL	32 mg/mL
<i>C. zeylanicum</i>	64 mg/mL	32mg/mL	64 mg/mL

estudio demostró la buena actividad de los extractos acuosos frente a *E. coli*^[28], sin embargo, nuestros resultados muestran poca actividad frente a dicha bacteria (40 – 50%).

Por otro lado, las CMI del extracto acuoso liofilizado de las hojas de *E. Globulus* oscilan entre 16 mg/ml y 32 mg/ml y del extracto acuoso liofilizado de la corteza de *C. Zeylanicum* oscilan entre 32 mg/ml y 64 mg/ml, evidenciandose menor actividad en ésta última en comparación al *E. Globulus* ; estas CMI hacen difícil su extrapolación en la práctica clínica, sin embargo, son un indicador de la actividad in vitro de estos extractos. Las diferencias entre la CMI necesaria para su actividad puede atribuirse al tipo de extracto, ya que en otro estudio se realizó el ensayo con aceites esenciales de las hojas y frutos de *E. globulus* mostrando una moderada actividad frente a *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, con una CMI entre 3- 4 mg/mL⁽⁸⁾. De igual modo, el aceite esencial de la corteza de *C. zeylanicum* muestra una buena actividad antibacteriana frente a *S. aureus* y *S. typhi* con una CMI entre 0,4519 mg/mL- 9,9418 mg/mL⁽¹⁰⁾.

La limitación del estudio se encontró en las pocas repeticiones de cada ensayo, las cuales fueron tres por cada especie, esto podría disminuir la precisión de los resultados. Sin embargo, los hallazgos siguen siendo de gran relevancia ya que son una potencial alternativa para el gran problema de salud pública que la resistencia bacteriana representa.

CONCLUSIÓN

En conclusión, los extractos acuosos liofilizados de las hojas de *E. globulus* y la corteza de *C. Zeylanicum* tienen actividad antibacteriana in vitro sobre el crecimiento de *E. coli*, *E. faecalis* y *S. aureus*. Aunque la actividad bactericida fue menor en los dos últimos en comparación del *E. Coli*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- World Health Organization. Global Health Estimates: Life expectancy and leading causes of death and disability [Internet]. The Global Health Observatory. 2021 [citado el 4 de enero de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>.
- Berdasquera Corcho D. El control de las enfermedades infecciosas en la atención primaria de salud: un reto para la medicina comunitaria. Rev Cuba Med Gen Integral

- [Internet]. 2007 [citado 4 de enero de 2022];23(1):0-0. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-21252007000100001&Ing=es&nr=iso&tlng=es.
- Rebollo García L, Rincón Elvira EE, León Gómez VE, García Murciego MEG. Las enfermedades emergentes y reemergentes del siglo XXI. SANUM. 2021;5(1):48–61.
- Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. IDR. 2018;11:1645–58. doi:10.2147/IDR.S173867.
- Marston HD, Dixon DM, Knisely JM, Palmore TN, Fauci AS. Antimicrobial Resistance. JAMA. 2016;316(11):1193-204. doi:10.1001/jama.2016.11764.
- Yáñez Rueda X, Cuadro Mogollón OF. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies *Eucalyptus globulus* y *E. camaldulensis* de tres zonas de Pamplona (Colombia). Bistua Rev Fac Cienc Básicas. 2012;10(1):52–61. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90326398003>
- Gallegos-Zurita M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An. Fac. med. [Internet]. 2016 [citado el 4 de enero de 2022]; 77(4): 327-332. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002&Ing=es.
- Bey-Ould Si Said Z, Haddadi-Guemghar H, Boulekbache-Makhlouf L, Rigou P, Remini H, Adjaoūd A, et al. Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of *Eucalyptus globulus* fruits. Industrial Crops and Products. 2016;89:167–75. doi:10.1016/j.indcrop.2016.05.018.
- Flores-Somarriba B, Mejía-Solorzano JL, Morales M, Mora-Sánchez B, Torres D, Sheleby-Elias J. Efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de “Eucalipto” *Eucalyptus globulus* en bacterias aisladas de vacas con mastitis. Kasmera. 2021;49(2):e49235288–e49235288. doi:10.5281/zenodo.5338773.
- Arias Choque TG. Actividad antimicrobiana “in vitro” del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyne “canela” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Salmonella typhi* ATCC 19430 [Tesis de grado]. Perú: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2013 [citado el 4 de enero de 2022]. Disponible en: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/1889>.

11. Santos Alves Cidres ES. Óleo essencial das folhas e fruto do eucalipto: avaliação da atividade antimicrobiana e da atividade antioxidante [Tesis de maestría]. Portugal: Instituto Politécnico De Bragança; 2018 [citado el 04 de enero de 2022]. Disponible en: <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/18474>
12. Mora Colque GA. Efecto antimicrobiano In Vitro del aceite esencial del Cinnamomum Verum Canela sobre Streptococcus mutans Atcc 25175 en la ciudad de Tacna [Tesis de grado]. Perú: Universidad Alas Peruanas; 2017 [citado el 04 de enero de 2022]. Disponible en: <https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/handle/20.500.12990/1528>
13. Maguiña C, Galán-Rodas E. Situación de la salud en el Perú: la agenda pendiente. Rev Peru Med Exp Salud Pública [Internet]. 2011 [citado 04 de enero de 2022];28(3). doi:10.17843/rpmpes.2011.283.544
14. Aranibar Zuniga CFA. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de Camellia Sinensis (Té Verde) sobre Lactobacillus Acidophilus ATCC 4356, Cusco 2018. Visión Odontológica. 2019;6(1):51–6. Disponible en: <https://revistas.uandina.edu.pe/index.php/VisionOdontologica/article/view/162>
15. Corral Salvado A, De la Paz Naranjo J, Concepción Evseeva E, Hernández Royero R, López Rodríguez DL. Tamizaje, tecnología, control de calidad y farmacología del extracto fluido de Bouganvillea spectabilis Willd. Rev Cuba Plantas Med [Internet]. 1997 [citado 04 de enero de 2022];2(2):19-25. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1028-47961997000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
16. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966;45(4):493-6. doi:10.1093/ajcp/45.4_ts.493
17. Poirel L, Madec JY, Lupo A, Schink AK, Kieffer N, Nordmann P, et al. Antimicrobial Resistance in Escherichia coli. Microbiol Spectr. 2018;6(4). doi:10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017. doi:10.1128/microbiolspec.ARBA-0026-2017.
18. Ahmed MO, Baptiste KE. Vancomycin-Resistant Enterococci: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Perspectives of Human and Animal Health. Microb Drug Resist. 2018;24(5):590-606. doi:10.1089/mdr.2017.0147.
19. Cercenado E, Ruiz de Gopegui E. Staphylococcus aureus resistente a la meticilina de origen comunitario. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica [Internet]. 2008 [citado 04 de enero de 2022];26(Supl.13):19-24. Disponible en: <https://medes.com/publication/44860>
20. Celaya-Michel H, Anaya-Islas J, Barrera-Silva MÁ, Barrales-Heredia SM, Nieblas-López M, Osuna-Chávez RF, et al. Extractos hidro-etanólicos de plantas comestibles como alternativa para controlar bacterias patógenas, parásitos e insectos en la industria pecuaria. Biotecnia [Internet]. 2019 [citado 04 de enero de 2022];21(2):47-54. Disponible en: <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/view/905>
21. Sousa Rodriguews VB. Efeito antimicrobiano e fenólicos totais de extratos aquosos de erva cidreira (Lippia alba), capim limão (Cymbopogon citratus) e eucalipto (Eucalyptus globulus) [Internet]. Brasil: Universidade Federal Do Maranhão; 2018 [citado el 04 de enero de 2022]. Disponible en: <http://rosario.ufma.br:8080/jspui/handle/123456789/2359>
22. Uriol Plasencia DE, Espinoza Salcedo MV, Uriol Plasencia DE, Espinoza Salcedo MV. Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de frutos de «aguaymanto» (Physalis peruviana L.) y de hojas de «eucalipto» (Eucalyptus globulus Labill.) frente a Staphylococcus aureus. Arnelao. 2021;28(1):115-24. doi:10.22497/arnelao.281.28106.
23. Montero-Recalde M, Morocho-Núñez MJ, Avilés-Esquivel D, Carrasco-Cando Á, Erazo-Gutierrez R. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (Eucalyptus spp) sobre cepas de Escherichia coli y Staphylococcus aureus subsp. aureus. Rev Investig Vet Perú. 2019;30(2):932-8. doi:10.15381/rivep.v30i2.16099.
24. Vega FEA, Montenegro ZJS, Delgado MET, Alvarez JAP, Benavides AMH, Ospina JD. Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en staphylococcus aureus y escherichia coli. Biotecnol En El Sect Agropecu Agroindustrial. 2017;15(2):52-60. doi:10.18684/bsaa(15).593.
25. Sebei K, Sakouhi F, Herchi W, Khouja ML, Boukhchina S. Chemical composition and antibacterial activities of seven Eucalyptus species essential oils leaves. Biol Res. 2015;48(1):7. doi:10.1186/0717-6287-48-7.
26. Cava Roda RM. Efecto antimicrobiano de vainillina y de aceites esenciales de canela y clavo en leche de vaca pasteurizada. [Tesis doctoral]. España: Universidad de Murcia; 2013 [citado el 04 de enero de 2022]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/handle/10803/128512>
27. Pastrana-Puche YI, Durango-Villadiego AM, Acevedo-Correa D. Efecto antimicrobiano del clavo y la canela sobre patógenos. Biotecnol En El Sect Agropecu Agroindustrial. 2017;15(1):56-65. [https://doi.org/10.18684/BSAA\(15\)56-65](https://doi.org/10.18684/BSAA(15)56-65).
28. Arias FCH, Rico ROG. Evaluación in vitro del efecto bactericida de extractos acuosos de laurel, clavo, canela y tomillo sobre cinco cepas bacterianas patógenas de origen alimentario. Bistua Rev Fac Cienc Básicas. 2006;4(2):13-9. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90340202>.