



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE BIOLOGÍA Y
BIOTECNOLOGÍA



TESIS

Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” y *Zingiber officinale* “Jengibre” en *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente, Cajamarca, 2024

AUTOR

Zorrilla Pérez Sonia Gianella

ASESOR

Mg. Javier Alejandro Perinango Gaitán

CO-ASESORES

Mg. Juan Pablo Cuevas Gimenez

Dra. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia

Cajamarca – Perú

2025

CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador: **Sonia Gianella Zorrilla Pérez**

DNI N.º: **70931480**

Escuela Profesional/Unidad: **ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA**

2. Asesor(a):

Mg. Javier Alejandro Perinango Gaitán

Facultad/Unidad UNC: **FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

3. Grado académico o título profesional

Bachiller Título profesional Segunda especialidad Maestro Doctor

4. Tipo de Investigación:

Tesis Trabajo de investigación Trabajo de suficiencia profesional

Trabajo académico

5. Título de Trabajo de Investigación:

"Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* "Eucalipto" y *Zingiber officinale* "Jengibre" en *Pseudomonas aeruginosa*

6. Fecha de evaluación: **22/01/2026**

7. Software antiplagio: TURNITIN URKUND (OURIGINAL) (*)

8. Porcentaje de Informe de Similitud: **05%**

9. Código Documento: **oid: 3117:548404932**

10. Resultado de la Evaluación de Similitud:

APROBADO PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO

Cajamarca, 23 de enero del 2026



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Dra. Silvia Isabel Sánchez Mercado

DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Dra. Silvia Isabel Sánchez Mercado
DIRECTORA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN FCS UNC
DNI 26613805

En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023

Copyright©

Sonia Gianella Zorrilla Pérez

Todos los derechos reservados

FICHA CATALOGRÁFICA

Zorrilla Pérez, S. 2025. **Evaluación del efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” y *Zingiber officinale* “jengibre” en *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente, Cajamarca,**

2024 / Sonia Gianella Zorrilla Pérez.

Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología

Asesora: Mg. Javier Alejandro Perinango Gaitán

Disertación Académica para optar el Título Profesional de Biólogo Biotecnólogo

UNC – 2025.

Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” y *Zingiber officinale* “jengibre” en *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente, Cajamarca, 2024

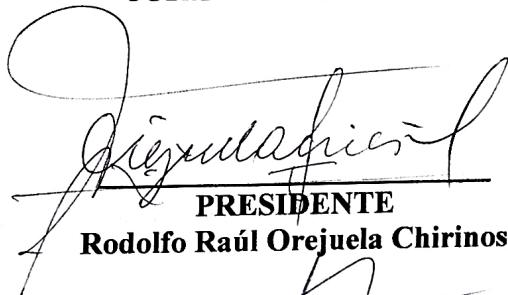
AUTOR: Bach. Sonia Gianella Zorrilla Pérez

ASESOR: Mg. Javier Alejandro Perinango Gaitán

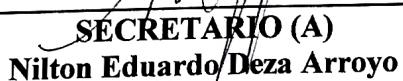
CO-ASESOR: Mg. Juan Pablo Cuevas Gimnez y Dra. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia

Tesis evaluada y aprobada para la obtención del Título Profesional de Biólogo – Biotecnólogo de la Universidad Nacional de Cajamarca, por los siguientes jurados.

JURADO EVALUADOR



PRESIDENTE
Rodolfo Raúl Orejuela Chirinos



SECRETARIO (A)
Nilton Eduardo Deza Arroyo



VOCAL
Carmen Eddy Medina Rodríguez

Cajamarca, 2026 – Perú

**MODALIDAD "A"****ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**

En Cajamarca, siendo las 14:00 del 15 de Junio del 2024 los integrantes del Jurado Evaluador para la revisión y sustentación de la tesis, designados en Consejo de Facultad a propuesta del Departamento Académico, reunidos en el ambiente 11.-304 de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca, dan inicio a la sustentación de tesis denominada: Evaluación del efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* "Eucalipto" y *Zingiber officinale* "Gengibre" en *Psudomonas aeruginosa* multietado del (a) Bachiller en Ciencias Biológicas: gomesante, Cajamarca 2024

Zornilla Pérez Sonia Tiamella

Siendo las 15:00 del mismo día, se da por finalizado el proceso de evaluación, el Jurado Evaluador da su veredicto en los siguientes términos: APROBADA POR UNANIMIDAD, con el calificativo de: 18, con lo cual el (la) Bachiller en Ciencias Biológicas se encuentra APTA para la obtención del Título Profesional de: **BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**.

Miembros Jurado Evaluador Nombres y Apellidos		Firma
Presidente:	<u>Rodolfo Cepeda Clavinos</u>	<u>Rodolfo Cepeda</u>
Secretario(a):	<u> Milton Díaz Arroyo</u>	<u>Milton Díaz</u>
Vocal:	<u>Carmen Medina Rodríguez</u>	<u>Carmen Medina</u>
Accesitaria:		
Asesor (a):	<u>Javier Perinango Taitán</u>	<u>Javier Perinango</u>
Asesor (a):	<u>Jessica Bardales Valdivia</u>	<u>Jessica Bardales</u>

Términos de Calificación:

EXCELENTE (19-20)

MUY BUENO (17-18)

BUENO (14-16)

REGULAR (12-13)

REGULAR BAJO (11)

DESAPROBADO (10 a menos)

Dedicatoria

A mis padres, Sonia y Carlos, por ser mi pilar constante, por su amor sin medida y su apoyo incondicional en cada paso que doy. Gracias por sus enseñanzas, su fuerza y por ser el refugio en los momentos más difíciles de mi vida.

A mis hermanos, Carlos y Mayrín, por ser fuente de alegría, compañía y esperanza. Gracias por estar conmigo en este camino, con su cariño y comprensión.

A mi abuela Consuelito, cuyo recuerdo vive en cada logro que alcance. Aunque no está físicamente, su amor sigue guiando mi camino.

A mis tíos Magdalena, Silvia y Wilmer, por su afecto, apoyo y constante preocupación por mí.

A quien me acompañó silenciosamente en momentos que marcaron mi vida, con la esperanza de lo que pudo ser, de aquello que no llegó, pero que dejó una huella eterna en mi corazón.

Agradecimiento

A Dios, por darme la vida, por sostenerme en cada prueba, por la luz en los días oscuros y por regalarme una familia que ha sido mi soporte incondicional.

A mis padres, Sonia y Carlos, y a mis hermanos, Carlos y Mayrín, por su amor, sus consejos, sus sacrificios y por estar conmigo incluso cuando las circunstancias parecían difíciles. Gracias por ser mi motor y mi mayor motivo.

A mi abuela Consuelito, cuyo legado de amor y fortaleza sigue y seguirá inspirándome a crecer cada día.

A mis tíos Magdalena, Silvia y Wilmer, por estar presentes con su cariño, siempre atentos y dispuestos a apoyarme.

Mi gratitud sincera al Mg. Javier Alejandro Perinango Gaitán, mi asesor, por su orientación, compromiso y dedicación durante el desarrollo de esta investigación. Su guía fue clave para alcanzar este objetivo.

A mis co-asesores, Mg. Juan Pablo Cuevas Giménez y Dra. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia, por compartir conmigo su experiencia y saber, y por contribuir generosamente al fortalecimiento académico de este trabajo.

Un reconocimiento especial al Mg. Omar Pairazaman Quiroz, por su apoyo fundamental durante la ejecución de mi tesis. Su acompañamiento oportuno y su disposición marcaron una diferencia significativa en este proceso.

Expreso mi más profundo agradecimiento al Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública de Cajamarca por brindarme el acceso a sus instalaciones y equipos. Su apoyo institucional y técnico fue fundamental para el desarrollo riguroso de la fase experimental de esta investigación.

Finalmente, a quienes de manera silenciosa, ha sido parte de este trayecto. Gracias por caminar conmigo, por ayudarme a resistir, avanzar y continuar, incluso cuando parecía no tener fuerzas. A todos, infinitas gracias.

Tabla de contenido

Título	8
Resumen:.....	9
Abstract:	10
CAPÍTULO 1	11
INTRODUCCIÓN.....	11
CAPÍTULO 2	15
MARCO TEÓRICO	15
2.1. Antecedentes de la investigación	15
2.2. Bases teóricas.....	17
2.2.1 Infecciones nosocomiales	17
2.2.2. Resistencia a los antibióticos.....	18
2.2.3. Tipos de resistencia bacteriana.....	20
2.2.4. Bacterias MDR.....	21
2.2.5. Pruebas bioquímicas.....	22
2.2.6. <i>Eucalyptus globulus</i>	23
2.2.7. <i>Zingiber officinale</i>	24
2.2.8. Aceites esenciales.....	26
2.2.9. Fitoconstituyentes de los aceites esenciales	27
2.2.10. Métodos de extracción	27
2.2.10.1. Método de arrastre por vapor	27
2.2.11. Eucaliptol (1,8 cineol).....	28

2.2.12. Actividad antibacteriana del aceite esencial de eucalipto	30
2.2.13. Actividad antibacteriana del aceite esencial de jengibre.....	31
2.2.14. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	32
2.2.15. Concentración Mínima Bactericida (CMB)	32
2.2.16. Escala de Duraffourd.....	33
2.2.17. Métodos de Método de Kirby-Bauer (Difusión en Disco).....	34
2.3. Definición de términos básicos.....	36
CAPÍTULO 3	37
DISEÑO DE LA CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS	37
3.1. Nivel de investigación.....	37
3.2. Tipo de investigación	37
3.3. Enfoque de la investigación	37
3.4. Dimensión temporal de la investigación.....	37
3.5. Material biológico	37
3.5.1. Material biológico vegetal.....	37
3.5.2. Material biológico bacteriano.....	38
3.6. Población, Muestra y Unidad de análisis	39
3.6.1. Población.....	39
3.6.2. Muestra.....	39
3.6.3. Unidad de análisis	40
3.7. Lugar de muestreo.....	40
3.8. Toma de muestras vegetales	40

3.9. Obtención de los aceites esenciales de <i>Eucalyptus globulus</i> y <i>Zingiber officinale</i> ...	40
3.10. Reactivación y purificación de cepas	41
3.11. Tinción Gram	41
3.12. Pruebas bioquímicas	42
3.13. Antibiograma	42
3.14. Evaluación del efecto antibacteriano del aceite esencial de eucalipto, jengibre y combinación	43
3.14.1. Preparación de las Concentraciones del Aceite Esencial puro.....	43
3.14.2. Preparación de las Concentraciones del Aceite Esencial combinado	43
3.14.3. Prueba piloto (pruebas de sensibilidad – Kirby Bauer)	43
3.14.4. Reactivación de las Cepas	44
3.14.5. Siembra en Placa de Mueller-Hinton	44
3.14.6. Colocación de los Discos e incubación	44
3.15. Interpretación de sensibilidad	44
3.16. Evaluación del CMI y CMB de los aceites esenciales	45
3.16.1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	45
3.16.2. Concentración Mínima Bactericida (CMB)	45
3.17. Determinación del rendimiento de extracción	46
3.18. Determinación de la densidad.....	46
3.19. Elaboración de las diferentes concentraciones del aceite esencial	46
3.17. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos.....	47

CAPITULO IV	48
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.1. Resultados	48
4.1.1. Características Fisicoquímicas de los aceites esenciales de <i>Eucalyptus globulus</i> y <i>Zingiber officinale</i>	48
4.1.2. Evaluación del efecto antibacteriano del aceite esencial los aceites esenciales de <i>Eucalyptus globulus</i> y <i>Zingiber officinale</i>	48
4.1.3. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	64
4.1.4. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMb)	67
4.2. Discusión	70
CAPÍTULO V	79
CONCLUSIONES Y RECOMENDAECIONES	79
5.1. Conclusiones	79
5.2. Recomendaciones.....	81
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
ANEXOS	96
Anexo 1. Obtención de los aceites esenciales de <i>Eucalyptus globulus</i> y <i>Zingiber officinale</i> mediante destilación por arrastre con vapor de agua.....	96
Anexo 2. Reactivación de cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR en agar cetrimide	97
Anexo 3. Purificación de cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR en agar cetrimide	98
Anexo 4. Identificación bioquímica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR	99
Anexo 5. Tinción Gram de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> MDR.....	100

Anexo 6. Determinación de la resistencia a diferentes antibióticos	101
Anexo 7. Preparación de medio Mueller Hinton, preparación de las concentraciones (100%, 75%, 50%) de los aceites esenciales de <i>Eucalyptus globulus</i> y <i>Zingiber officinale</i> , y medición de turbidez en tubos de solución salina para realizar pruebas de sensibilidad por difusión en disco.....	104
Anexo 8: Evaluación de efecto antibacteriano de los aceites esenciales de <i>Eucalyptus globulus</i> y <i>Zingiber officinale</i>	106
Anexo 9. Determinación de la CMI Y CMB.....	121
Anexo 10. Concentraciones mínimas inhibitorias y concentraciones mínimas bactericidas	123
Anexo 11. Batería de tubos de ensayo para determinar CMI.....	124
Anexo 12. Prueba de normalidad	125
Anexo 13. Pruebas de Kruskal Wallis para los aceites esenciales de <i>Eucalyptus globulus</i> y <i>Zingiber officinale</i>	128

Lista de Abreviaciones:

- **ATCC:** American Type Culture Collection
- **CMI:** Concentración Mínima Inhibitoria
- **CMB:** Concentración Mínima Bactericida
- **AEE:** Aceite Esencial de Eucalipto
- **AEJ:** Aceite Esencial de Jengibre
- **AEC:** Aceite Esencial Combinado
- **MH:** Agar Mueller Hinton
- **DIRESA:** Dirección Regional de Salud de Cajamarca
- **OH:** Alcohol
- **S:** Sensible
- **I:** Intermedio
- **R:** Resistente
- **SN:** Sensibilidad Nula
- **SB:** Sensibilidad Baja
- **SM:** Sensibilidad Media
- **SA:** Sensibilidad Alta

Glosario:

- **Aceite esencial:** Mezcla natural de compuestos volátiles extraídos de plantas, con propiedades aromáticas y medicinales.
- **Antibacteriano:** Sustancia que inhibe el crecimiento o elimina bacterias.
- **Concentración mínima inhibitoria (CMI):** Menor concentración de un antimicrobiano que impide el crecimiento visible de una bacteria.
- **Concentración mínima bactericida (CMB):** Menor concentración de un antimicrobiano que mata el 99.9% de una población bacteriana.
- **Multidrogorresistente:** Bacteria resistente a tres o más clases de antibióticos.
- **Kirby Bauer:** Método de prueba para evaluar la sensibilidad bacteriana a antibióticos mediante discos en agar.
- **Heteroresistencia:** Presencia de subpoblaciones bacterianas resistentes dentro de una cepa generalmente sensible.
- **Fitoconstituyentes:** Compuestos químicos naturales presentes en plantas con actividad biológica, como alcaloides, flavonoides o terpenoides.

Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” y *Zingiber officinale* “jengibre” en *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente, Cajamarca, 2024

Resumen:

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) y *Zingiber officinale* (jengibre) frente a aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* MDR (MDR) obtenidos del Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública de Cajamarca. El efecto inhibitorio se evaluó mediante la metodología de Kirby-Bauer (a concentraciones del 50%, 75% y 100%) y se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Bactericida (CMB) por microdilución en medio líquido. Los resultados mostraron una clara disparidad: el Aceite Esencial de Jengibre (AEJ) demostró una eficacia superior en la difusión en disco, alcanzando hasta sensibilidad alta (media de 22.00 ± 3.00 mm) en una cepa y en la demás sensibilidad media. En contraste, el Aceite Esencial de Eucalipto (AEE) fue el menos activo. Esta diferencia se confirmó en los ensayos de Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Bactericida: el AEE careció de efecto bactericida (CMB >41.1936 mg/ml) contra todas las cepas, mientras que el AEJ y el AEC lograron la CMB en 3 de 6 cepas a concentraciones entre 36.0976 mg/ml y 40.2912 mg/ml. Además, las cepas con fenotipo pigmentado (pioverdina/pigmento verde) demostraron ser las más resistentes a la acción de todos los aceites esenciales. Se concluye que el aceite esencial de jengibre es el compuesto con mayor actividad antibacteriana *in vitro*, mostrando un claro efecto bactericida en la mitad de las cepas MDR estudiadas.

Palabras clave: *Pseudomonas aeruginosa*, Multidrogorresistente, Aceites Esenciales, *Zingiber officinale* (jengibre), *Eucalyptus globulus* (Eucalipto)

Abstract:

The present research aimed to determine *in vitro*, the antibacterial effect of the essential oils of Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) and Ginger (*Zingiber officinale*) against multidrug-resistant (*P. aeruginosa* MDR) isolates obtained from the Regional Public Health Reference Laboratory of Cajamarca. The inhibitory effect was assessed using the Kirby-Bauer disk diffusion method (at concentrations of 50%, 75%, and 100%) and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) were determined by microdilution in liquid medium. The results showed a clear disparity: Ginger essential oil (GEO) demonstrated superior efficacy in the disk diffusion assay, reaching up to High Sensitivity (mean of 22.00 ± 3.00 mm) in one strain and Medium Sensitivity in the rest. In contrast, Eucalyptus essential oil (EEO) was the least active, primarily exhibiting Low Sensitivity. This difference was confirmed in the MIC/MBC assays: EEO lacked a bactericidal effect (MBC >41.1936 mg/mL) against all strains, while GEO and the Combined essential oil (CEO) achieved the MBC in 3 out of 6 strains at concentrations between 36.0976 mg/mL and 40.2912 mg/mL. Furthermore, strains with a pigmented phenotype (pyoverdine/green pigment) proved to be the most resistant to the action of all essential oils. It is concluded that Ginger essential oil is the compound with the highest *in vitro* antibacterial activity, showing a clear bactericidal effect in half of the studied MDR strains.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, Multidrug-resistant, Essential Oils, *Zingiber officinale* (Ginger), *Eucalyptus globulus* (Eucalyptus).

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Las bacterias patógenas representan un desafío constante para la salud pública debido a su capacidad de generar enfermedades infecciosas que van desde leves hasta potencialmente mortales. El uso indiscriminado de antibióticos ha favorecido la selección y propagación de cepas resistentes, lo que compromete la eficacia de los tratamientos convencionales. Entre estas bacterias, *Pseudomonas aeruginosa* destaca por su alta capacidad de adaptación, formación de biopelículas y resistencia a múltiples antimicrobianos, lo que la convierte en un patógeno oportunista de gran importancia clínica, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, quemados o con enfermedades respiratorias crónicas^(1,2). La aparición de cepas MDR de *P. aeruginosa* constituyen una amenaza grave, ya que limita significativamente las opciones terapéuticas, incrementando la mortalidad hospitalaria y los costos en el sistema de salud^(3,4). En este contexto, surge la necesidad urgente de explorar alternativas terapéuticas que puedan contribuir al control de infecciones resistentes.

El uso de plantas medicinales como fuente de compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas es una estrategia tradicional que ha cobrado gran relevancia en la investigación científica moderna. Los aceites esenciales, obtenidos por destilación de partes específicas de plantas, contienen una mezcla compleja de metabolitos secundarios como terpenoides, fenoles y aldehídos, que han mostrado capacidad inhibitoria frente a diversos microorganismos, incluidas cepas resistentes a antibióticos⁽⁵⁾. En estudios *in vitro*, estos aceites han demostrado ser una alternativa prometedora para combatir bacterias patógenas, ya que actúan sobre múltiples blancos celulares, dificultando la generación de resistencia bacteriana^(6,7). Además, su fácil obtención, bajo costo relativo y origen natural los convierten en una opción atractiva para el desarrollo de terapias complementarias y estrategias de control de infecciones nosocomiales.

Dentro del amplio repertorio vegetal, *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Zingiber officinale* (jengibre) son especies ampliamente reconocidas por sus propiedades medicinales. El eucalipto, utilizado tradicionalmente como expectorante y antiséptico, posee un aceite esencial rico en eucaliptol (*1,8-cineol*), compuesto con demostrado efecto antimicrobiano contra bacterias Gram positivas y Gram negativas ⁽⁸⁾. Por su parte, el jengibre, empleado desde la medicina tradicional asiática, contiene gingeroles y shogaoles con actividad antiinflamatoria, antioxidante y antibacteriana ⁽⁹⁾. Diversos estudios han evidenciado que los aceites esenciales de estas plantas pueden alterar la permeabilidad de la membrana bacteriana, inhibir la síntesis de proteínas y desestabilizar procesos metabólicos clave en bacterias resistentes ^(10,11). Estas propiedades hacen de ambos aceites esenciales candidatos viables para la evaluación de su eficacia frente a *Pseudomonas aeruginosa* MDR, especialmente en contextos donde el acceso a antibióticos de última línea es limitado.

En ese marco, la presente investigación titulada "Evaluación del efecto antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* "Eucalipto" y *Zingiber officinale* "jengibre" en *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente, Cajamarca, 2024", tiene como finalidad determinar el efecto antibacteriano de estos aceites esenciales en distintas concentraciones (100%, 75% y 50%) contra cepas clínicas de *Pseudomonas aeruginosa* MDR, las cuales fueron obtenidas del Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública de Cajamarca. Asimismo, se evaluó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de ambos aceites, con el fin de establecer su efectividad en el control del crecimiento bacteriano *in vitro*. antimicrobianos alternativos frente a bacterias resistentes, promoviendo una visión integradora entre medicina tradicional y ciencia moderna.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” y *Zingiber officinale* “Jengibre” contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente obtenidas del laboratorio Regional de Salud de Cajamarca, 2024

Objetivos específicos

- Determinar el efecto antibacteriano de diferentes concentraciones (100%, 75% y 50%) de aceite esencial de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente obtenidas del laboratorio Regional de Salud de Cajamarca, 2024.
- Determinar el efecto antibacteriano de diferentes concentraciones (100%, 75% y 50%) de aceite esencial de *Zingiber officinale* “Jengibre” contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente obtenidas del laboratorio Regional de Salud de Cajamarca, 2024.
- Determinar el efecto antibacteriano de diferentes concentraciones (100%, 75% y 50%) de la combinación de ambos aceites esenciales contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente obtenidas del laboratorio Regional de Salud de Cajamarca, 2024.

- Determinar la CMI y CMB de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* “Eucalipto” y *Zingiber officinale* “Jengibre” y la combinación de ambos aceites.
- Comparar la susceptibilidad de cepas pigmentadas y cepas no pigmentadas de *P. aeruginosa* MRD frente a los aceites esenciales mediante la prueba de difusión en disco.

Hipótesis:

Los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* tienen efectividad significativa en la inhibición del crecimiento bacteriano *in vitro* contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente, Cajamarca, 2024

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Ibarra C. (2023)⁽¹²⁾ realizó en Chile un estudio de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales y extractos de origen natural frente a bacterias MDR. En esta investigación se realizó pruebas de diversas muestras vegetales, entre ellas *Zingiber officinale*. El estudio del efecto antibacteriano de este último aceite esencial, se realiza mediante métodos de difusión en pozos de agar y de difusión en discos. Los resultados de sensibilidad que presentan las cepas MDR frente al aceite esencial de *Zingiber officinale* en una concentración al 100% es para *Escherichia coli* es de 20 mm, para *Staphylococcus aureus* es de 18 mm y *Pseudomonas aeruginosa* 19 mm. Finalmente concluyó que luego de la revisión bibliográfica se infiere que el uso de productos naturales como aceites esenciales es una prometedora alternativa para el tratamiento de bacterias MDR.

Van L. et al. (2022)⁽¹³⁾ evaluaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo), *Eucalyptus globulus* (eucalipto), *Salvia officinalis* (salvia) y *Tea Maleleuca alternifolia* (té) contra *Pseudomonas aeruginosa* MDR. Se utilizaron 36 cepas en total, dos cepas compradas y 34 cepas aisladas de infecciones clínicas de dos grandes unidades hospitalaria de Bucarest y aguas residuales, Rumania. Para medir la susceptibilidad a los antibióticos se utilizó el método de Kirby-Bauer de difusión en disco. Los resultados mostraron que las cepas analizadas presentan resistencia a imipenem, gentamicina, aztreonam y ceftazidima. Determinaron también que a pesar de que los cuatro aceites esenciales presentan efecto inhibitorio frente a la cepa de *P. aeruginosa*, dentro de los aceites esenciales que usados en menor concentración son más efectivos están el de té (0538 al 0,759%) y de tomillo (0,246 al 0,470%), comparado con el aceite esencial de eucalipto que es de 2,361 al 3,214%. Finalmente concluyeron que los aceites esenciales de árbol del té y tomillo demostraron mayor

eficacia contra cepas de *P. aeruginosa* que los aceites esenciales de eucalipto y salvia, incluyendo las resistentes a antibióticos, sugiriendo su potencial como alternativas terapéuticas prometedoras. Estos resultados respaldan la exploración futura de compuestos vegetales para desarrollar antimicrobianos efectivos y ecológicos.

Regalado R. y Rodriguez S. (2021)⁽¹⁴⁾ realizaron un estudio en Perú con el objetivo de determinar *in vitro* el efecto antibacteriano de extractos de *Eucalyptus globulus* (EG) y *Eucalyptus viminalis* (EV) frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. La metodología se basó en el screening fitoquímico para identificar grupos funcionales (fenoles, taninos, etc.) y la posterior determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) a partir de extractos etanólicos de las plantas. Los resultados mostraron que el extracto etanólico de hojas de *Eucalyptus globulus* presentó actividad antibacteriana contra *Pseudomonas aeruginosa*, registrando un valor de CMI de 3.58 mg/mL, mientras que el extracto de tallos de EG tuvo una CMI de 2.32 mg/mL contra la misma bacteria. La conclusión principal fue que los extractos etanólicos de ambas especies de eucalipto exhibieron actividad antibacteriana significativa sobre los patógenos estudiados, confirmando el potencial de *Eucalyptus globulus* como agente antibacteriano, si bien se notó que la *K. pneumoniae* era más susceptible que la *P. aeruginosa*.

Armas E. (2019)⁽¹⁵⁾ evaluó la eficacia del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 en un estudio *in vitro*, comparándolo con gentamicina a 10 µg. Se utilizó el método de disco difusión de Kirby-Bauer para evaluar concentraciones del aceite (100%, 75%, 50% y 25%), con 9 repeticiones por concentración, además de gentamicina y agua destilada como controles. Se observó que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* fue efectivo contra MRSA en concentraciones del 75% y 100%, con halos de inhibición de 16.22 y 19.56 12 mm respectivamente, superando el valor de sensibilidad (>15 mm). Sin embargo, no fue efectivo

contra *Pseudomonas aeruginosa*, mostrando solo una leve actividad en concentración del 100% (9 mm). En conclusión, el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* es eficaz contra MRSA en concentraciones del 75% y 100%, pero no contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Cabrera C. y Marín L. (2016)⁽¹⁶⁾, en un estudio realizado en Cajamarca, Perú, tuvieron como objetivo demostrar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial del rizoma de *Zingiber officinale Roscoe* “Jengibre” en cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (cepas ATCC). La metodología se centró en la extracción del aceite esencial por hidrodestilación (arrastre con vapor) y la evaluación de la actividad antibacteriana mediante el método de difusión en disco (Kirby Bauer) y el método de los pocillos, utilizando diluciones del aceite al 10%, 50% y 100%. Los resultados mostraron que, a través de la difusión en disco, el aceite esencial de jengibre al 100% produjo halos de inhibición de 11 mm para *P. aeruginosa*, siendo esta actividad menor en comparación con los antibióticos de control (Amikacina y Ciprofloxacino). La conclusión principal fue que el aceite esencial de *Zingiber officinale* sí presenta efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Pseudomonas aeruginosa*, lo que justifica su investigación como alternativa natural, a pesar de que la potencia demostrada fue inferior a la de los antibióticos convencionales.

2.3. Bases teóricas

2.3.1 Infecciones nosocomiales

Las infecciones nosocomiales, también conocidas como infecciones intrahospitalarias, se refieren a aquellas adquiridas durante la estancia en un hospital. Sin embargo, el alcance de las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria ha evolucionado más allá del ámbito hospitalario debido a los avances tecnológicos que permiten la atención médica en entornos no hospitalarios. La prevención de estas infecciones es de suma importancia, dado que la implementación de programas preventivos puede evitar un alto porcentaje de ellas, salvando vidas y reduciendo costos. Además, se destacan los principales tipos de infecciones

nosocomiales abordados en el artículo, como las del tracto respiratorio, localización quirúrgica y urinaria ⁽¹⁷⁾. El impacto de las infecciones nosocomiales es significativo, ya que conllevan una elevada mortalidad, prolongan la estancia hospitalaria y aumentan los costos asistenciales. Según estimaciones del National Nosocomial Infection Surveillance System (NNIS) de Estados Unidos, se registraron más de 1,7 millones de infecciones nosocomiales y alrededor de 100.000 muertes anuales a causa de ellas. Estas infecciones figuran entre las 10 causas más frecuentes de muerte en el país. En Perú, la epidemiología de las infecciones nosocomiales presenta particularidades propias del contexto sanitario y socioeconómico del país. Se requiere un estudio exhaustivo para comprender los factores que contribuyen a su incidencia y prevalencia, así como para diseñar estrategias efectivas de prevención y control ⁽¹⁸⁾.

2.2.2. Resistencia a los antibióticos: ⁽¹⁹⁾

La resistencia a los antibióticos, también conocida como resistencia antimicrobiana, es un fenómeno que amenaza la eficacia de los tratamientos médicos y la salud pública en todo el mundo. Este problema surge cuando los microorganismos, como bacterias, virus y hongos, desarrollan la capacidad de resistir los efectos de los antibióticos y otros medicamentos antimicrobianos, lo que dificulta el tratamiento de las infecciones asociadas y puede resultar en consecuencias graves, incluida la muerte. La resistencia antimicrobiana es considerada una de las mayores amenazas para la salud global y tiene profundas implicaciones en la medicina moderna y la atención médica. Las causas de la resistencia a los antibióticos son diversas e incluyen:

- Uso inapropiado de antibióticos: La prescripción y el uso indebido de antibióticos, como tomar dosis inadecuadas o no completar el ciclo de tratamiento, pueden fomentar el desarrollo de resistencia.

- Uso excesivo de antibióticos: El uso excesivo de antibióticos en la atención médica, la agricultura y la ganadería ha contribuido a la propagación de la resistencia a nivel mundial.
- Transmisión de resistencia: Las bacterias resistentes a los antibióticos pueden transmitirse de persona a persona y propagarse en entornos de atención médica y comunitarios.
- Falta de nuevos antibióticos: La investigación y el desarrollo de nuevos antibióticos se han ralentizado en las últimas décadas, lo que limita las opciones de tratamiento cuando las infecciones resistentes a los antibióticos se vuelven más comunes.

En el contexto de Perú, la resistencia a los antibióticos es un problema relevante que requiere atención urgente debido a la alta prevalencia de bacterias resistentes a múltiples antibióticos observada en diferentes entornos, desde hospitales hasta comunidades rurales. Esta situación se ve agravada por factores como la automedicación y la falta de acceso a atención médica de calidad en ciertas regiones del país. La resistencia antimicrobiana plantea desafíos graves para la atención médica, ya que las infecciones que eran tratables en el pasado pueden volverse intratables. Por lo tanto, es fundamental llevar a cabo estudios y vigilancia de la resistencia antimicrobiana para comprender la magnitud del problema y desarrollar estrategias efectivas de control y prevención. Para abordar este desafío, es esencial promover el uso responsable de antibióticos y realizar inversiones en investigación y desarrollo de nuevos medicamentos, incluyendo aquellos basados en fitoconstituyentes presentes en plantas, como los aceites esenciales.

2.2.3. Tipos de resistencia bacteriana ^(19,20)

- Resistencia Natural (Intrínseca): este tipo de resistencia es innata y se encuentra en todas las cepas de una especie bacteriana. No es adquirida por mutación o por transferencia de genes. La resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a la penicilina G debido a la impermeabilidad de su membrana externa.
- Resistencia Adquirida: este tipo de resistencia se desarrolla en una bacteria que inicialmente era sensible al antibiótico, generalmente a través de mutaciones o adquisición de genes de resistencia. La resistencia de *Staphylococcus aureus* a la meticilina (MRSA) debido a la adquisición del gen *mecA*.
- Resistencia Cruzada: ocurre cuando una bacteria adquiere resistencia a múltiples antibióticos que tienen mecanismos de acción similares. La resistencia de *Enterobacteriaceae* a múltiples betalactámicos debido a la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).
- Resistencia por Mutación: se debe a cambios en el material genético de la bacteria que alteran la diana del antibiótico, la permeabilidad de la membrana o la expresión de bombas de expulsión. La resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* a la rifampicina por mutaciones en el gen *rpoB*.
- Resistencia Mediada por Plásmidos: los plásmidos son fragmentos de ADN extracromosómico que pueden transferirse entre bacterias, llevando genes de resistencia. La resistencia a los aminoglucósidos en *Enterobacteriaceae* debido a plásmidos que portan genes de modificación enzimática.
- Resistencia por Bombas de Expulsión: las bombas de expulsión son proteínas que expulsan el antibiótico fuera de la célula bacteriana, reduciendo su concentración intracelular y eficacia. La resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a múltiples antibióticos debido a la sobreexpresión de bombas de expulsión como MexAB-OprM.

- Resistencia por Alteración del Sitio de Acción: Las bacterias pueden modificar el sitio de acción del antibiótico, impidiendo su unión y efecto. La resistencia de *Streptococcus pneumoniae* a los macrólidos por metilación del ARN ribosomal que impide la unión del antibiótico.

2.2.4. Bacterias MDR

Son microorganismos que han desarrollado resistencia a múltiples clases de antibióticos, haciendo que las opciones de tratamiento sean limitadas y complejas. Estas bacterias poseen mecanismos de resistencia que les permiten sobrevivir a las concentraciones de antibióticos que normalmente matarían o inhibirían su crecimiento. La resistencia puede ser intrínseca, adquirida a través de mutaciones, o mediante la adquisición de genes de resistencia por transferencia horizontal.

A. *Pseudomonas aeruginosa* MDR (MDRPA) ⁽²¹⁾

Es una bacteria Gram-negativa oportunista, aeróbica, que se encuentra en diversos entornos, incluidos suelos, agua y ambientes hospitalarios. Es conocida por su capacidad de adaptación a diferentes condiciones y su habilidad para causar infecciones nosocomiales y comunitarias, especialmente en pacientes inmunocomprometidos o con dispositivos médicos. Esta bacteria produce una amplia gama de enzimas y toxinas, lo que contribuye a su virulencia y resistencia a los antibióticos.

La resistencia antibiótica en *Pseudomonas aeruginosa* es un problema significativo en el ámbito clínico, ya que la bacteria puede desarrollar resistencia a múltiples clases de antibióticos, incluidos los carbapenémicos y los antibióticos de último recurso, como las polimixinas. Esta resistencia se debe a mecanismos intrínsecos de la bacteria, como la expresión de bombas de eflujo y la producción de enzimas que modifican o degradan los antibióticos, así como a la capacidad de adquirir genes de resistencia a través de la transferencia horizontal de genes.

La epidemiología de *Pseudomonas aeruginosa* varía según la región y el entorno. A nivel mundial, es una de las principales causas de infecciones nosocomiales, como neumonía asociada a ventilador, infecciones del tracto urinario y sepsis. En Perú, *Pseudomonas aeruginosa* también representa una preocupación, especialmente en entornos hospitalarios donde se ha observado una alta prevalencia de cepas resistentes a los antibióticos. El control de la propagación de estas cepas requiere una vigilancia epidemiológica continua y estrategias de prevención y control de infecciones efectivas.

2.2.5. Pruebas bioquímicas

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria Gram-negativa, bacilo móvil (flagelo polar) y no esporulada, que se caracteriza por su metabolismo oxidativo, pero no fermentativo de carbohidratos. Entre las pruebas bioquímicas fundamentales para su identificación se incluyen la tinción de Gram (obtiene bacilos rosados bajo microscopio), la motilidad, la prueba de oxidasa (positiva), catalasa (positiva), y la capacidad de oxidar glucosa en medio OF (Oxidation-Fermentation) pero sin fermentar azúcares como lactosa, maltosa, sacarosa u otros que suelen ser fermentados por enterobacterias. Se utiliza también la prueba de utilización de citrato (positiva), la producción de gelatinasa y la hidrólisis de gelatina (gelatinasa positiva), y la actividad de reducción de nitratos (positiva), lo que distingue a *P. aeruginosa* de muchas otras bacterias no fermentadoras⁽²²⁾.

Otra prueba importante para confirmar la especie es el crecimiento a 42 °C, el cual *P. aeruginosa* suele tolerar, mientras que muchas especies no fermentadoras cercanas no lo hacen o lo hacen de forma muy débil. Este rasgo unido al uso de medios selectivos como agar cetrímidra, que favorece el crecimiento de *P. aeruginosa* y ayuda a destacar sus pigmentos característicos (como la piocianina: pigmento azul-verde soluble, y la pioverdina: amarillo-verde fluorescente bajo luz UV), refuerza el diagnóstico. También se utilizan pruebas negativas como Voges-Proskauer (VP), Indol, Methyl Red, producción de H₂S, fermentación de azúcares

que no son oxidados; todos estos ayudan a diferenciar *P. aeruginosa* de otros bacilos Gram negativos⁽²³⁾.

2.2.6. *Eucalyptus globulus*

Comúnmente conocido como eucalipto azul, es una especie de árbol perteneciente al género *Eucalyptus* originaria de Australia, aunque se ha naturalizado en otras regiones del mundo como en nuestra región de Cajamarca, siendo una especie habitual de ver en nuestro entorno rural. Es un árbol grande y perenne que puede crecer hasta alturas de 30 a 55 metros. Su tronco es recto y cilíndrico, y su corteza se desprende en tiras, revelando una corteza subyacente de color más claro. Las hojas son lanceoladas, de color verde azulado o verde grisáceo, y tienen un aroma distintivo a eucalipto, provocado por los aceites esenciales que contiene. Las flores son pequeñas, de color blanco a crema, y se agrupan en inflorescencias del tipo umbela^(24,25).

El eucalipto (*Eucalyptus*) es conocido por contener una variedad de fitoconstituyentes, que son compuestos químicos naturales que se encuentran en las plantas. Los fitoconstituyentes del eucalipto varían según la especie específica de eucalipto, pero algunos de los fitoconstituyentes comunes que se pueden encontrar en varias especies de eucalipto incluyen^(26,27):

- *1,8-cineol* (eucaliptol): Es el compuesto más abundante en el aceite esencial de eucalipto y es responsable de su aroma distintivo a eucalipto. También es conocido por sus propiedades expectorantes y antiinflamatorias, lo que lo hace útil para aliviar la congestión y problemas respiratorios.
- α -Pineno: Es otro terpeno que contribuye al aroma fresco y limpio del eucalipto. Tiene propiedades antibacterianas y antiinflamatorias.

- Limoneno: Este compuesto se encuentra en muchas plantas cítricas, y en el aceite esencial de eucalipto, aporta una nota cítrica al aroma. También tiene propiedades antimicrobianas y se utiliza en la fabricación de productos de limpieza.
- α -Terpineol: Un alcohol terpénico que aporta un aroma agradable y refrescante al aceite esencial de eucalipto. Se le atribuyen propiedades antisépticas y expectorantes.
- Piperitona: Este compuesto es responsable de la sensación de frescura y menta que se asocia a algunas variedades de eucalipto.
- α -Citronelal: Contribuye a las notas cítricas del aroma del aceite esencial de eucalipto y también tiene propiedades repelentes de insectos.
- Globulol: Otro componente importante del aceite esencial de eucalipto, que contribuye a sus propiedades antibacterianas y antiinflamatorias.



2.2.7. *Zingiber officinale*

Comúnmente conocida como jengibre o kión, es una planta herbácea perenne perteneciente a la familia de las *Zingiberáceas*. Es nativa del sudeste asiático y es ampliamente cultivada en regiones tropicales y subtropicales por sus rizomas aromáticos que son utilizados en la cocina y la medicina tradicional ^(28,29).

El rizoma de *Zingiber officinale* es la parte subterránea de la planta, de color marrón claro por fuera y amarillento por dentro, grueso, ramificado y con una textura fibrosa, y es la parte más utilizada tanto fresca como seca para diversas aplicaciones culinarias y medicinales.

Los tallos son erectos, de 1 a 1.5 metros de altura, formados por vainas foliares envolventes que crean pseudotallos. Las hojas son alternas, lineares o lanceoladas, de color verde brillante, alcanzando hasta 20 cm de largo y 2 cm de ancho, con una base envainadora que rodea el tallo. Las flores, de color amarillo verdoso con puntas púrpuras, se agrupan en inflorescencias compactas en espiga que emergen directamente del rizoma, son hermafroditas y poseen un aroma distintivo ⁽³⁰⁾.

Los principales componentes del jengibre incluyen aceites esenciales como el zingibereno, curcumeno, beta-bisaboleno, geraniol, linalool y cineol. Entre los compuestos fenólicos, los gingeroles son los más abundantes en el jengibre fresco, destacando el *[6]-gingerol*; durante el secado y almacenamiento se forman los shogaoles, siendo el *[6]-shogaol* uno de los más importantes. Los paradoles también contribuyen al sabor picante del jengibre. Otros componentes incluyen la zingerona, formada durante el cocinado y con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, además de los terpenoides, que aportan al aroma y propiedades medicinales, y los flavonoides, conocidos por sus propiedades antioxidantes ^(29,31).



2.2.8. Aceites esenciales

Son productos obtenidos por extracción de materias primas vegetales, en los que se encuentran concentrados sabores y aromas característicos. Están compuestos por mezclas complejas de hidrocarburos, compuestos oxigenados y residuos no volátiles. Se encuentran en glándulas o vesículas secretoras inmersas en los tejidos de las hojas, flores, cáscara y semillas de los frutos de muchas especies vegetales ⁽³²⁾. Los aceites esenciales son conocidos por sus propiedades antimicrobianas, lo que significa que tienen la capacidad de combatir microorganismos, como bacterias, virus y hongos. Estas propiedades antimicrobianas pueden hacer que los aceites esenciales sean útiles en una variedad de aplicaciones relacionadas con la salud y la higiene ^(33,34).

- Acción Bactericida: tienen propiedades bactericidas, lo que significa que pueden matar o inhibir el crecimiento de bacterias patógenas. Por ejemplo, el aceite de árbol de té y el aceite de orégano, el aceite esencial de eucalipto y de jengibre son conocidos por sus propiedades antibacterianas.
- Acción Virucida: pueden ser efectivos contra virus. El aceite esencial de eucalipto, por ejemplo, se ha utilizado tradicionalmente para ayudar a aliviar los síntomas del resfriado y la gripe debido a sus propiedades antivirales.
- Acción Fungicida: pueden combatir infecciones por hongos. El aceite de clavo, por ejemplo, tiene propiedades antifúngicas y se ha utilizado para tratar infecciones por hongos en las uñas y la piel.
- Higiene Oral: el aceite de menta, se utilizan en pastas de dientes y enjuagues bucales debido a sus propiedades antibacterianas y refrescantes.
- Cicatrización de Heridas: Algunos aceites esenciales, como el aceite de lavanda, se han utilizado en la terapia de heridas para ayudar a prevenir infecciones y promover la cicatrización.

2.2.9. Fitoconstituyentes de los aceites esenciales

Los aceites esenciales contienen una variedad de fitoconstituyentes, que son compuestos químicos naturales que se encuentran en las plantas y que les confieren sus propiedades aromáticas y terapéuticas. Estos fitoconstituyentes varían según la especie específica de la planta y pueden incluir hidrocarburos, compuestos oxigenados y otros componentes bioactivos. Uno de los fitoconstituyentes más comunes en los aceites esenciales es el 1,8-cineol, también conocido como eucaliptol, que es el compuesto más abundante y responsable del característico aroma a eucalipto y que además podemos encontrarlo presente en el aceite esencial de jengibre. El *1,8-cineol* tiene propiedades expectorantes y antiinflamatorias, lo que lo hace útil para aliviar la congestión y problemas respiratorios^(32,35).

Además del *1,8-cineol*, otros fitoconstituyentes comunes en los aceites esenciales incluyen el α -pineno, el limoneno, el α -terpineol, la piperitona, el α -citronelal y el globulol, entre otros. Estos compuestos tienen una variedad de propiedades terapéuticas, que van desde propiedades antibacterianas y antifúngicas hasta propiedades calmantes y analgésicas. Por ejemplo, el α -pineno y el limoneno tienen propiedades antibacterianas y antiinflamatorias, mientras que el α -terpineol y la piperitona tienen propiedades antisépticas y expectorantes. Estos fitoconstituyentes actúan sinérgicamente para proporcionar los beneficios terapéuticos de los aceites esenciales y pueden ser utilizados en una variedad de aplicaciones, como aromaterapia, cuidado de la piel, y tratamiento de enfermedades respiratorias y digestivas^(32,36).

2.2.10. Métodos de extracción

2.2.10.1. Método de arrastre por vapor

La destilación por arrastre de vapor es uno de los métodos más antiguos y ampliamente utilizados para extraer aceites esenciales de plantas aromáticas. Este proceso implica el uso de vapor de agua para liberar los componentes volátiles de las partes de la planta, como las flores, hojas o tallos. La planta se coloca en una cámara de destilación junto con agua, y se calienta

hasta que el vapor de agua atraviesa la planta, llevándose consigo los aceites esenciales. El vapor que contiene los compuestos volátiles pasa luego a través de un condensador, donde se enfriá y se convierte nuevamente en agua y aceites esenciales. Estos dos líquidos se separan posteriormente, y el aceite esencial, que es menos denso que el agua, flota en la superficie y se recoge⁽³⁷⁾.

Uno de los aspectos clave de la destilación por arrastre de vapor es el control preciso de la temperatura y la presión. Es importante mantener la temperatura lo suficientemente alta como para liberar los aceites esenciales de la planta, pero no tan alta como para dañar los compuestos sensibles al calor. Además, la presión del vapor debe ser ajustada para garantizar que se produzca una extracción eficiente de los aceites esenciales. Este método es particularmente efectivo para plantas con altas concentraciones de compuestos volátiles, como la lavanda, el eucalipto y la menta. La destilación por arrastre de vapor es una técnica versátil que permite obtener aceites esenciales puros y de alta calidad, que se utilizan en una amplia gama de aplicaciones, desde la aromaterapia hasta la fabricación de productos cosméticos y farmacéuticos⁽³⁷⁾.

2.2.11. Eucaliptol (1,8 cineol)

Es un monoterpeno bicíclico que se encuentra en varios aceites esenciales de plantas como el *Eucalyptus globulus*, el *Rosmarinus officinalis*, el *Origanum vulgare*, el *Thymus vulgaris*, el *Coriandrum sativum* y el *Zingiber officinale*. El 1,8-cineol induce estrés oxidativo en las células bacterianas al aumentar la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS). Cuando se trataron cepas de SARM con diversas dosis de 1,8- cineol, se produjo un aumento de la generación de ROS en comparación con las células no tratadas. La afluencia de ROS generadas afecta a la actividad de las enzimas antioxidantes y ataca a las macromoléculas, lo que provoca daños bacterianos y la muerte celular⁽³⁸⁾.

El 1,8-cineol ha demostrado su potencial como agente antimicrobiano con diversas aplicaciones. Algunas de las aplicaciones potenciales del *1,8-cineol* como agente antimicrobiano incluyen^(39,40):

- Tratamiento de infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM):
El *1,8-cineol* ha demostrado una fuerte actividad antibacteriana contra cepas de MRSA, incluyendo tanto cepas de referencia como aislados clínicos. Se ha demostrado que inhibe el crecimiento del SARM y altera la integridad de la membrana bacteriana, provocando la muerte celular⁽⁴¹⁾.
- Actividad antibiolípica: Se ha descubierto que el *1,8-cineol* posee actividad antibiolípica frente a cepas de SARM. Puede inhibir la formación de biolípicas y reducir la viabilidad de las preformadas, lo que lo convierte en un agente potencial para combatir las infecciones asociadas a biolípicas^(40,42).
- Alternativa a los antibióticos convencionales: Debido a la aparición de bacterias resistentes a los medicamentos y a la disminución de la eficacia de los antibióticos tradicionales, se necesitan agentes antimicrobianos alternativos. El *1,8-cineol*, como compuesto natural, ofrece una alternativa potencial a los antibióticos convencionales para el tratamiento de infecciones bacterianas.
- Terapia combinada: El *1,8-cineol* ha mostrado efectos sinérgicos cuando se utiliza en combinación con antibióticos convencionales como la oxacilina contra cepas de SARM. Esto sugiere que podría utilizarse como terapia complementaria para mejorar la eficacia de los antibióticos existentes.
- Potencial para el desarrollo de nuevos agentes antiinfecciosos: La potencia antibacteriana del *1,8-cineol* y su capacidad para inducir el estrés oxidativo en las cepas de SARM⁽⁴¹⁾.

2.2.12. Actividad antibacteriana del aceite esencial de eucalipto

El aceite esencial de eucalipto ha sido reconocido tradicionalmente por su actividad antibacteriana debido a su composición química única. Uno de los componentes principales del aceite esencial de eucalipto es el *1,8-cineol*, también conocido como eucaliptol, que constituye una parte significativa de su contenido. Este compuesto ha demostrado poseer propiedades antimicrobianas, inhibiendo el crecimiento de una variedad de bacterias, incluidas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Además del *1,8-cineol*, el aceite esencial de eucalipto contiene otros componentes como alcoholes, aldehídos y ésteres, que también pueden contribuir a su actividad antibacteriana ⁽⁴³⁾.

Otro mecanismo por el cual el aceite esencial de eucalipto exhibe actividad antibacteriana es su capacidad para perturbar las membranas celulares de las bacterias. Los componentes del aceite esencial pueden penetrar en la estructura de la membrana celular bacteriana, alterando su integridad y permeabilidad. Esto puede provocar la pérdida de nutrientes y la salida de componentes esenciales, lo que eventualmente conduce a la muerte de la bacteria. Además, algunos componentes del aceite esencial de eucalipto pueden interferir con procesos metabólicos vitales de las bacterias, como la síntesis de proteínas o la respiración celular, lo que contribuye aún más a su actividad antibacteriana ^(44,45).

Además de su acción directa sobre las bacterias, el aceite esencial de eucalipto también puede ejercer efectos beneficiosos sobre el sistema inmunológico del cuerpo. Se ha sugerido que los compuestos volátiles presentes en el aceite esencial pueden estimular la actividad de los glóbulos blancos, células responsables de combatir infecciones, lo que podría ayudar a fortalecer la respuesta del organismo frente a las bacterias patógenas. En conjunto, estos diversos mecanismos hacen del aceite esencial de eucalipto un agente prometedor en la lucha contra las infecciones bacterianas y respaldan su uso histórico como tratamiento antimicrobiano ^(46,47).

2.2.13. Actividad antibacteriana del aceite esencial de jengibre

El aceite esencial de jengibre, obtenido principalmente del rizoma de *Zingiber officinale*, ha demostrado poseer una notable actividad antibacteriana contra una variedad de bacterias patógenas. Esta actividad se atribuye a la presencia de compuestos bioactivos como los sesquiterpenos (zingibereno) y los monoterpenos (como el cineol y el geraniol), que han mostrado eficacia en inhibir el crecimiento de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Estos componentes actúan alterando la permeabilidad de la membrana celular bacteriana, lo que provoca la lisis celular y la muerte de la bacteria^(48,49).

Los estudios han revelado que el aceite esencial de jengibre es efectivo contra bacterias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*. En investigaciones específicas, se ha observado que el aceite esencial inhibe la proliferación bacteriana a concentraciones relativamente bajas, lo que sugiere un potencial uso terapéutico en el tratamiento de infecciones bacterianas. Además, la combinación de aceite esencial de jengibre con antibióticos convencionales ha mostrado un efecto sinérgico, mejorando la eficacia de los tratamientos antibacterianos y reduciendo la resistencia bacteriana^(50,51).

La actividad antibacteriana del aceite esencial de jengibre no solo es relevante en el ámbito médico, sino también en la industria alimentaria, donde se utiliza como conservante natural para prolongar la vida útil de los productos alimenticios al inhibir el crecimiento de bacterias patógenas. Este enfoque no solo mejora la seguridad alimentaria, sino que también responde a la creciente demanda de productos libres de conservantes químicos. La investigación continúa explorando el amplio espectro de acción del aceite esencial de jengibre, buscando aplicaciones prácticas y eficientes tanto en la salud humana como en la preservación de alimentos⁽⁵²⁾.

2.2.14. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Es una medida utilizada en microbiología para determinar la menor concentración de un agente antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo en cultivo. Se realiza mediante pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, donde se expone al microorganismo a diferentes concentraciones del agente antimicrobiano y se observa cuál es la concentración más baja que evita su crecimiento. La CMI es importante en el tratamiento de infecciones, ya que indica la eficacia del agente antimicrobiano contra el microorganismo causante de la enfermedad. Cuanto menor sea la CMI, más efectivo será el agente antimicrobiano para eliminar la bacteria⁽⁵³⁾.

En el contexto de las bacterias multirresistentes comunes en unidades de cuidados intensivos (UCI), la determinación de la CMI es crucial debido a la alta prevalencia de cepas resistentes a múltiples fármacos en este entorno clínico. Las bacterias multirresistentes, como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), *Enterococcus* resistente a la vancomicina (VRE) y diversas cepas de Enterobacterias resistentes a carbapenémicos (CRE), representan un desafío significativo en el tratamiento de las infecciones nosocomiales. La evaluación de la CMI de los antimicrobianos frente a estas bacterias permite seleccionar el tratamiento más adecuado y evitar el uso de fármacos a los que las bacterias son resistentes, lo que ayuda a prevenir la propagación de la resistencia antimicrobiana en el entorno hospitalario⁽⁵⁴⁾.

2.2.15. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

La concentración mínima bactericida (CMB) es la concentración más baja de un agente antimicrobiano que mata a un microorganismo en particular. Esta medida es esencial para evaluar la eficacia de los antimicrobianos y su capacidad para erradicar completamente la población bacteriana. La determinación de la CMB se lleva a cabo mediante pruebas de dilución seriada, donde se exponen los microorganismos a diferentes concentraciones del

agente antimicrobiano y se evalúa si estas concentraciones son capaces de eliminar completamente el crecimiento bacteriano. Por lo general, se considera que una concentración que resulta en una reducción de al menos el 99.9% en la densidad bacteriana es bactericida⁽⁵⁵⁾.

En el ámbito clínico, la determinación de la CMB es crucial para evaluar la eficacia de los antimicrobianos frente a patógenos resistentes, como las bacterias MDR, que representan un desafío significativo para el tratamiento clínico. La identificación de los antimicrobianos que conservan su capacidad bactericida contra estas bacterias resistentes es fundamental para orientar el tratamiento antimicrobiano adecuado y evitar el desarrollo de resistencia antimicrobiana adicional. Además, la CMB puede variar según el tipo de microorganismo y la cepa, lo que resalta la importancia de realizar pruebas específicas para cada agente antimicrobiano y microorganismo⁽⁵⁶⁾. Los estudios de CMB también son fundamentales en la investigación microbiológica y farmacéutica para evaluar la actividad bactericida de nuevos agentes antimicrobianos o formulaciones. Proporcionan información crucial sobre la potencia y eficacia de los agentes antimicrobianos en la erradicación de bacterias, lo que contribuye al desarrollo y optimización de terapias antimicrobianas más efectivas y al diseño de estrategias para combatir la resistencia antimicrobiana.

2.2.16. Escala de Duraffourd

Es un sistema de referencia cualitativo utilizado en microbiología para evaluar la actividad antimicrobiana de sustancias naturales o sintéticas, especialmente aceites esenciales y extractos vegetales, mediante la medición de los halos de inhibición en pruebas de difusión en agar. Fue propuesta por Duraffourd y colaboradores como una manera práctica de categorizar el grado de sensibilidad de los microorganismos frente a un agente antimicrobiano, en función del diámetro del halo de inhibición producido^(57,58).

De acuerdo con esta escala, se interpreta el efecto antimicrobiano en rangos de diámetros medidos en milímetros (mm):

- < 8 mm: sensibilidad nula
- 8 – 14 mm: sensibilidad baja.
- 15 – 19 mm: sensibilidad media.
- ≥ 20 mm: sensibilidad alta.

Su aplicación resulta muy útil en estudios de cribado y evaluación in vitro, ya que permite comparar de manera estandarizada la eficacia de diferentes aceites esenciales o compuestos frente a cepas bacterianas, incluidas las MDR. En investigaciones recientes, la escala de Duraffourd ha sido empleada como criterio de análisis para la interpretación de resultados en pruebas de sensibilidad antimicrobiana, contribuyendo a establecer la potencialidad terapéutica de productos naturales como el *Eucalyptus globulus* y el *Zingiber officinale*, entre otros.

2.2.17. Métodos de Método de Kirby-Bauer (Difusión en Disco)

El método de Kirby-Bauer, también denominado técnica de difusión en disco, es uno de los procedimientos estandarizados más utilizados a nivel mundial para evaluar la sensibilidad antimicrobiana de bacterias frente a diferentes agentes antimicrobianos. Su fundamento consiste en la colocación de discos de papel filtro impregnados con concentraciones conocidas de antibióticos sobre la superficie de una placa de agar Mueller-Hinton previamente inoculada con una suspensión bacteriana ajustada a un estándar de turbidez (habitualmente 0,5 de McFarland). Tras la incubación a 35 ± 2 °C durante 16–18 horas, los antimicrobianos difunden radialmente desde los discos hacia el medio, generando gradientes de concentración⁽⁵⁹⁾.

El resultado se evalúa midiendo los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco, los cuales reflejan la capacidad del antimicrobiano para inhibir el crecimiento bacteriano. La interpretación de estos diámetros se realiza siguiendo tablas de referencia internacionales, principalmente del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) y del European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), que clasifican a los microorganismos como sensibles, intermedios o resistentes según puntos de corte establecidos para cada antibiótico y especie bacteriana ⁽⁶⁰⁾.

Este método es ampliamente empleado en la práctica clínica y en investigación debido a su simplicidad, bajo costo, reproducibilidad y utilidad comparativa. Sin embargo, presenta limitaciones como la imposibilidad de determinar concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) exactas y la sensibilidad a factores como la composición del medio, la densidad del inóculo y las condiciones de incubación. A pesar de ello, sigue siendo un estándar de oro para la evaluación inicial de la resistencia bacteriana y para el monitoreo de la eficacia de antimicrobianos convencionales y alternativos, incluyendo los aceites esenciales y extractos naturales en investigaciones experimentales.

2.4. Definición de términos básicos

- **Fenotipo de resistencia:** El fenotipo de resistencia se refiere a la manifestación observable de la resistencia antimicrobiana por parte de un microorganismo. Esto puede incluir la capacidad de un microorganismo para crecer en presencia de concentraciones de antimicrobianos que inhibirían o matarían a las cepas sensibles. El fenotipo de resistencia puede variar según el tipo de antimicrobiano y la cepa bacteriana específica.
- **Sinergismo:** El sinergismo se refiere a la interacción entre dos o más agentes antimicrobianos que produce un efecto combinado mayor que la suma de los efectos individuales de cada agente. En otras palabras, cuando dos o más antimicrobianos se utilizan juntos, su efecto conjunto es más potente que la suma de sus efectos individuales. Esto puede aumentar la eficacia del tratamiento antimicrobiano y reducir el riesgo de resistencia bacteriana.
- **Halo de inhibición:** El halo de inhibición es el área transparente alrededor de un disco impregnado de antimicrobiano en una placa de agar después de la incubación. Este halo se forma porque el antimicrobiano se difunde desde el disco hacia el medio de cultivo, inhibiendo o matando las bacterias en su vecindad. El diámetro del halo de inhibición se utiliza para interpretar la sensibilidad o resistencia de las bacterias a un antimicrobiano específico.
- **Estrés oxidativo:** El estrés oxidativo es un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) y la capacidad de un organismo para neutralizar o detoxificar estos compuestos. Las ROS incluyen radicales libres como el superóxido, el peróxido de hidrógeno y los radicales hidroxilos, y pueden causar daño a las biomoléculas celulares como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. El estrés oxidativo puede estar implicado en diversas enfermedades y procesos patológicos, así como en la respuesta inmune del cuerpo a las infecciones.

CAPÍTULO 3

DISEÑO DE LA CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

3.1. Nivel de investigación

- Investigación básica

3.2. Tipo de investigación

- Investigación experimental pura

3.3. Enfoque de la investigación

- Investigación cuali-cuantitativa

3.4. Dimensión temporal de la investigación

- Investigación transversal

3.5. Material biológico

3.5.1. Material biológico vegetal

- Hojas frescas de *Eucalyptus globulus*.

Criterios de inclusión:

- Hojas frescas, enteras y sanas, libres de evidencia visible de enfermedad, daño mecánico significativo o infestación por plagas.
- Material recolectado de la misma fuente geográfica y en la misma etapa fenológica (madurez) para asegurar la consistencia del perfil fitoquímico

Criterios de exclusión:

- Hojas secas, senescentes o visiblemente deterioradas.
- Material con evidencia de tratamiento químico.
- Hojas con crecimiento fúngico o colonización microbiana aparente.

- Rizoma de *Zingiber officinale*.

Criterios de inclusión:

- Rizomas frescos, firmes, sin brotes significativos y libres de daños o podredumbre.
- Rizomas obtenidos de proveedores locales o con trazabilidad conocida para asegurar la calidad y edad similar

Criterios de exclusión:

- Rizomas secos o procesados
- Rizomas que presenten signos de pudrición o descomposición.
- Material que no cumpla con los estándares mínimos de calidad para la extracción.

3.5.2. Material biológico bacteriano

12 cepas utilizadas son *Pseudomonas aeruginosa* obtenidas en el año 2024 por el Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública de Cajamarca.

Criterios de inclusión:

- Cepas clínicas (no cepas de referencia como ATCC).
- Cepas identificadas y confirmadas como *Pseudomonas aeruginosa* mediante pruebas bioquímicas estándar o técnicas moleculares.
- Cepas que presenten el fenotipo de multidrogoresistencia, confirmado por el antibiograma del Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública de Cajamarca.
- Aislamientos obtenidos y almacenados según los protocolos estándar del Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública de Cajamarca.

Criterios de exclusión:

- Cepas sensibles o resistentes únicamente a uno o dos antibióticos (que no cumplen el criterio MDR).
- Cultivos que presenten contaminación con otras especies bacterianas o fúngicas.
- Cepas cuya viabilidad y pureza no pueda ser restablecida mediante resiembra.

3.6. Población, Muestra y Unidad de análisis

3.6.1. Población

Población Bacteriana: Todas las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogorresistente (MDR) aisladas de pacientes y registradas por el Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública de Cajamarca durante el año 2024.

Población Vegetal: La totalidad de plantas de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) y *Zingiber officinale* (Jengibre) disponibles en la zona de recolección para la extracción de aceites esenciales.

3.6.2. Muestra

Muestra Bacteriana: Doce (12) cepas específicas de *Pseudomonas aeruginosa* MDR seleccionadas del archivo de cepas del Laboratorio de Referencia Regional de Salud Pública de Cajamarca para ser evaluadas en los ensayos *in vitro*.

Muestra Vegetal: La cantidad de hojas frescas de *Eucalyptus globulus* y la cantidad de rizomas de *Zingiber officinale* necesarios y suficientes para realizar la destilación por arrastre de vapor y obtener las concentraciones requeridas para todas las pruebas de difusión, CMI y CMB.

3.6.3. Unidad de análisis

Cada cepa individual de *Pseudomonas aeruginosa* MDR sometida a la prueba de antibiograma con los aceites esenciales.

3.7. Lugar de muestreo

- Las hojas frescas de *Eucalyptus globulus* fueron colectadas en la provincia de Cajamarca, ubicado a 2750 m.s.n.m.
- Los rizomas de *Zingiber officinale* fueron colectados en la provincia de Cajamarca, ubicado a 2750 m.s.n.m.

3.8. Toma de muestras vegetales

- Se colectaron aproximadamente 15 kg de hojas frescas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) en cajas de Tecnopor, para luego ser trasladadas a los laboratorios de Biología de la Universidad Nacional de Cajamarca para realizar la extracción de su aceite esencial.
- Se colectaron aproximadamente 30 kg de rizomas frescos de *Zingiber officinale* (jengibre) en cajas de Tecnopor, para luego ser trasladadas a los laboratorios de Biología de la Universidad Nacional de Cajamarca para realizar la extracción de su aceite esencial.

3.9. Obtención de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale*

Se empleó el método de destilación por arrastre con vapor de agua.

- Primero se secó la materia vegetal (hojas de eucalipto y rizoma de jengibre).
- Luego se colocó la materia vegetal (jengibre: rizomas cortados en finas láminas y secas; eucalipto: hojas secas y trituradas) en el recipiente del destilador, llenamos el tanque productor de vapor con agua.

- Se procedió a armar el destilador uniendo las tres partes (tanque de agua, recipiente de muestra vegetal y condensador o refrigerante), se conectó ambas mangueras al condensador (para entrada y salida de agua).
- Se esperó a que el agua aumentara su temperatura a 100°C y se dejó en funcionamiento la máquina destiladora por 3 horas aproximadamente.
- Se separa el aceite esencial por decantación
- Se recolectó 12 mL de aceite esencial de jengibre y 90 mL de aceite esencial de eucalipto en un frasco de color ámbar para evitar que se desnaturalice, posterior a ello se guardó a 4°C hasta su uso ⁽⁶¹⁾.

3.10. Reactivación y purificación de cepas

- Se realizó la reactivación de cepas en Agar Cetrimide (preparación según las indicaciones de fábrica).
- Se realizó la siembra de las 12 cepas en placas Petri de Agar Cetrimide (previamente se realizó control de calidad en una incubadora por 24 horas a 37°C).
- Se dejaron las placas Petri sembradas por 24 horas a 37°C.

3.11. Tinción Gram

- Tomamos una lámina portaobjetos limpia y agregamos 2 gotas de agua estéril.
- Tomamos con un asa de siembra estéril una colonia de *Pseudomonas aeruginosa* y extendemos la muestra en la gota de agua para formar un frotis fino y homogéneo.
- Dejamos secar al aire completamente.
- Cubrimos el frotis con cristal violeta por 1 minuto y enjuagamos con agua destilada.
- Luego cubrimos con lugol por 3 minutos y enjuagamos con agua destilada.
- Aplicamos alcohol-acetona por 10-15 segundos y enjuagamos con agua destilada.

- Finalmente cubrimos el frotis con safranina por 1 minuto y enjuagamos con agua destilada.
- Dejamos secar al aire libre y observamos en el microscopio con aceite de inmersión en el objetivo 100X.

3.12. Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas que se realizaron fueron Citrato de Simmons, TSI, LIA y SIM.

- Se inició tomando una colonia aislada en Agar Cetrimide para sembrar en la superficie del medio (pico de flauta) para la prueba del citrato.
- Para sembrar en medio TSI y LIA tomamos una colonia aislada y realizamos una siembra por puntura hasta la base del medio en el tubo de ensayo con medio para prueba TSI y LIA respectivamente, luego sembramos en la superficie del medio.
- Finalmente, para la prueba de SIM tomamos una colonia aislada y realizamos una siembra por puntura hasta el fondo del tubo con medio.
- Se dejó incubando por 24 horas a 37°C.

3.13. Antibiograma

- Se preparó el medio Mueller Hinton (según las indicaciones de fábrica) y realizamos pruebas de control de calidad dejando las placas con medio en la incubadora por 24 horas a 37°C.
- Colocamos en solución salina (NaCl 0,9%) algunas colonias hasta ajustar la densidad bacteriana de (medida en el densitómetro).
- Tomamos un hisopo estéril, la introducimos en el tubo con la concentración adecuada y procedemos a realizar tres repeticiones de siembra sobre las placas.

- Finalmente, colocamos los discos de antibióticos (Piperacilina-Tazobactam, ceftazidima, cefepime, imipenem, meropenem, gentamicina, aztreonam, norfloxacino y levofloxacino) y llevamos a incubar por 24 horas a 37°C.

3.14. Evaluación del efecto antibacteriano del aceite esencial de eucalipto, jengibre y combinación

3.14.1. Preparación de las Concentraciones del Aceite Esencial puro

- Aceite esencial al 100%: solo se utilizó 60 µL de aceite esencial
- Aceite esencial al 75%: se mezcló 45 µL de aceite esencial + 15 µL de alcohol de 70°.
- Aceite esencial al 50%: se mezcló 30 µL de aceite esencial + 30 µL de alcohol de 70°.

3.14.2. Preparación de las Concentraciones del Aceite Esencial combinado

- Aceite esencial al 100%: solo se utilizó 60 µL de aceite esencial de eucalipto y 60 µL de aceite esencial de jengibre
- Aceite esencial al 75%: se mezcló 45 µL de aceite esencial de eucalipto + 45 µL de aceite esencial de jengibre + 30 µL de alcohol de 70°.
- Aceite esencial al 50%: se mezcló 30 µL de aceite esencial de eucalipto + 30 µL de aceite esencial de jengibre + 60 µL de alcohol de 70°.

3.14.3. Prueba piloto (pruebas de sensibilidad – Kirby Bauer)

- Se realizó una prueba piloto para las pruebas de sensibilidad por difusión en disco para ajustar parámetros y además realizar una comparación del efecto antibacteriano de los aceites de eucalipto y jengibre frente a cepas con pigmentación (verde) y cepas sin pigmentación.

3.14.4. Reactivación de las Cepas

- Tomar una pequeña alícuota con un asa de siembra estéril y suspendemos en caldo nutritivo.
- Incubar a 37°C por 24 horas.

3.14.5. Siembra en Placa de Mueller-Hinton

- Sumergimos un hisopo estéril en la suspensión bacteriana ajustada en Solución Salina Fisiológica al 0,5 de Nefelómetro de McFarland.
- Se eliminó el exceso de líquido en las paredes del tubo.
- Sembramos por estriado en varias direcciones sobre la placa de Mueller-Hinton para lograr una cobertura homogénea.
- Dejamos secar la placa de 2 a 5 minutos.

3.14.6. Colocación de los Discos e incubación

- Se colocaron los discos limpios de difusión en una placa de Petri estéril.
- Impregnar los discos con 20 µL de cada concentración del aceite esencial: 100%, 75%, 50% y alcohol de 70°.
- Se colocaron los discos sobre la superficie del agar Mueller-Hinton con pinzas estériles, asegurando una separación mínima de 24 mm entre discos.
- Presionamos ligeramente cada disco para garantizar contacto con el medio.
- Incubamos las placas a 37°C por 24 horas en posición invertida y procedimos a realizar las mediciones.

3.15. Interpretación de sensibilidad

- Luego de las 24 horas de incubación, se observaron halos de inhibición de diferente diámetro.
- Realizamos las mediciones de los halos y procesamos los datos.

3.16. Evaluación del CMI y CMB de los aceites esenciales

3.16.1. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Se utilizó el método de Microdilución en medio líquido

- Se preparó en un matraz una solución madre de 10 mL que contenía: 1 mL del aceite esencial, 1 mL de alcohol (70°) y 8 mL de caldo Mueller Hinton.
- La concentración del aceite esencial (mg/mL) en la solución madre, se calculó teniendo en cuenta la densidad del aceite esencial (62).
- Luego, se sirvió la solución madre en 12 tubos de ensayo aumentando 100 uL en cada tubo.
- así mismo, la batería de tubos de ensayo se completó con 500 uL de inóculo bacteriano de la cepa bacteriana.
- Luego, se colocó caldo Mueller Hinton hasta completar un volumen total de 2500 uL.
- Así mismo, se calculó la concentración del aceite esencial en cada tubo de ensayo.
- Finalmente, se incubaron todos los tubos durante 24 horas a 37° C; cumplido el tiempo de incubación se determinó la CMI del aceite esencial que fue la concentración en mg/mL del aceite esencial que inhibió el crecimiento del inóculo bacteriano, esto se evidenció por la ausencia de turbidez en el tubo después del periodo de incubación.

3.16.2. Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Para establecer la Concentración Mínima Bactericida (CMB), se introdujo un hisopo estéril en los tubos correspondientes a la CMI que no mostraron turbidez y se inoculó en placas de agar

Mueller Hinton. Posteriormente, las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas, tras lo cual se realizó el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC). La CMB se definió como la concentración en la que se observó un crecimiento igual o inferior a 1 UFC por placa.

3.17. Determinación del rendimiento de extracción

Formula:

$$\text{Rendimiento} = \frac{W_{final} (AE)}{W_{inicial} (MV)} \times 100\%$$

Donde:

- **W_{final} (AE):** Peso final del aceite esencial
- **W_{inicial} (MV):** Peso inicial de la materia vegetal

3.18. Determinación de la densidad

Para determinar la densidad se tomó 1 mL del aceite esencial y se usó la siguiente fórmula:

$$\text{DENSIDAD} = \frac{m (g)}{v (ml)}$$

Donde:

- **m:** masa (en gramos)
- **v:** volumen (en mL)

3.19. Elaboración de las diferentes concentraciones del aceite esencial

Se empleó la siguiente fórmula para calcular los volúmenes necesarios:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Donde:

- **C1:** concentración inicial
- **V1:** volumen inicial
- **C2:** concentración final
- **V2:** volumen final

3.17. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

Se calculó las medidas de tendencia central y de dispersión del diámetro de los halos de inhibición; además, se aplicó la prueba de normalidad usando Shapiro Wilk. Para realizar las comparaciones de las medias de los efectos antibacterianos entre las muestras problemas se aplicó la prueba de Kruskal Wallis, la cual se trabajó con un nivel de significancia estadística $p < 0,005$.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Características Fisicoquímicas de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale*

Tabla 1. Características fisicoquímicas de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale*

Características fisicoquímicas	A.E. eucalipto	A.E. jengibre
Volumen obtenido	90mL	15mL
Rendimiento	0,6%	0,05%
Densidad	0,8582g/mL	0,8204g/mL
Olor	Característico al de la planta	Característico al de la planta
Aspecto	Translúcido	Translúcido
Color	Amarillo pálido	Amarillo Intenso

En la Tabla 1 se detallan las características fisicoquímicas obtenidas de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale*. Se observa una diferencia marcada en el volumen obtenido y el rendimiento, siendo el eucalipto significativamente superior con 90 mL (0,6%) frente a los 15 mL (0,05%) del jengibre. En cuanto a las propiedades físicas, ambos aceites presentaron un aspecto translúcido y un olor característico a la planta de origen; sin embargo, difirieron notablemente en su coloración, donde el aceite esencial de eucalipto mostró un tono amarillo pálido y el de jengibre un amarillo intenso. Finalmente, la densidad del aceite de

eucalipto fue ligeramente mayor (0,8582 g/mL) en comparación con la del jengibre (0,8204 g/mL).

4.1.2. Pruebas Bioquímicas de *Pseudomonas aeruginosa*

Tabla 2. Pruebas Bioquímicas de *Pseudomonas aeruginosa*

PRUEBAS BIOQUÍMICAS				
Nº CEPA	Citrato de Simmons	TSI	LIA	SIM
07	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
14	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
15	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
22	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
23	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
2575	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
360	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
361	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
362	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
363	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
365	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +
370	positivo	K/K – sin gas – sin H ₂ S	K/A – sin H ₂ S	sin H ₂ S – indol negativo – motilidad +

En la Tabla 4.1.2 se presentan los resultados de la caracterización bioquímica de las 12 cepas en estudio identificadas como *Pseudomonas aeruginosa*. Se observa una homogeneidad absoluta (100%) en el comportamiento metabólico de los aislados frente a las pruebas seleccionadas. Todas las cepas mostraron capacidad para utilizar el Citrato de Simmons como única fuente de carbono. En el medio TSI, se obtuvo un perfil de K/K (pico/base alcalina) sin producción de gas ni de H₂S, lo cual es consistente con el metabolismo no fermentador de esta especie. Asimismo, en el medio LIA, los resultados fueron uniformes con un patrón K/A (pico alcalino/base ácida) sin H₂S. Finalmente, mediante la prueba SIM, se confirmó que todas las cepas presentan motilidad positiva, son indol negativo y no producen ácido sulfídrico, cumpliendo con el perfil bioquímico típico para la confirmación de la especie.

4.1.3. Evaluación del efecto antibacteriano del aceite esencial los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale*

Los aceites esenciales de *E. globulus* y *Z. officinale* a diferentes concentraciones (100 %, 75 %, 50%) fue probado sobre 12 aislamientos de *P. aeruginosa* MDR antimicrobianos procedentes de los pacientes tratados en diferentes establecimientos de salud del departamento de Cajamarca; utilizando como control discos con alcohol al 70%, obteniéndose halos de inhibición de distintos diámetros (Anexo N° 6 y Anexo N°8).

Tabla 3. Diámetros promedio de los halos de inhibición producido por diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre los aislamientos de *P. aeruginosa* de la prueba piloto (cepas sin pigmentación).

Código de cepa	Diámetros de los halos (mm)									
	AEE			AEJ			AEC			OH
	100%	75%	50%	100%	75%	50%	100%	75%	50%	70%
07	9,3 ⁷	8,3 ⁸	7,3 ⁹	17 ¹	15,6 ²	12,6 ⁵	15,3 ³	14 ⁴	10,3 ⁶	0
14	9,3 ⁹	15,3 ⁴	9,6 ⁸	16,6 ²	15,6 ³	22 ¹	13 ⁵	11,6 ⁶	11,3 ⁷	0
15	13,6 ³	12,3 ⁴	11 ⁷	15,3 ¹	13,6 ³	11,6 ⁵	14,6 ²	12,3 ⁴	11,3 ⁶	0
22	13 ⁴	11,6 ⁶	10,6 ⁸	16 ¹	13,3 ³	12 ⁵	14 ²	12 ⁵	11,3 ⁷	0
23	10,3 ⁴	9,3 ⁵	9 ⁶	13 ¹	11,3 ³	10,3 ⁴	12 ²	10,3 ⁴	9,3 ⁵	0
2575	0 ⁶	0 ⁶	0 ⁶	8,3 ¹	4,3 ³	4 ⁴	6,6 ²	4 ⁴	2 ⁵	0

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado; OH: alcohol

De acuerdo con la escala de Duraffourd para la interpretación de la sensibilidad antimicrobiana de aceites esenciales, las concentraciones al 100 % y 75 % del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (AEE) presentaron sensibilidad baja sobre los aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* MDR, con diámetros de halos de inhibición entre 8 y 13,6 mm. En el caso del aceite esencial de *Zingiber officinale* (AEJ), se observó una respuesta más marcada, alcanzando halos de inhibición de hasta 22 mm en la cepa 14 a la concentración del 100 %, lo que indica una sensibilidad alta según la escala empleada. De manera general, las cepas 07, 14, 15, 22 y 23 mostraron sensibilidad baja a media frente a las concentraciones evaluadas de AEE, AEJ y a la mezcla de ambos aceites (AEC).

Por otro lado, la cepa pigmentada 2575 mostró resistencia frente a la mayoría de los tratamientos, registrando únicamente halos de 4 a 6,6 mm en las concentraciones más altas del aceite esencial combinado (AEC), considerados como sensibilidad nula. Estos resultados sugieren que el aceite de *Z. officinale* posee una mayor capacidad inhibitoria frente a *P. aeruginosa* en comparación con el aceite de *E. globulus* o su combinación, posiblemente debido a la presencia de compuestos fenólicos con reconocida actividad antimicrobiana.

Finalmente, la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis evidenció diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los halos de inhibición producidos por los diferentes aceites esenciales y concentraciones evaluadas, lo que confirma la variabilidad en la respuesta de las cepas de *P. aeruginosa* frente a los tratamientos probados (ver Tabla 2).

Tabla 4. Diámetros promedio de los halos de inhibición producido por diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre los aislamientos de *P. aeruginosa* de la prueba principal (cepas con pigmentación).

Código de cepa	Diámetros de los halos (mm)									
	AEE			AEJ			AEC			OH
	100%	75%	50%	100%	75%	50%	100%	75%	50%	70%
360	11.3 ¹	9.7 ³	9.7 ³	9.0 ⁵	9.0 ⁵	9.3 ⁴	8.3 ⁶	10.7 ²	7.3 ⁷	0
361	8.3 ⁴	8.3 ⁴	8.3 ⁴	9.3 ²	9.7 ¹	9.0 ³	8.0 ⁵	9.0 ³	8.3 ⁴	0
362	11.7 ¹	11.0 ²	10.7 ³	7.7 ⁶	10.7 ³	10.7 ³	8.0 ⁵	9.3 ⁴	7.7 ⁶	0
363	8.7 ⁵	9.0 ⁴	9.3 ³	9.3 ³	11.7 ¹	11.7 ¹	8.7 ⁵	10.3 ²	10.3 ²	0
365	8.7 ⁷	8.3 ⁸	8.3 ⁸	11.3 ⁴	14.0 ²	14.7 ¹	10.7 ⁵	13.0 ³	9.7 ⁶	0
370	8.3 ⁵	8.3 ⁵	8.3 ⁵	9.3 ⁴	10.7 ²	8.3 ⁵	10.3 ³	10.7 ²	11.3 ¹	0

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado; OH: alcohol

De acuerdo con la escala de Duraffourd para los aceites esenciales, la mayoría de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* MDR ensayadas presentaron una sensibilidad baja frente al aceite esencial de eucalipto (AEE), el aceite esencial de jengibre (AEJ), y el aceite esencial combinado (AEC), en las diferentes concentraciones evaluadas (100%, 75%, y 50%). Esto se evidencia en que la gran mayoría de los diámetros de los halos de inhibición se ubicaron en el rango de 8 a 14 mm. Específicamente, el aceite esencial combinado (AEC) en concentración de 75% mostró uno de los mejores resultados, alcanzando halos de 10.7mm en las cepas 360, 370 y un máximo de 13.0 mm en la cepa 365. Por su parte, el aceite esencial de jengibre (AEJ) a 75% y 50% también demostró un efecto notable, con la cepa 365 alcanzando los 14.0 mm y 14.7mm respectivamente, siendo estos los mayores diámetros observados en todo el estudio, lo que sugiere el potencial de este aceite para aproximarse al umbral de sensibilidad media.

La cepa 362 mostró consistentemente halos de inhibición mayores a 10.7 mm con el aceite esencial de eucalipto (AEE) en sus tres concentraciones, indicando la mayor sensibilidad dentro de las cepas frente a este aceite en particular. Por otro lado, la cepa 360 y 361 tendieron a mostrar diámetros de halos en el extremo inferior del rango de sensibilidad baja. Es importante destacar que, bajo ninguna circunstancia y con ninguno de los tratamientos, se alcanzaron diámetros de halo de 15 mm o más, lo que hubiera clasificado la sensibilidad como media o alta. La uniformidad de los resultados dentro del rango de sensibilidad baja (8-14 mm) para los tres aceites esenciales y sus diluciones (100%, 75%, 50%) sugiere que, si bien poseen una actividad antibacteriana medible, esta no es lo suficientemente potente como para ser clasificada en los niveles superiores de la escala Duraffourd para la inhibición de las cepas de *P. aeruginosa* MDR estudiadas.

Tabla 5. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°7 de *P. aeruginosa* (prueba piloto).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	9.3333	9.0000	0.57735	9.00	10.00
AEE 75% ²	8.3333	8.0000	0.57735	8.00	9.00
AEE 50% ³	7.3333	7.0000	0.57735	7.00	8.00
AEJ 100% ⁴	17.0000	16.0000	3.60555	14.00	21.00
AEJ 75% ⁵	15.6667	15.0000	3.05505	13.00	19.00
AEJ 50% ⁶	12.6667	12.0000	3.05505	10.00	16.00
AEC 100% ⁷	15.3333	15.0000	0.57735	15.00	16.00
AEC 75% ⁸	14.0000	14.0000	1.00000	13.00	15.00
AEC 50% ⁹	10.3333	10.0000	0.57735	10.00	11.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

Los resultados descriptivos por grupo de tratamiento, evaluados frente a la cepa 7 de *P. aeruginosa* (Tabla 5), revelaron que el aceite esencial de jengibre (AEJ) fue consistentemente el más efectivo. El tratamiento AEJ 100% obtuvo la media más alta (17.00 ± 3.61 mm) y el máximo halo de inhibición (21.00 mm), alcanzando el rango de sensibilidad alta (≥ 20 mm), y diferenciándose significativamente de los demás grupos (indicado por los superíndices distintos). Los tratamientos AEJ 75% (15.67 ± 3.06 mm) y AEC 100% (15.33 ± 0.58 mm) se ubicaron dentro del rango de sensibilidad media (15 - 19 mm), destacando la baja variabilidad del aceite esencial combinado (AEC) a 100%. En contraste, los tratamientos con aceite esencial de eucalipto (AEE) mostraron los valores más bajos, registrando sensibilidad baja (8-14 mm) únicamente en AEE 100% (9.33 ± 0.58 mm) y AEE 75% (8.33 ± 0.58 mm), mientras que AEE 50% (7.33 ± 0.58 mm) cayó en el rango de sensibilidad nulamente activa (< 8 mm). La prueba de Kruskal-Wallis confirmó que la concentración del extracto y el tipo de aceite (AEJ vs. AEE) tuvieron un efecto estadísticamente significativo en la magnitud de la respuesta antibacteriana.

Tabla 6. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°14 de *P. aeruginosa* (prueba piloto).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	9.3333	9.0000	0.57735	9.00	10.00
AEE 75% ²	15.3333	15.0000	3.51188	12.00	19.00
AEE 50% ³	9.6667	10.0000	0.57735	9.00	10.00
AEJ 100% ⁴	16.6667	17.0000	0.57735	16.00	17.00
AEJ 75% ⁵	15.6667	16.0000	0.57735	15.00	16.00
AEJ 50% ⁶	22.0000	22.0000	3.00000	19.00	25.00
AEC 100% ⁷	13.0000	13.0000	0.00000	13.00	13.00
AEC 75% ⁸	11.6667	12.0000	0.57735	11.00	12.00
AEC 50% ⁹	11.3333	12.0000	1.15470	10.00	12.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

Los resultados descriptivos de los tratamientos frente a la cepa 14 (Tabla 6) indican que el aceite esencial de jengibre al 50% fue el más potente, alcanzando la media más alta (22.00 \pm 3.00 mm) y el máximo halo de inhibición (25.00 mm), clasificándose ambos en el rango de sensibilidad alta (\geq 20 mm), y diferenciándose significativamente de la mayoría de los demás grupos (indicado por el superíndice 6). Otros tratamientos con AEJ a 100% (16.67 ± 0.58 mm) y AEJ a 75% (15.67 ± 0.58 mm), se ubicaron en el rango de sensibilidad media (15 - 19 mm) y mantuvieron una baja variabilidad. El aceite esencial combinado mostró el valor más bajo de variabilidad en AEC 100% (13.00 ± 0.00 mm), seguido de los demás tratamientos AEC que se ubicaron en el rango de sensibilidad baja (11.33 a 13.00 mm). Por su parte, el aceite esencial de eucalipto fue el menos efectivo; aunque AEE 75% (15.33 ± 3.51 mm) alcanzó una media de sensibilidad media, mostró la mayor desviación estándar, mientras que AEE 100% (9.33 ± 0.58 mm) y AEE 50% (9.67 ± 0.58 mm) solo lograron clasificar en el rango de sensibilidad baja. La presencia de superíndices distintos entre los grupos subraya la detección de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los efectos antibacterianos de las distintas concentraciones y tipos de aceites, confirmada por la prueba de Kruskal-Wallis.

Tabla 7. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°15 de *P. aeruginosa* (prueba piloto).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	13.6667	14.0000	0.57735	13.00	14.00
AEE 75% ²	12.3333	13.0000	1.15470	11.00	13.00
AEE 50% ³	11.0000	11.0000	1.00000	10.00	12.00
AEJ 100% ⁴	15.3333	15.0000	0.57735	15.00	16.00
AEJ 75% ⁵	13.6667	13.0000	1.15470	13.00	15.00
AEJ 50% ⁶	11.6667	12.0000	0.57735	11.00	12.00
AEC 100% ⁷	14.6667	15.0000	0.57735	14.00	15.00
AEC 75% ⁸	12.3333	12.0000	0.57735	12.00	13.00
AEC 50% ⁹	11.3333	11.0000	0.57735	11.00	12.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

Los resultados descriptivos de los tratamientos frente a la cepa 15 (Tabla 7) indican que, a diferencia de otras cepas, la mayoría de los tratamientos se concentraron en el rango de sensibilidad baja, aunque algunos tratamientos se acercaron al límite de sensibilidad media. Específicamente, el aceite esencial de jengibre al 100% obtuvo la media más alta (15.33 ± 0.58 mm), siendo el único tratamiento clasificado en la sensibilidad media (15–19 mm), seguido de cerca por el aceite esencial combinado al 100% (14.67 ± 0.58 mm), el cual marcó el valor máximo dentro de la sensibilidad baja. En general, los tratamientos al 100% (15.33 mm, 14.67 mm y 13.67 mm) fueron los más efectivos para cada aceite (AEJ, AEC y AEE, respectivamente), lo que sugiere una relación directa con la concentración. Notablemente, el aceite esencial de eucalipto al 100% (13.67 ± 0.58 mm) mostró una efectividad similar a AEJ 75% (13.67 ± 1.15 mm). La mayoría de los grupos mostraron una baja desviación estándar (típicamente 0.57735), lo que indica una alta homogeneidad en las respuestas obtenidas. Las diferencias en los superíndices de cada grupo confirman que la prueba de Kruskal-Wallis detectó diferencias estadísticamente significativas entre los efectos de los tratamientos ($p < 0.05$).

Tabla 8. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°22 de *P. aeruginosa* (prueba piloto).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	13.0000	13.0000	1.00000	12.00	14.00
AEE 75% ²	11.6667	12.0000	0.57735	11.00	12.00
AEE 50% ³	10.6667	11.0000	0.57735	10.00	11.00
AEJ 100% ⁴	16.0000	16.0000	1.00000	15.00	17.00
AEJ 75% ⁵	13.3333	13.0000	0.57735	13.00	14.00
AEJ 50% ⁶	12.0000	12.0000	1.00000	11.00	13.00
AEC 100% ⁶	14.0000	14.0000	1.00000	13.00	15.00
AEC 75% ⁷	12.0000	12.0000	1.00000	11.00	13.00
AEC 50% ⁸	11.3333	11.0000	0.57735	11.00	12.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

El análisis descriptivo de los tratamientos frente a la cepa 22 (Tabla 8) reveló que el aceite esencial de jengibre al 100% fue el más efectivo, logrando la media más alta (16.00 ± 1.00 mm) y el máximo de 17.00 mm, lo cual lo clasifica en el rango de sensibilidad media (15–19 mm), destacándose significativamente de los demás grupos (indicado por el superíndice 4). Todos los demás tratamientos se ubicaron en la sensibilidad baja (8–14 mm) o en su límite superior, como AEC 100% (14.00 ± 1.00 mm) y AEE 100% (13.00 ± 1.00 mm). Se observó una tendencia descendente en el efecto antibacteriano al disminuir la concentración para los tres aceites (AEE, AEJ, AEC), lo que apoya la relación dosis-respuesta. Los tratamientos mostraron una baja variabilidad (Desviación Estándar entre 0.57735 y 1.00000), indicando resultados consistentes. Las diferencias en los superíndices confirman que la prueba de Kruskal-Wallis detectó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de tratamientos ($p < 0.05$).

Tabla 9. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°23 de *P. aeruginosa* (prueba piloto).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	10.3333	10.0000	0.57735	10.00	11.00
AEE 75% ²	9.3333	9.0000	0.57735	9.00	10.00
AEE 50% ³	9.0000	9.0000	0.00000	9.00	9.00
AEJ 100% ⁴	13.0000	13.0000	1.00000	12.00	14.00
AEJ 75% ⁵	11.3333	11.0000	0.57735	11.00	12.00
AEJ 50% ⁶	10.3333	10.0000	0.57735	10.00	11.00
AEC 100% ⁷	12.0000	12.0000	1.00000	11.00	13.00
AEC 75% ⁸	10.3333	10.0000	0.57735	10.00	11.00
AEC 50% ⁹	9.3333	9.0000	0.57735	9.00	10.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

El análisis descriptivo de los tratamientos frente a la cepa 23 (Tabla 9) muestra que todos los tratamientos se clasificaron dentro del rango de sensibilidad baja (8–14 mm) según la escala de Duraffourd, sin alcanzar la sensibilidad media. El aceite esencial de jengibre al 100% obtuvo la media más alta (13.00 ± 1.00 mm), seguido por el aceite esencial combinado (AEC) al 100% (12.00 ± 1.00 mm), lo que sugiere que las concentraciones puras fueron generalmente más efectivas. El tratamiento AEE 50% (9.00 ± 0.00 mm) mostró la menor variabilidad con desviación estándar de 0.00000. En general, se observó una tendencia descendente en el efecto antibacteriano al reducir la concentración para los tres aceites (AEE, AEJ, AEC), aunque la diferencia de medias fue pequeña. Las diferencias en los superíndices confirman que la prueba de Kruskal-Wallis detectó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de tratamientos ($p < 0.05$), aunque la magnitud del efecto fue moderada.

Tabla 10. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°2575 de *P. aeruginosa* (prueba piloto).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
AEE 75% ¹	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
AEE 50% ¹	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
AEJ 100% ²	8.3333	8.0000	0.57735	8.00	9.00
AEJ 75% ³	4.3333	6.0000	3.78594	0.00	7.00
AEJ 50% ⁴	4.0000	6.0000	3.46410	0.00	6.00
AEC 100% ⁵	6.6667	7.0000	0.57735	6.00	7.00
AEC 75% ⁴	4.0000	6.0000	3.46410	0.00	6.00
AEC 50% ⁶	2.0000	0.0000	3.46410	0.00	6.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

El análisis descriptivo de los tratamientos frente a la cepa 2575 con producción de pigmento verde (Tabla 10) reveló una marcada inactividad de la mayoría de los extractos. Específicamente, el AEE, en todas sus concentraciones, resultó ser sensible nulamente (media de 0.00 mm), indicando una ausencia total de efecto antibacteriano. Por otro lado, el AEJ al 100% fue el único que se acercó al umbral de sensibilidad, con una media de 8.33 ± 0.58 mm, lo cual lo ubica marginalmente en la clasificación de sensibilidad baja (8–14 mm) y representa el valor más alto del estudio para esta cepa. Todos los demás tratamientos, incluidas las diluciones de AEJ y todas las concentraciones del AEC, mostraron medias inferiores a 8 mm (entre 2.00 mm y 6.67 mm), clasificándose como sensibles nulamente. La presencia de superíndices diferentes, detectada por la prueba de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$), confirma que la única diferencia estadísticamente significativa se encuentra en la actividad nula del AEE versus la muy baja actividad del AEJ 100%, sugiriendo que la producción de pigmento podría estar relacionada con una mayor resistencia al efecto antibacteriano de los aceites esenciales.

Tabla 11. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°360 de *P. aeruginosa* (prueba principal).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	11.3333	11.0000	1.52753	10.00	13.00
AEE 75% ²	9.6667	10.0000	0.57735	9.00	10.00
AEE 50% ³	9.6667	9.0000	1.15470	9.00	11.00
AEJ 100% ⁴	9.0000	9.0000	1.00000	8.00	10.00
AEJ 75% ⁵	9.0000	9.0000	1.00000	8.00	10.00
AEJ 50% ⁶	9.3333	10.0000	1.15470	8.00	10.00
AEC 100% ⁷	8.3333	8.0000	1.52753	7.00	10.00
AEC 75% ⁸	10.6667	10.0000	1.15470	10.00	12.00
AEC 50% ⁹	7.3333	7.0000	0.57735	7.00	8.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

El análisis descriptivo de los tratamientos frente a la cepa 360 con pigmento verde (Tabla 11) muestra que la cepa presentó una sensibilidad predominantemente baja a los aceites, ya que la mayoría de las medias se ubicaron en el rango de 8 a 14 mm. El tratamiento más efectivo fue el aceite esencial de eucalipto (AEE) al 100%, con la media más alta (11.33 ± 1.53 mm), seguido por el aceite esencial combinado (AEC) al 75% (10.67 ± 1.15 mm). Por el contrario, AEC 50% (7.33 ± 0.58 mm) y AEC 100% (8.33 ± 1.53 mm) se ubicaron, respectivamente, en el rango de sensibilidad nulamente activa (<8 mm) o muy cerca del umbral, lo que sugiere que el Aceite Combinado, especialmente a dilución del 50%, fue el menos consistente en su actividad. El aceite esencial de jengibre (AEJ) mostró un efecto antibacteriano homogéneo en todas sus concentraciones, con medias muy similares (entre 9.00 mm y 9.33 mm). Los superíndices distintos entre los grupos indica que la prueba detectó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), atribuidas principalmente a la variabilidad entre el efecto del AEE 100% y la inactividad del AEC 50%.

Tabla 12. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°361 de *P. aeruginosa* (prueba principal).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	8.3333	8.0000	0.57735	8.00	9.00
AEE 75% ¹	8.3333	8.0000	0.57735	8.00	9.00
AEE 50% ¹	8.3333	9.0000	1.15470	7.00	9.00
AEJ 100% ²	9.3333	10.0000	1.15470	8.00	10.00
AEJ 75% ³	9.6667	10.0000	0.57735	9.00	10.00
AEJ 50% ⁴	9.0000	9.0000	1.00000	8.00	10.00
AEC 100% ⁵	8.0000	8.0000	1.00000	7.00	9.00
AEC 75% ⁴	9.0000	9.0000	1.00000	8.00	10.00
AEC 50% ¹	8.3333	8.0000	1.52753	7.00	10.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

El análisis descriptivo de los tratamientos frente a la cepa 361 con pigmento verde (Tabla 12) muestra que la cepa exhibió consistentemente sensibilidad baja a los aceites esenciales, ya que todas las medias se ubicaron en el rango de 8 a 14 mm, sin alcanzar la sensibilidad media. Los tratamientos con aceite esencial de jengibre (AEJ) fueron los más efectivos, destacando AEJ 75% con la media más alta (9.67 mm), seguido de AEJ 100% (9.33 mm), lo que sugiere que la dilución al 75% mantuvo o incluso mejoró marginalmente la actividad. El AEE y el AEC tuvieron un efecto similar, con la mayoría de sus medias alrededor de 8.33 mm a 9.00 mm. En general, no se observaron diferencias notables entre las concentraciones ni entre los tipos de aceites para esta cepa, ya que todos los resultados se agruparon estrechamente en el límite inferior de la sensibilidad baja. Dada la pequeña dispersión de las medias y el solapamiento de los rangos (Mínimo 7.00 mm; Máximo 10.00 mm), es poco probable que la prueba de Kruskal-Wallis detecte diferencias estadísticamente significativas entre la mayoría de los grupos, lo que se reflejaría en que la mayoría de los grupos compartirían el mismo superíndice.

Tabla 13. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°362 de *P. aeruginosa* (prueba principal).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	11.6667	12.0000	1.52753	10.00	13.00
AEE 75% ²	11.0000	11.0000	1.00000	10.00	12.00
AEE 50% ³	10.6667	11.0000	1.52753	9.00	12.00
AEJ 100% ⁴	7.6667	8.0000	0.57735	7.00	8.00
AEJ 75% ⁵	10.6667	11.0000	0.57735	10.00	11.00
AEJ 50% ⁶	10.6667	11.0000	1.52753	9.00	12.00
AEC 100% ⁷	8.0000	8.0000	1.00000	7.00	9.00
AEC 75% ⁸	9.3333	10.0000	1.15470	8.00	10.00
AEC 50% ⁹	7.6667	7.0000	1.15470	7.00	9.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

El análisis descriptivo de los tratamientos frente a la cepa 362 (Tabla 13) muestra que el aceite esencial de eucalipto (AEE) fue el más efectivo en esta cepa. Los tratamientos AEE 100% (11.67 ± 1.53 mm), AEE 75% (11.00 ± 1.00 mm) y AEE 50% (10.67 ± 1.53 mm) obtuvieron las medias más altas, clasificándose en el rango de sensibilidad baja (8–14 mm) con una variabilidad moderada. El aceite esencial de jengibre (AEJ) y el aceite esencial combinado (AEC) mostraron una actividad mixta. AEJ 75% y AEJ 50% también alcanzaron la sensibilidad baja con 10.67 mm, mientras que AEJ 100% (7.67 ± 0.58 mm), AEC 100% (8.00 ± 1.00 mm) y AEC 50% (7.67 ± 1.15 mm) cayeron en el rango de sensibilidad nulamente activa (<8 mm). Los superíndices distintos indican que la prueba de Kruskal-Wallis detectó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre al menos algunos de los grupos, siendo estas diferencias notables entre los tratamientos más efectivos (AEE 100%) y los menos efectivos (AEJ 100%, AEC 50%).

Tabla 14. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°363 de *P. aeruginosa* (prueba principal).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	8.6667	9.0000	0.57735	8.00	9.00
AEE 75% ²	9.0000	9.0000	1.00000	8.00	10.00
AEE 50% ³	9.3333	10.0000	1.15470	8.00	10.00
AEJ 100% ³	9.3333	9.0000	1.52753	8.00	11.00
AEJ 75% ⁴	11.6667	12.0000	1.52753	10.00	13.00
AEJ 50% ⁴	11.6667	11.0000	1.15470	11.00	13.00
AEC 100% ¹	8.6667	9.0000	1.52753	7.00	10.00
AEC 75% ⁵	10.3333	11.0000	1.15470	9.00	11.00
AEC 50% ⁵	10.3333	11.0000	1.15470	9.00	11.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

El análisis descriptivo de los tratamientos frente a la cepa 363 (Tabla 14) muestra que el aceite esencial de jengibre (AEJ) en sus concentraciones de 75% y 50% fue el más efectivo, logrando las medias más altas (11.67 ± 1.53 mm y 11.67 ± 1.15 mm, respectivamente). Todos los tratamientos con aceite esencial (AEE, AEJ, AEC) se clasificaron en el rango de sensibilidad baja (8–14 mm) según la escala de Duraffourd, con la excepción de AEC 100% (8.67 ± 1.53 mm), cuyo valor mínimo (7.00 mm) cayó en la sensibilidad nulamente activa (<8 mm). Aunque el AEE al 50% (9.33 ± 1.15 mm) y el AEJ al 100% (9.33 ± 1.53 mm) mostraron un efecto similar, el patrón de mayor actividad se concentró en las diluciones intermedias de AEJ y AEC. La presencia de superíndices distintos reafirma que la prueba de Kruskal-Wallis detectó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el efecto superior del AEJ 75%/50% y la actividad ligeramente menor del resto de los grupos.

Tabla 15. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°365 de *P. aeruginosa* (prueba principal).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	8.6667	9.0000	0.57735	8.00	9.00
AEE 75% ²	8.3333	8.0000	1.52753	7.00	10.00
AEE 50% ³	8.3333	8.0000	0.57735	8.00	9.00
AEJ 100% ⁴	11.3333	11.0000	0.57735	11.00	12.00
AEJ 75% ⁵	14.0000	15.0000	2.64575	11.00	16.00
AEJ 50% ⁶	14.6667	15.0000	1.52753	13.00	16.00
AEC 100% ⁷	10.6667	11.0000	0.57735	10.00	11.00
AEC 75% ⁸	13.0000	13.0000	1.00000	12.00	14.00
AEC 50% ⁹	9.6667	10.0000	0.57735	9.00	10.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

El análisis descriptivo de los tratamientos frente a la cepa 365 (Tabla 15) muestra que el aceite esencial de jengibre (AEJ) diluido al 50% fue el más efectivo, logrando la media más alta (14.67 ± 1.53 mm) y clasificándose marginalmente en el rango de sensibilidad media (15–19 mm) debido a su valor máximo de 16.00 mm. De cerca le siguió AEJ 75% (14.00 ± 2.65 mm), marcando un patrón de mayor actividad en las concentraciones diluidas de este aceite, aunque con una alta desviación estándar en el caso de AEJ 75%. El aceite esencial combinado (AEC) al 75% (13.00 ± 1.00 mm) y AEJ 100% (11.33 ± 0.58 mm) también se ubicaron en el extremo superior de la sensibilidad baja (8–14 mm), mientras que el aceite esencial de eucalipto (AEE) fue el menos activo, con todas sus medias alrededor de 8.33 mm a 8.67 mm (sensibilidad baja). Los superíndices distintos indican que la prueba de Kruskal-Wallis detectó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos, confirmando la superioridad del efecto antibacteriano del AEJ diluido sobre los otros grupos.

Tabla 16. Medidas descriptivas de los halos de inhibición producidos por las diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* sobre la cepa n°370 de *P. aeruginosa* (prueba principal).

Grupo	Media	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
AEE 100% ¹	8.3333	8.0000	0.57735	8.00	9.00
AEE 75% ¹	8.3333	8.0000	1.52753	7.00	10.00
AEE 50% ¹	8.3333	9.0000	1.15470	7.00	9.00
AEJ 100% ²	9.3333	10.0000	2.08167	7.00	11.00
AEJ 75% ³	10.6667	11.0000	1.52753	9.00	12.00
AEJ 50% ¹	8.3333	8.0000	0.57735	8.00	9.00
AEC 100% ⁴	10.3333	11.0000	1.15470	9.00	11.00
AEC 75% ³	10.6667	11.0000	1.52753	9.00	12.00
AEC 50% ⁵	11.3333	11.0000	1.52753	10.00	13.00

AEE: aceite esencial de eucalipto; AEJ: aceite esencial de jengibre; AEC: aceite esencial combinado

El análisis descriptivo de los tratamientos frente a la cepa 370 (Tabla 16) muestra que el aceite esencial combinado (AEC) al 50% fue el más efectivo, logrando la media más alta (11.33 ± 1.53 mm), seguido de cerca por AEC 75% (10.67 ± 1.53 mm) y AEJ 75% (10.67 ± 1.53 mm). La cepa 370 mostró consistentemente sensibilidad baja (8–14 mm) a la mayoría de los extractos; sin embargo, AEE 100%, AEE 75%, AEE 50% y AEJ 50% tuvieron medias de 8.33 mm, ubicándose en el límite inferior de esta clasificación. El valor mínimo de AEE 75% (7.00 mm) y AEE 50% (7.00 mm) cayó en la sensibilidad nulamente activa (<8 mm). En esta cepa, se observó que la dilución intermedia de AEJ y la dilución al 50% del AEC fueron más activas que sus concentraciones al 100%, lo que sugiere un efecto que no sigue estrictamente la relación dosis-respuesta. La prueba de Kruskal-Wallis, al detectar diferencias significativas entre grupos, contrastaría el efecto superior del AEC 50% con el efecto mínimo de los tratamientos AEE.

4.1.4. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Tabla 17. Prueba para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* frente a las 6 cepas principales de *P. aeruginosa*.

Nº Tubo	Concentración (mg/ml)	Turbidez (Código de Cepa)					
		360	361	362	363	365	370
1	3.4328	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
2	6.8656	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
3	10.2984	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
4	13.7312	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
5	17.164	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
6	20.5968	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
7	24.0296	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
8	27.4624	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
9	30.8952	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
10	34.328	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
11	37.7608	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
12	41.1936	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)

(+): presencia de turbidez; (-): ausencia de turbidez

La CMI del AEE frente a las seis cepas principales de *P. aeruginosa* MDR (Tabla 17) demostró una eficacia nula para la mayoría de las cepas. Se observó crecimiento microbiano (denotada por (+)) en casi todas las concentraciones evaluadas para las cepas 360, 361, 362, 363 y 365, incluso hasta la concentración más alta ensayada de 41.1936 mg/ml (Tubo 12). El valor de CMI solo pudo ser determinado para la cepa 370, la cual mostró inhibición de crecimiento (denotada por (-)) a la concentración de 37.7608 mg/ml (Tubo 11), mientras que la CMI para las cinco cepas restantes fue mayor a la concentración máxima probada (>41.1936 mg/ml). Estos resultados sugieren que el aceite esencial de eucalipto por sí solo posee una baja potencia inhibitoria contra la mayoría de las cepas de *P. aeruginosa* MDR en el estudio, lo cual es coherente con los resultados de la prueba de difusión en disco, donde el AEE generalmente mostró la menor actividad (sensibilidad baja) en comparación con el aceite esencial de jengibre.

Tabla 18. Prueba para determinar la concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Zingiber officinale* frente a las 6 cepas principales de *P. aeruginosa*.

Nº Tubo	Concentración (mg/ml)	Turbidez (Código de Cepa)					
		360	361	362	363	365	370
1	3.2816	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
2	6.5632	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
3	9.8448	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
4	13.1264	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
5	16.408	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
6	19.6896	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
7	22.9712	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
8	26.2528	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
9	29.5344	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
10	32.816	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
11	36.0976	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
12	39.3792	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)

(+): presencia de turbidez; (-): ausencia de turbidez

La CMI del AEJ frente a las 6 cepas principales de *P. aeruginosa* MDR (Tabla 18) demostró una eficacia significativamente superior a la observada con el AEE. La CMI del AEJ pudo ser determinada para cuatro de las seis cepas en el estudio, indicando una mayor actividad antibacteriana. Específicamente, las cepas 360, 362, 365 y 370 fueron inhibidas a la concentración de 36.0976 mg/ml (Tubo 11), siendo 36.0976 mg/ml la CMI para las cepas 362 y 365, y 39.3792 mg/ml (Tubo 12) la CMI para las cepas 360 y 370 (no hubo inhibición total en el Tubo 11). Sin embargo, las cepas 361 y 363 demostraron una alta resistencia, ya que se observó crecimiento microbiano incluso a la concentración máxima ensayada de 39.3792 mg/ml (Tubo 12), por lo que su CMI es mayor a 39.3792 mg/ml. Estos resultados confirman que el AEJ es el aceite más activo contra *P. aeruginosa* MDR en el estudio, lo cual es consistente con los resultados de la prueba de difusión en disco, donde el AEJ mostró los mayores diámetros de halo (incluso alcanzando sensibilidad media y alta en algunas cepas).

Tabla 19. Prueba para determinar la concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de combinado frente a las 6 cepas principales de *P. aeruginosa*.

Nº Tubo	Concentración (mg/ml)	Turbidez (Código de Cepa)					
		360	361	362	363	365	370
1	3.3576	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
2	6.7152	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
3	10.0728	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
4	13.4304	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
5	16.788	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
6	20.1456	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
7	23.5032	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
8	26.8608	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
9	30.2184	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
10	33.576	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
11	36.9336	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
12	40.2912	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)

(+): presencia de turbidez; (-): ausencia de turbidez

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial combinado (AEC) (Tabla 19) frente a las seis cepas principales de *P. aeruginosa* MDR confirmó su actividad, determinándose la CMI para cuatro de las seis cepas, similar a la observada con el aceite esencial de jengibre puro. Las cepas 360, 362, 365 y 370 fueron inhibidas a concentraciones de 36.9336 mg/ml (Tubo 11) o 40.2912 mg/ml (Tubo 12), con la CMI para las cepas 362 y 365 establecida en 36.9336 mg/ml. Sin embargo, al igual que con el aceite esencial de jengibre , las cepas 361 y 363 demostraron ser altamente resistentes, ya que se mantuvo el crecimiento microbiano (denotada por (+)) incluso a la concentración máxima ensayada de 40.2912 mg/ml. Comparado con los otros aceites, el aceite esencial combinado mostró un espectro de actividad inhibitoria similar al aceite esencial de jengibre , pero significativamente superior al del aceite esencial de eucalipto , el cual solo inhibió a una de las cepas.

4.1.5. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Tabla 20. Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* frente a las 6 cepas principales de *P. aeruginosa*.

Nº Tubo	Concentración (mg/ml)	Observaciones (Código de Cepa)					
		360	361	362	363	365	370
9	30.8952	Pigmento	Pigmento	Pigmento	Pigmento	Pigmento	Pigmento
10	34.3280	Pigmento	Pigmento	Pigmento	Pigmento	Colonias	Pigmento
11	37.7608	Pigmento	Pigmento	Colonias	Pigmento	Colonias	Pigmento
12	41.1936	Pigmento	Colonias	Colonias	Pigmento	Colonias	Colonias

La Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (AEE) frente a las seis cepas principales de *P. aeruginosa* MDR (Tabla 20) demostró una falta de efecto bactericida en el rango de concentraciones evaluadas. Se observó crecimiento bacteriano (evidenciado por la presencia de "Colonias" o la formación de "Pigmento") en todas las concentraciones más altas probadas (30.8952 mg/ml a 41.1936 mg/ml) para la mayoría de las cepas. Específicamente, las cepas 361, 362, 363, 365 y 370 continuaron mostrando crecimiento incluso en la concentración máxima de 41.1936 mg/ml (Tubo 12). La CMB para todas las cepas principales fue, por lo tanto, superior a la concentración máxima probada (>41.1936 mg/ml). Estos resultados confirman que el aceite esencial de eucalipto, si bien puede tener un efecto inhibidor muy leve y puntual (CMI), carece de la potencia necesaria para ser considerado bactericida contra las cepas multirresistentes de *P. aeruginosa* evaluadas, lo que es consistente con su clasificación de sensibilidad baja o nula en las pruebas de difusión.

Tabla 21. Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial de *Zingiber officinale* frente a las 6 cepas principales de *P. aeruginosa*.

Nº Tubo	Concentración (mg/ml)	Observaciones (Código de Cepa)					
		360	361	362	363	365	370
9	29.5344	Pigmento	Pigmento	Colonias	Pigmento	Colonias	Pigmento
10	32.8160	Pigmento	Pigmento	Colonias	Pigmento	Colonias	Pigmento
11	36.0976	Pigmento	Pigmento	CMB	Pigmento	CMB	Colonias
12	39.3792	Pigmento	Colonias	CMB	Pigmento	CMB	CMB

La Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial de *Zingiber officinale* (AEJ) frente a las seis cepas principales de *P. aeruginosa* MDR (Tabla 21) demostró una eficacia bactericida determinada para cuatro de las seis cepas. Las cepas 362, 365 y 370 mostraron la inhibición bactericida total (denotada como CMB) a la concentración máxima probada de 39.3792 mg/ml (Tubo 12). Específicamente, la cepa 362 y 365 alcanzaron la CMB en la concentración de 36.0976 mg/ml (Tubo 11), mientras que la cepa 370 requirió la concentración máxima de 39.3792 mg/ml (Tubo 12). Las cepas 360, 361 y 363 demostraron una alta resistencia bactericida, manteniendo el crecimiento (indicado como "Pigmento" o "Colonias") incluso en la concentración más alta ensayada, por lo que su CMB es mayor a 39.3792 mg/ml. Estos resultados confirman que el aceite esencial de jengibre presenta un efecto bactericida directo y superior al aceite esencial de eucalipto (cuya CMB fue mayor al máximo probado para todas las cepas), aunque con variabilidad marcada en la resistencia entre las cepas.

Tabla 22. Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial combinado frente a las 6 cepas principales de *P. aeruginosa*.

Nº Tubo	Concentración (mg/ml)	Observaciones (Código de Cepa)					
		360	361	362	363	365	370
9	30.2184	Pigmento	Pigmento	Colonias	Pigmento	Pigmento	Pigmento
10	33.5760	Pigmento	Pigmento	Colonias	Pigmento	Colonias	Pigmento
11	36.9336	Pigmento	Pigmento	CMB	Pigmento	CMB	Pigmento
12	40.2912	Pigmento	Colonias	CMB	Pigmento	CMB	Colonias

La Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial combinado (AEC) frente a las seis cepas principales de *P. aeruginosa* MDR (Tabla 22) demostró un efecto bactericida determinado para tres de las seis cepas, lo que representa una ligera disminución en el espectro bactericida comparado con el aceite esencial de jengibre puro (que tuvo CMB en cuatro cepas). Las cepas 362, 365 y 370 fueron eliminadas (observación de CMB) a la concentración máxima de 40.2912 mg/ml (Tubo 12). Específicamente, las cepas 362 y 365 alcanzaron la CMB en la concentración de 36.9336 mg/ml (Tubo 11), mientras que la cepa 370 requirió la concentración máxima para su eliminación. Las cepas 360, 361 y 363 demostraron ser altamente resistentes, manteniendo el crecimiento (indicado como "Pigmento" o "Colonias") incluso en la concentración más alta ensayada, por lo que su CMB es mayor a 40.2912 mg/ml. Estos resultados confirman que el AEC posee una potencia bactericida comparable a la del AEJ, pero marcadamente superior a la del AEE, siendo las cepas 361 y 363 consistentemente las más resistentes a la acción letal de ambos aceites.

4.2. Discusión

Pseudomonas aeruginosa es una bacteria Gram negativa oportunista, reconocida por su alta capacidad para desarrollar resistencia a múltiples antibióticos, lo que la ha convertido en una de las principales amenazas para la salud pública a nivel mundial. Debido a su resistencia intrínseca y adquirida frente a diversos grupos antimicrobianos, esta especie ha sido clasificada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) dentro de la lista de “patógenos prioritarios críticos” que requieren el desarrollo urgente de nuevos agentes terapéuticos. Ante esta problemática, se hace necesario investigar alternativas naturales con potencial antibacteriano, como los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Zingiber officinale* (jengibre), especies vegetales ampliamente empleadas en la medicina tradicional cajamarquina para el tratamiento de afecciones respiratorias. Durante el periodo posterior a la pandemia de la COVID-19, su uso se incrementó significativamente por sus propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes, lo que respalda su evaluación científica frente a cepas de *P. aeruginosa* MDR. La resistencia crítica a antibióticos de primera línea, como los carbapenémicos y fluoroquinolonas, observada en la mayoría de los aislados⁽⁶³⁾, justifica la urgencia de validar alternativas fitoquímicas con mecanismos de acción novedosos⁽⁶⁴⁾.

Los mecanismos moleculares que confieren resistencia a *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (MDR) frente a la amplia gama de antibióticos proporcionada (betalactámicos, carbapenémicos, quinolonas y aminoglucósidos) son complejos y se basan principalmente en tres estrategias: inactivación enzimática, disminución de la permeabilidad y eflujo activo del fármaco. Para los betalactámicos (Cefepime, Ceftazidima, Aztreonam, Piperacilina/Tazobactam) y carbapenémicos (Imipenem, Meropenem), el mecanismo más crucial es la producción de β -lactamasas. Estas enzimas hidrolizan el anillo β -lactámico, inactivando el antibiótico. *P. aeruginosa* posee una β -lactamasa cromosómica de clase C, la AmpC, cuya sobreexpresión, a menudo debido a mutaciones en genes reguladores (ampD o

ampR), confiere resistencia a cefalosporinas de amplio espectro (Ceftazidima y Cefepime). Adicionalmente, la resistencia a los carbapenémicos se logra principalmente mediante la pérdida o mutación de la porina de membrana externa OprD, que es la principal vía de entrada de Imipenem y Meropenem. Finalmente, la adquisición de carbapenemasas (como las metalo-β-lactamasas, o las enzimas de clase A y D) a través de elementos genéticos móviles (plásmidos) confiere resistencia de alto nivel a casi todos los antibióticos β-lactámicos, incluidos los carbapenémicos.

El segundo pilar de la resistencia molecular de *P. aeruginosa* MDR es la actividad de las bombas de expulsión (efflux pumps) y la modificación del sitio blanco. El sistema de bombas de eflujo MexAB-OprM es el mecanismo de multirresistencia más importante, ya que expulsa una amplia variedad de compuestos tóxicos fuera de la célula, incluyendo β-lactámicos (especialmente Cefepime), quinolonas y Gentamicina. La sobreexpresión de los genes que codifican estas bombas se produce por mutaciones en los genes reguladores (mexR, nalD o nalB). Para las quinolonas (Norfloxacino, Levofloxacino), la resistencia se logra mediante mutaciones en las dianas enzimáticas: la ADN-girasa (GyrA y GyrB) y la topoisomerasa IV (ParC y ParE). Estas mutaciones alteran la estructura del sitio de unión (la región de determinación de resistencia a quinolonas o QRDR), reduciendo la afinidad del antibiótico por la enzima. Finalmente, la resistencia a los aminoglucósidos (Gentamicina) se debe a la producción de enzimas modificadoras de aminoglucósidos (AMEs), que transfieren grupos químicos al antibiótico, impidiendo su unión al ribosoma bacteriano (el sitio de acción). La combinación de la sobreexpresión de bombas de eflujo y la presencia de AMEs confiere una alta resistencia a los aminoglucósidos⁽⁶⁵⁻⁶⁸⁾.

El contraste entre el rendimiento de extracción de los aceites esenciales fue significativo, con el AEE de eucalipto exhibiendo un rendimiento del 0.6%, marcadamente superior al 0.05%⁽⁶³⁾ alcanzado por el AEJ de jengibre. Si bien la actividad in vitro no se ve

afectada por el rendimiento, esta gran diferencia impone una limitación crítica a la escalabilidad industrial y a la viabilidad económica del aceite esencial de jengibre. El bajo rendimiento de extracción del *Zingiber officinale* implica mayores costes de producción por unidad de aceite puro, un factor esencial que debe ser sopesado durante la fase de traslación farmacéutica a pesar de la superioridad biológica intrínseca del AEJ.

El aceite esencial de jengibre (AEJ) demostró consistentemente halos de inhibición de mayor diámetro que el AEE en la mayoría de las cepas sensibles ⁽⁶³⁾, con el AEJ alcanzando clasificaciones de sensibilidad media e incluso Alta. El análisis de la Desviación Estándar (DE) reveló diferencias en la predictibilidad de la acción. Por ejemplo, en la Cepa 07 (Tabla 4), el AEJ 100% mostró una DE alta (3.60555) con un rango amplio de inhibición (Mínimo 14.00 mm a Máximo 21.00 mm), sugiriendo que, si bien es potente, la respuesta del inóculo es menos homogénea o predecible. En marcado contraste, el AEE 100% (DE: 0.57735) mostró una respuesta homogénea, pero débil ⁽⁶³⁾.

El hallazgo más crítico respecto a la resistencia fue la total inactividad del AEE (media de 0.00 mm) contra la Cepa 2575, un aislado multidrogorresistente que exhibe la producción de pioverdina ⁽⁶³⁾. El AEJ, en cambio, logró una inhibición detectable contra esta misma cepa (media de 8.33 mm) ^(63,69), ubicándose en el umbral de sensibilidad baja. Este resultado es crucial, ya que indica que los componentes activos del aceite esencial de jengibre (probablemente gingeroles y shogaoles) poseen la capacidad de sortear mecanismos de resistencia más sofisticados de *P. aeruginosa*, como la hiperactivación de bombas de eflujo o las modificaciones de la membrana externa ⁽⁷⁰⁾.

La mezcla de aceites (AEC) mostró una actividad que fue, en general, inferior a la del AEJ individual. Por ejemplo, en la Cepa 07, el AEJ 100% tuvo una media de 17.00 mm frente a los 15.33 mm del AEC 100% ⁽⁶³⁾. Este patrón sugiere un posible antagonismo parcial o, más

probablemente, una aditividad dilutiva, donde la inclusión del AEE (de menor potencia) diluye la acción del componente AEJ más activo. La baja Desviación Estándar del AEC en comparación con el AEJ potente sugiere que la mezcla tiende a estabilizarse en un nivel de actividad moderado y más uniforme, pero que no cumple con el criterio de sinergismo terapéutico.

La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) es crucial para evaluar la viabilidad terapéutica, ya que diferencia el potencial bacteriostático (solo inhibición) del bactericida (eliminación total). La falta de CMB del AEE en el rango probado (>41.1936 mg/ml) lo descalifica como agente bactericida, mientras que la CMB determinada del AEJ y AEC en 3 de 6 cepas soporta su potencial como terapia complementaria frente a *P. aeruginosa* MDR.

El análisis de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) reveló que el aceite esencial de Eucalipto (AEE) es fundamentalmente bacteriostático contra las cepas multidrogorresistentes (MDR). La CMB no se alcanzó ('NC') a la concentración máxima de 41.1936 mg/mL en cinco de los seis aislados MDR (1). La persistencia de colonias o pigmento⁽⁶³⁾, incluso a las concentraciones más altas, sugiere que el poder letal del AEE es insuficiente para la erradicación celular, un requisito indispensable en el manejo de infecciones graves por *P. aeruginosa*. Este comportamiento se explica parcialmente por la composición del AEE, que está dominado por monoterpenos (C10), principalmente el *1,8-cineol* (eucaliptol)⁽⁷¹⁾. Aunque el *1,8-cineol* tiene propiedades antimicrobianas⁽⁷²⁾, su menor lipofilicidad limita su capacidad para superar la membrana externa de las bacterias Gram-negativas como *P. aeruginosa*⁽⁶⁴⁾.

La resistencia Gram-negativa, actuando como un filtro, hace que el mecanismo de acción del AEE, que se limita principalmente a la alteración de la fluidez y el aumento de la permeabilidad de la membrana citoplasmática ⁽⁶⁴⁾, sea insuficiente para causar el daño estructural letal necesario para la lisis celular masiva.

En contraste, el aceite esencial de jengibre (AEJ) demostró una potencia bactericida crítica, logrando la CMB en tres cepas (362, 365, 370) en un rango efectivo de 36.0976 mg/mL a 39.3792 mg/mL. Esta eficacia es notable, especialmente considerando que la Cepa 365 es un aislado MDR. El valor más bajo de CMB (36.0976 mg/mL para la Cepa 365) establece un punto de referencia para el desarrollo de formulaciones activas.

Esta superioridad biológica radica en que el AEJ (*Z. officinale*), extraído del rizoma ⁽⁷³⁾, es rico en sesquiterpenos (C15)⁽⁷⁴⁾. Su mayor grado de lipofilicidad confiere a estos sesquiterpenos una ventaja estructural para penetrar la compleja barrera Gram-negativa ⁽⁷²⁾. La actividad bactericida del AEJ se logra mediante la disruptión física de la membrana celular, desorganizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, lo que resulta en la afectación de la cadena respiratoria y la disminución del ATP intracelular ⁽⁶⁴⁾, culminando en la muerte celular (CMB alcanzada) ⁽⁷⁵⁾. Esta eficacia contra cepas resistentes a carbapenémicos sugiere que los sesquiterpenos, debido a su tamaño y estructura, no son sustratos fácilmente reconocidos o son menos susceptibles a la acción de las bombas de eflujo bacterianas.

La mezcla equitativa de AEE y AEJ fracasó en demostrar sinergismo y, de hecho, el análisis cuantitativo y la CMB apoyan un patrón de antagonismo parcial o aditividad débil. Un ejemplo claro es la Cepa 370: el AEJ individual fue bactericida (39.3792 mg/mL), mientras que el AEC, a una concentración total ligeramente superior (40.2912 mg/mL), no alcanzó la CMB ('NC'). Esto indica que la adición del componente menos activo (AEE) interfirió con el proceso bactericida del AEJ. La hipótesis de la competencia por el sitio de acción sugiere que

los monoterpenos más pequeños del AEE podrían ocupar sitios en la bicapa lipídica sin causar lisis rápida, impidiendo la inserción y la acción letal de los sesquiterpenos más grandes del AEJ⁽⁷⁶⁾. Por último, cabe destacar que las cepas 361 y 363, junto con la Cepa 2575 (productora de pioverdina), fueron consistentemente las más resistentes, no alcanzándose su CMI ni CMB para casi todos los aceites, lo que refuerza la idea de que la pigmentación o los mecanismos asociados al pigmento confieren un grado adicional de protección y resistencia a la acción de los compuestos naturales.^(77,78).

Los resultados obtenidos para el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (AEE) en la inhibición de *P. aeruginosa* MDR se alinean con los estudios que reportan una eficacia limitada de este aceite frente a dicho patógeno. La prueba de difusión en disco mostró que el AEE presentó consistentemente sensibilidad baja (8 a 14 mm), y en algunas concentraciones, como el AEE 50% en la cepa 7, incluso sensibilidad nulamente activa (<8 mm). Esta observación es congruente con la conclusión de Armas E. (2019), quien determinó que el AEE al 100% no fue efectivo contra *P. aeruginosa* ATCC 27853, registrando solo un halo de 9 mm. Además, en los ensayos de dilución, el AEE demostró una eficacia nula en la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB) para la mayoría de las cepas principales, incluso a la concentración máxima probada. Este hallazgo contrasta con los resultados de extractos etanólicos de *E. globulus* que sí alcanzaron valores de CMI, sugiriendo que la forma de extracción o la concentración de los principios activos en el aceite esencial puro pueden ser menos efectivos para la inhibición de esta bacteria MDR en particular, o bien que la resistencia de las cepas utilizadas es particularmente alta.

En contraste, la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Zingiber officinale* (AEJ) mostró un efecto más marcado y variable, aunque generalmente confirmando el potencial reportado en la literatura. En la prueba piloto, el AEJ demostró una alta potencia, alcanzando clasificaciones de sensibilidad alta (≥ 20 mm) en algunas cepas no pigmentadas (la cepa 14 con

una media de 22.00 mm para AEJ 50%), lo cual apoya los altos halos de inhibición (19 mm) reportados por Ibarra C. (2023) frente a *P. aeruginosa* MDR. No obstante, los resultados del estudio principal, donde la mayoría de los halos se ubicaron en el rango de sensibilidad baja (8-14 mm), son más cercanos a los 11 mm reportados por Cabrera C. y Marín L. (2016). Esta disparidad entre cepas (piloto vs. principal) sugiere una heterogeneidad en la resistencia, posiblemente vinculada a la producción de pigmento. Pese a esta variabilidad, el AEJ fue consistentemente el aceite más efectivo, superando ampliamente al AEE en todas las pruebas de sensibilidad.

La determinación de la CMI y la CMB proporcionó evidencia crucial sobre la potencia intrínseca de los aceites, destacando la actividad superior del AEJ y confirmando la ineficacia del AEE. El AEJ logró determinar la CMI (36.0976 mg/ml) y la CMB para cuatro de las seis cepas principales de *P. aeruginosa* MDR, contrastando fuertemente con el AEE, que no pudo determinar estos valores para la mayoría de las cepas. Por su parte, el Aceite Esencial Combinado (AEC) exhibió una actividad similar a la del AEJ en la prueba de CMI (cuatro cepas inhibidas, 36.9336 mg/ml), pero su desempeño bactericida fue ligeramente inferior en la prueba de CMB, donde solo logró eliminar tres de las seis cepas. Esto sugiere que la combinación no produjo un efecto sinérgico significativo y, de hecho, la adición de AEE pudo haber atenuado ligeramente el potencial bactericida del AEJ puro, lo que justifica la exploración de AEJ como agente único.

En el contexto de la creciente resistencia a múltiples fármacos (MDR), los resultados de esta investigación respaldan la promesa de los aceites esenciales como una alternativa terapéutica viable, tal como lo infieren Ibarra C. (2023) y Van L. et al. (2022). El AEJ se establece como el candidato más prometedor, dado que logró determinar valores de CMI y CMB frente a cepas de *P. aeruginosa* MDR, un patógeno de difícil manejo clínico. La CMI obtenida (36.0976 mg/ml) proporciona una medida de referencia para futuras formulaciones.

Aunque el AEE demostró un potencial limitado contra *P. aeruginosa* MDR, la actividad del AEJ, junto con la diferencia de efectividad observada entre cepas (pigmentadas vs. no pigmentadas), subraya la complejidad de la resistencia microbiana y la necesidad de continuar investigando los mecanismos de acción específicos de los aceites esenciales. La clave del éxito reside en aprovechar la potencia del AEJ para desarrollar un agente antimicrobiano eficaz y natural.

Los resultados de la prueba de difusión en disco en la prueba piloto revelaron un patrón de resistencia altamente significativo: las cepas con fenotipo pigmentado (incluyendo la Cepa 2575 productora de pioverdina, así como las cepas 360, 361, 362, 363 y 365) demostraron ser las más resistentes a la acción de los tres aceites esenciales. Esta observación se alinea con la literatura que sugiere que la pioverdina, un sideróforo verde/amarillo fluorescente, no solo participa en la adquisición de hierro, sino que también está estrechamente ligada a mecanismos de patogenicidad y la formación de biopelículas, que son en sí mismas barreras físicas contra los agentes antimicrobianos. El caso extremo de la Cepa 2575, que exhibió total inactividad al AEE (0.00 mm), y las cepas 361 y 363, cuya CMI y CMB no se alcanzaron para el AEJ ni el AEEC, establece que este fenotipo MDR plus pigmentación representa un nivel de protección superior que reduce drásticamente la eficacia de los componentes lipofílicos de los aceites esenciales.

El aumento de la resistencia en cepas pigmentadas y no pigmentadas de *P. aeruginosa* frente a los aceites esenciales se debe a un complejo sistema de barreras físicas y mecanismos de eflujo activo. El mecanismo molecular clave que le confiere esta resistencia es la baja permeabilidad de su membrana externa (común en todas las *P. aeruginosa* Gram-negativas), potenciada en las cepas pigmentadas (productoras de piocianina o pioverdina) por la extensa matriz de la biopelícula (biofilm) que actúa como una capa protectora física. La biopelícula es un complejo de polisacáridos y proteínas que dificulta la difusión de los compuestos lipofílicos

del aceite esencial hacia el interior de la célula. Adicionalmente, tanto las cepas pigmentadas (particularmente) como las no pigmentadas utilizan bombas de eflujo multidroga (MDR efflux pumps), como el sistema MexAB-OprM, que son capaces de expulsar activamente los componentes activos del aceite esencial (terpenoides y fenoles) fuera del citoplasma antes de que puedan alcanzar sus objetivos moleculares (membrana interna, enzimas o ADN). Esta combinación de membrana externa robusta, protección de la biopelícula y expulsión activa molecular, confiere a la bacteria una resistencia intrínseca y adquirida superior^(65,79,80).

En resumen, los resultados de este estudio identifican al aceite esencial de jengibre (*Zingiber officinale*) como el principal candidato fitoquímico para el desarrollo de nuevas estrategias contra *P. aeruginosa* MDR. Su eficacia superior, atribuida a la alta concentración de sesquiterpenos, contrasta marcadamente con la debilidad bacteriostática del aceite esencial de Eucalipto. No obstante, la alta resistencia observada en las cepas pigmentadas y el fenómeno de antagonismo en la mezcla AEE/AEJ sugieren que las futuras investigaciones deben enfocarse en: 1) aislar y purificar los sesquiterpenos específicos del AEJ para maximizar la potencia bactericida y eludir el antagonismo; y 2) explorar estrategias de sinergismo no con AEE, sino con otros agentes, como los antibióticos convencionales o agentes que degraden la biopelícula, para superar la resistencia de las cepas pigmentadas y lograr un efecto terapéutico viable.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Conclusión General

- El estudio comparativo de la actividad antibacteriana evidenció que el aceite esencial de jengibre (AEJ) posee una eficacia significativamente superior frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* MDR en comparación con el aceite esencial de eucalipto (AEE), el cual mostró una sensibilidad baja y un carácter predominantemente bacteriostático al no alcanzar la Concentración Mínima Bactericida (CMB). Por su parte, el aceite esencial combinado (AEC) logró potenciar la respuesta inhibitoria respecto al eucalipto, alcanzando niveles de sensibilidad media comparables a los del jengibre.

Conclusiones Específicas

- El aceite esencial de Eucalipto (AEE), en sus concentraciones de 100%, 75% y 50%, demostró una eficacia antibacteriana limitada frente a las cepas de *P. aeruginosa* MDR (MDR), siendo clasificado predominantemente en el rango de sensibilidad baja. La cepa más sensible al AEE fue la Cepa 07, con una media máxima de 9.33 mm en la concentración de 100%, mientras que la Cepa 2575 mostró total inactividad (0.00 mm). A nivel cuantitativo, el AEE es fundamentalmente bacteriostático, ya que su Concentración Mínima Bactericida (CMB) fue "No Alcanzada" a la concentración máxima probada (41.1936 mg/mL) para cinco de las seis cepas principales.
- El aceite esencial de jengibre (AEJ) demostró una eficacia antibacteriana significativamente superior al AEE en la prueba de difusión en disco, alcanzando hasta sensibilidad alta (media de 22.00±3.00 mm) en la Cepa 07 al 50% y consistentemente sensibilidad media en otras cepas sensibles. El AEJ puro (100%) mostró los mayores diámetros de halo en las cepas más sensibles, aunque las concentraciones diluidas (especialmente AEJ 50%) fueron inesperadamente las más potentes en cepas como la

Cepa 07 y Cepa 365. A pesar de su potencia, el AEJ puro (100%) presentó una alta variabilidad (DE de 3.60555 en Cepa 07), lo que sugiere una respuesta heterogénea del inóculo.

- El aceite esencial combinado (AEC), en sus concentraciones de 100%, 75% y 50%, demostró una eficacia antibacteriana superior a la del aceite esencial de eucalipto (AEE) y comparable a la del aceite esencial de jengibre (AEJ) frente a las cepas de *P. aeruginosa* MDR. El AEC mostró halos de inhibición clasificados predominantemente como sensibilidad media (media de 11.83 ± 1.83 mm a 100%). El AEC evidenció su mayor actividad en la Cepa 360 (sensibilidad alta con 22.33 mm a 100%), mientras que las cepas pigmentadas (Cepa 361) mostraron la menor susceptibilidad.
- El Aceite de jengibre (AEJ) fue el único con un claro efecto bactericida, logrando determinar la CMB en tres de las seis cepas principales (362, 365, 370) en concentraciones entre 36.0976 mg/mL y 39.3792 mg/mL. El aceite combinado (AEC) mostró un comportamiento cuantitativo similar al AEJ, logrando la CMB en las cepas 362 y 365 a 36.9336 mg/mL, pero su acción bactericida en general fue inferior a la del AEJ puro (CMB inalcanzada para la Cepa 370). Las cepas 361 y 363 demostraron ser altamente resistentes al ser las únicas en las que no se pudo determinar la CMI ni la CMB para ninguno de los tres aceites esenciales en el rango de concentración evaluado.
- Se confirmó que las cepas con fenotipo pigmentado (asociado a la producción de pioverdina) demostraron ser, en general, las más resistentes a la acción de todos los aceites esenciales. La total inactividad del AEE contra la Cepa 2575 pigmentada (0.00 mm) y la resistencia de las cepas 361 y 363 a la CMB sugieren que la pigmentación confiere un mecanismo adicional de protección contra la penetración de los compuestos lipofílicos de los aceites esenciales.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda realizar estudios de fraccionamiento químico dirigido del aceite esencial de jengibre (*Z. officinale*) para aislar y purificar los sesquiterpenos específicos responsables de la actividad bactericida. Esto permitiría concentrar el principio activo y minimizar el efecto de los componentes menos eficaces o antagonistas.
- Dado el bajo rendimiento de extracción del jengibre (0.05%) y la alta desviación estándar observada en sus concentraciones puras, se sugiere explorar el uso de nanopartículas lipídicas o emulsiones estables para mejorar la solubilidad, la predictibilidad de la dosis (reducir la DE) y la penetración celular de los sesquiterpenos.
- Se recomienda investigar el potencial sinergismo del aceite esencial de jengibre, no con el eucalipto (dada la evidencia de antagonismo parcial/aditividad débil), sino con antibióticos convencionales (meropenem o ceftazidima). Esto podría permitir reducir las dosis efectivas de los antibióticos y mitigar la multirresistencia.
- Dada la marcada resistencia de las cepas pigmentadas, se sugiere realizar estudios que evalúen la capacidad del aceite esencial de jengibre para inhibir la producción de pioverdina y/o la formación de biopelículas, lo que podría ser un mecanismo de acción complementario más efectivo que la mera lisis celular.
- En futuros estudios, se debe aumentar el rango de concentración para la prueba de CMI y CMB (superando los 41.1936 mg/mL) para determinar con exactitud la CMB para las cepas altamente resistentes (361, 363 y aquellas tratadas con AEE), lo cual es fundamental para una caracterización completa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moradali M, Ghods S, Rehm B. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence. Vol. 7, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Frontiers Research Foundation; 2017.
2. Pang Z, Raudonis R, Glick B, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. Vol. 37, *Biotechnology Advances*. Elsevier Inc.; 2019. p. 177–92.
3. Bassetti M., Vena A., Croxatto A., Righi E., Guery B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. International Committee Medical Journal Editors. 2018;11.
4. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Kattula D, Burkert F. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics [Internet]. Available from: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>
5. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology* [Internet]. 2008 Feb 1 [cited 2025 Aug 1];46(2):446–75. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691507004541>
6. Tongnuanchan P, Benjakul S. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and their uses for food preservation. *J Food Sci*. 2014;79(7).
7. Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Curr Med Chem* [Internet]. 2005 Mar 23 [cited 2025 Aug 1];10(10):813–29. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12678685/>

8. Sadlon A, Lamson D. Immune-modifying and antimicrobial effects of *Eucalyptus* oil and simple inhalation devices. 2010 Apr [cited 2025 Aug 1];15:33–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20359267/>
9. Butt MS, Sultan MT. Ginger and its health claims: Molecular aspects. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2011 May [cited 2025 Aug 1];51(5):383–93. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21491265/>
10. Park M, Bae J, Lee DS. Antibacterial activity of [10]-gingerol and [12]-gingerol isolated from ginger rhizome against periodontal bacteria. *Phytotherapy Research* [Internet]. 2008 Nov [cited 2025 Aug 1];22(11):1446–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18814211/>
11. Carson C, Hammer K, Riley T. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2006 [cited 2025 Aug 1];19(1):50–62. Available from: <http://cmr.asm.org/>
12. C Ibarra. Estudio documental de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales y extractos de origen natural frente a bacterias multidrogorresistentes. 2023.
13. Van LT, Hagi I, Popovici A, Marinescu F, Gheorghe I, Curutiu C, et al. Antimicrobial Efficiency of Some Essential Oils in Antibiotic-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. *Plants* 2022, Vol 11, Page 2003 [Internet]. 2022 Jul 31 [cited 2025 Sep 17];11(15):2003. Available from: <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/15/2003/htm>
14. Regalado L, Rodriguez S. Estudio “in vitro” del efecto antibacteriano de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus viminalis* frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* [Internet]. Universidad Científica del Sur; 2023 [cited 2025 Oct 31]. Available from: <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/2889>

15. Armas Zavaleta E. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* comparado con gentamicina. 2019;
16. Cabrera C, Marín L. Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial del rizoma de *Zingiber officinale Roscoe* “Jengibre” en cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, Cajamarca - 2014. 2016;
17. Allegranzi B, Nejad SB, Combescure C, Graafmans W, Attar H, Donaldson L, et al. Burden of endemic health-care-associated infection in developing countries: systematic review and meta-analysis. *The Lancet* [Internet]. 2011 Jan 15 [cited 2025 Sep 17];377(9761):228–41. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0140673610614584>
18. Report on the Burden of Endemic Health Care-Associated Infection Worldwide Clean Care is Safer Care. 2011 [cited 2025 Sep 17]; Available from: www.who.int
19. ANTIMICROBIAL RESISTANCE Global Report on Surveillance.
20. Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. 2022 Feb 12;399(10325):629–55.
21. M. Moradali; S. Ghods; B. Rehm. *Pseudomonas aeruginosa* Lifestyle: A Paradigm for Adaptation, Survival, and Persistence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* | www.frontiersin.org [Internet]. 2017 Feb [cited 2025 Sep 20];7:39. Available from: [10.3389/fcimb.2017.00039](https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00039)

22. Dodd C. *PSEUDOMONAS* . In: Encyclopedia of Food Microbiology [Internet]. 2nd ed. Academic Press; 2014 [cited 2025 Sep 20]. p. 244–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123847300002822>
23. *Pseudomonas aeruginosa*: Introduction, Identification Features [Internet]. 2022 [cited 2025 Sep 20]. Available from: <https://medicallabnotes.com/pseudomonas-aeruginosa-introduction-identification-features-keynotes-and-pseudomonas-footages/>
24. Resquín F, Balmelli Gustavo. *Eucalyptus globulus*: Importancia de la elección de la fuente de semilla Estrategia seguida por el INIA. INIA [Internet]. 2005 [cited 2025 Sep 20];3. Available from: <https://ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/220/1/111219220807151437.pdf>
25. Shiekh R, Atwa A, Elgindy A, Mustafa A, Senna M, Alkabbani M, et al. Therapeutic applications of eucalyptus essential oils. Inflammopharmacology [Internet]. 2025 Jan 1 [cited 2025 Sep 20];33(1):163–82. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39499358/>
26. Čmiková N, Galovičová L, Schwarzová M, Vukic M, Vukovic N, Kowalczewski P, et al. Chemical Composition and Biological Activities of *Eucalyptus globulus* Essential Oil. Plants 2023, Vol 12, Page 1076 [Internet]. 2023 Feb 28 [cited 2025 Sep 20];12(5):1076. Available from: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/5/1076/htm>
27. Shala A, Gururani M. Phytochemical Properties and Diverse Beneficial Roles of *Eucalyptus globulus* Labill.: A Review. Horticulturae 2021, Vol 7, Page 450 [Internet]. 2021 Nov 2 [cited 2025 Sep 20];7(11):450. Available from: <https://www.mdpi.com/2311-7524/7/11/450/htm>

28. Sasidharan I, Menon AN. Comparative chemical composition and antimicrobial activity fresh & dry Ginger oils (*Zingiber Officinale roscoe*). International Journal of CURRENT PHARMACEUTICAL. 2010;2(4):40–3.
29. Zhang S, Zhang L, Yu M, Luo D, Chen S, Liu W, et al. Essential oils of *Zingiber officinale*: Chemical composition, in vivo alleviation effects on TPA induced ear swelling in mice and in vitro bioactivities. Front Nutr. 2022 Oct 24;9:1043175.
30. Ayustaningwarno F, Anjani G, Ayu AM, Fogliano V. A critical review of Ginger's (*Zingiber officinale*) antioxidant, anti-inflammatory, and immunomodulatory activities. Front Nutr [Internet]. 2024 [cited 2025 Sep 20];11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38903613/>
31. Ishfaq M, Hu W, Hu Z, Guan Y, Zhang R. A review of nutritional implications of bioactive compounds of Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*), their biological activities and nano-formulations. Italian Journal of Food Science [Internet]. 2022 Jul 29 [cited 2025 Sep 20];34(3):1–12. Available from: <https://www.itjfs.com/index.php/ijfs/article/view/2212/845>
32. Miri Y. Essential Oils: Chemical Composition and Diverse Biological Activities : A Comprehensive Review. Nat Prod Commun [Internet]. 2025 Jan 1 [cited 2025 Sep 20];20(1). Available from: https://scholar.google.com/scholar_url?url=https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X241311790&hl=es&sa=T&oi=ucasa&ct=uf&ei=Q4vQaIz7CaDWieoPyfiAmA8&scisig=AAZF9b8f2LHQlFGyWLkfmCC5Oi1j
33. Rouf Abdul, Yadav Kanchan, Khursheed Aadil, Ahmad Manzoor. An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza

- and coronaviruses . *Microb Pathog* [Internet]. 2021 [cited 2025 Sep 20];152. Available from: 10.1016/j.micpath.2020.104620
34. Khwaza V, Aderibigbe B. Antibacterial Activity of Selected Essential Oil Components and Their Derivatives: A Review. *Antibiotics* 2025, Vol 14, Page 68 [Internet]. 2025 Jan 10 [cited 2025 Sep 20];14(1):68. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-6382/14/1/68/htm>
35. Elkolli M, Elkolli H. The management of Covid 19 by plant exttracts, essential oils and phytoconstituents: a review. *APTEFF* [Internet]. 2022 [cited 2025 Sep 20];53:1–302. Available from: <https://doi.org/10.2298/APT2253188E>
36. Abass S, Parveen R, Irfan M, Malik Z, Husain SA, Ahmad S. Mechanism of antibacterial phytoconstituents: an updated review. *Arch Microbiol* [Internet]. 2024 Jul 1 [cited 2025 Sep 20];206(7):1–21. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00203-024-04035-y>
37. Souiy Z. Essential Oil Extraction Process [Internet]. 2024 [cited 2025 Sep 20]. Available from:
https://www.researchgate.net/publication/376337210_Essential_Oil_Extraction_Process
38. Li F, Deng L, Xu Q, Yuan K, Song H. Extractive separation of 1,8-cineole and γ -terpinene with lactic acid-based deep eutectic solvents. *J Mol Liq* [Internet]. 2022 Oct 1 [cited 2025 Sep 20];363:119828. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167732222013666>
39. Moo CL, Osman M, Yang SK, Yap WS, Ismail S, Lim SHE, et al. Antimicrobial activity and mode of action of 1,8-cineol against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Scientific Reports* [Internet]. 2021;11.

40. Karuppiah V, Thirunanasambandham R, Thangaraj G. Anti-quorum sensing and antibiofilm potential of 1,8-cineole derived from *Musa paradisiaca* against *Pseudomonas aeruginosa* strain PAO1. *World J Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2025 Sep 20];37(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33740144/>
41. Merghni A, Belmamoun AR, Urcan AC, Bobiš O, Lassoued MA. *1,8-Cineol (Eucalyptol) Disrupts Membrane Integrity and Induces Oxidative Stress in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus**. *Antioxidants (Basel)* [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2025 Sep 20];12(7). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37507929/>
42. Merghni A, Noumi E, Hadded O, Dridi N, Panwar H, Ceylan O, et al. Assessment of the antibiofilm and antiquorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* essential oil and its main component *1,8-cineole* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Microb Pathog* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2025 Sep 20];118:74–80. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401018301608>
43. Orbegoso R. Actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) en cepas de *Klebsiella pneumoniae* productora de betalactamasas de espectro extendido [Internet]. [La Libertad]; 2019 [cited 2025 Sep 20]. Available from: <https://hdl.handle.net/20.500.14414/15241>
44. Xiomara R, Omar Cuadro. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies *Eucalyptus globulus* y *E. camaldulensis* de tres zonas de Pamplona (Colombia). 2012 [cited 2025 Sep 20];10(1):52–61. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/903/90326398003.pdf>
45. Montero M, Morocho M, Avilés D, Carrasco Á, Erazo R. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus spp*) sobre cepas de *Escherichia coli* y

Staphylococcus aureus subsp. *aureus*. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú [Internet]. 2019 [cited 2025 Sep 20];30(2):932–8. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172019000200042&lng=es&nrm=iso&tlang=es

46. Angela Sadlon, Davis Lamson. Immune-modifying and antimicrobial effects of *Eucalyptus oil* and simple inhalation devices . 2010 Apr [cited 2025 Sep 20];15(1):33–47. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20359267/>
47. Armas E. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* comparado con gentamicina. 2019 [cited 2025 Sep 20]; Available from: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCVV_5f81cdc0deb8004efda443533e026455
48. Phillip Thomas. Phytochemical Profiling of Ginger Essential Oil: Unveiling Bioactive Compounds and Their Pharmacological Significance [Internet]. 2024 [cited 2025 Sep 20]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/395272284_Phytochemical_Profiling_of_Ginger_Essential_Oil_Unveiling_Bioactive_Compounds_and_Their_Pharmacological_Significance
49. Abdullahi A, Khairulmazmi A, Yasmeen S, Ismail IS, Norhayu A, Sulaiman MR, et al. Phytochemical profiling and antimicrobial activity of ginger (*Zingiber officinale*) essential oils against important phytopathogens. Arabian Journal of Chemistry [Internet]. 2020 Nov [cited 2025 Sep 20];13(11). Available from: https://www.researchgate.net/publication/346192866_Phytochemical_profiling_and_a

- ntimicrobial_activity_of_ginger_Zingiber_officinale_essential_oils_against_important_phytopathogens_Production_and_hosting_by_Elsevier
50. Bertha Castillo. Efecto in vitro antimicrobiano de aceite esencial y extracto etanólico de jenjibre (*zingiber officinale*) frente a *streptococcus mutans* [Internet]. 2018 [cited 2025 Sep 20]. Available from: <https://dspace.uniandes.edu.ec/handle/123456789/8789>
51. Ventura N, Vilcahuaman A. Efecto antimicrobiano del Extracto Hidroalcohólico y Aceite Esencial de *Zingiber Officinale* (Jengibre) frente a *Escherichia Coli*. Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt [Internet]. 2023 Nov 24 [cited 2025 Sep 20]; Available from: <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/renati/691265>
52. Jose T, Salamanca G, Benitez M. Analysis of volatile compounds and antioxidant activity of Colombian ginger (*Zingiber officinale*) essential oil obtained by hydrohydraulic distillation assisted by microwave radiation. Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales. 2021 Jun 8;7(2):40–9.
53. Herraiz A, Arméstar F, Catalán B, Yin J, Roca J, Quesada MD. Impacto de las infecciones por bacterias multirresistentes en el enfermo crítico. Revista Médica de Trujillo [Internet]. 2019 Mar 11 [cited 2025 Sep 20];13(4):187–91. Available from: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/RMT/article/view/2222>
54. Kowalska B, Dudek R. The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. Pathogens [Internet]. 2021 Feb 1 [cited 2025 Sep 20];10(2). Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7913839/>
55. García L, Higuera R, Rivero N, Morales- A, Valladares B, de la Cruz H, et al. Antibacterial Activity and Molecular Docking of Lignans Isolated from *Artemisia cina* Against Multidrug-Resistant Bacteria. Pharmaceuticals [Internet]. 2025 Jun 1 [cited

- 2025 Sep 20];18(6):781. Available from: <https://www.mdpi.com/1424-8247/18/6/781/htm>
56. Kundu R, Murugadoss K, Manoharan M, Mandal J. Burden of biocide resistance among multidrug-resistant bacteria isolated from various clinical specimens in a tertiary care hospital. *Indian J Med Microbiol* [Internet]. 2023 Nov [cited 2025 Sep 20];46. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0255085723001949>
57. Libertad Alzamora, Liliana Morales, Lourdes Armas, Gilma Fernández. Actividad Antimicrobiana *in vitro* de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. 2001 [cited 2025 Sep 20];62(2):156–61. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37962208>
58. Pompa M ; Malca N. Actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Thymus vulgaris* “tomillo” frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. 2019.
59. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing A CLSI supplement for global application [Internet]. 2020 [cited 2025 Sep 20]. Available from: <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf>
60. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters [Internet]. 2024 [cited 2025 Sep 20]. Available from: https://www.megumed.de/wp-content/uploads/2024/02/v_14.0_Breakpoint_Tables.pdf
61. Sharifi J, Sureda A, Tenore G, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M, et al. Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. *Molecules* : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry [Internet].

- 2017 Jan 1 [cited 2025 Sep 20];22(1):70. Available from:
<https://PMC.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6155610/>
62. Arias Choque T. Actividad antimicrobiana “*in vitro*” del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Breyne “canela” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Salmonella typhi* ATCC 19430 [Internet]. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2013 [cited 2025 Sep 20]. Available from:
<https://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/20.500.12510/3252>
63. Fimbres Jorge. Combinación de aceite esencial de *Lippia graveolens* e Imipenem para inhibir cultivos axénicos y co-cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* Y *Acinetobacter baumannii* [Internet]. 2023 [cited 2025 Oct 27]. Available from:
<https://ciad.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1006/1254/1/Jorge%20Omar%20Fimbres%20Garc%C3%A3DA.pdf>
64. Jabo Carito. “evaluación del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. ‘albahaca’ Y *Zingiber officinale* Roscoe ‘jengibre’ frente a cepas patógenas del género *Vibrio* aisladas de langostinos enfermos cultivados en centros acuícolas de Tumbes – Perú” [Internet]. [Lima]: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2023 [cited 2025 Oct 27]. Available from:
https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/13444/Evaluacion_Jabo_Abad_Carito.pdf?sequence=1
65. Gómez C, Leal A, Pérez M, Navarrete M. Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo. Revista de la Facultad de Medicina [Internet]. 2005 [cited 2025 Nov 1];53(1):27–34. Available from:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112005000100004&lng=en&nrm=iso&tlang=es

66. Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2005 Jul [cited 2025 Nov 1];56(1):20–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15914491/>
67. Murata M, Kosai K, Mitsumoto F, Kaku N, Hasegawa H, Izumikawa K, et al. Antimicrobial susceptibility and resistance mechanisms to antipseudomonal β -lactams in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from blood. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2025 May 6 [cited 2025 Nov 1];13(5):e02790-24. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12054155/>
68. Glen K, Lamont I. β -lactam Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Current Status, Future Prospects. *Pathogens* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2025 Nov 1];10(12):1638. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8706265/>
69. Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs*. 2007;67(3):351–68.
70. Aceite Esencial Eucalipto Globulus (*Eucalyptus Globulus*) [Internet]. [cited 2025 Oct 27]. Available from: <https://www.youngliving.com/us/es/product/eucalyptus-globulus-essential-oil>
71. Markowski J, Junka A. Multifaceted Action of 1,8-Cineole in Antibacterial and Anti-inflammatory Treatment of Respiratory Tract Diseases. *Otolaryngologia Polska* [Internet]. 2025 Feb 28 [cited 2025 Oct 27];79(1):1–5. Available from: <https://otolaryngologypl.com/article/549607/en>
72. Aceite Esencial de Jengibre Kión / Ginger (*Zingiber officinale*) - Yauvana Peru Lima [Internet]. [cited 2025 Oct 27]. Available from: <https://www.yauvanaperu.com/productos/aceites-esenciales-aromaterapia/aceite-esencial-de-jengibre-ki%C3%B3n-ginger-zingiber-officinale/>

73. Cano Laura. Efectos antimicrobianos y antiespasmódico del aceite esencial y sus componentes mayoritarios presentes en las hojas de guayaba (*Psidium guajava L.*) [Internet]. [Querétaro, Qro]: Universidad Autónoma de Querétaro; 2013 [cited 2025 Oct 27]. Available from: <https://ri-ng.uaq.mx/bitstream/123456789/4939/1/RI001123.pdf>
74. Singh A, Tanwar A, Narula A, Kumar R. *Zingiber officinale*: Its antibacterial activity on *Pseudomonas aeruginosa* and mode of action evaluated by flow cytometry. *Microb Pathog* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2025 Oct 27];107:254–60. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0882401017300815>
75. Hancock REW, Speert DP. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and impact on treatment. *Drug Resistance Updates*. 2000;3(4):247–55.
76. Zapata Y, Gómez M, Botina B. Evaluación de antagonistas microbianos y aceites esenciales en el control de *Sclerotium cepivorum* en ajo en condiciones controladas. *Revista mexicana de fitopatología* [Internet]. 2020 Apr 8 [cited 2025 Oct 27];38(2):182–97. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092020000200182&lng=es&nrm=iso&tlng=es
77. Blanco A, García R, Sánchez R, Palma M, Cibrián J, Muñoz N, et al. Evaluación de la actividad antivirulencia de aceites esenciales contra *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista fitotecnia mexicana* [Internet]. 2020 Oct [cited 2025 Oct 27];42(3). Available from: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802019000300215
78. Mezclas de aceites esenciales y sinergias con aromas | Balmoria [Internet]. [cited 2025 Oct 27]. Available from: <https://balmoria.com/mezclas-de-aceites-esenciales-y-sinergias/>

79. Lyczak J, Cannon C, Pier G. Lung Infections Associated with Cystic Fibrosis. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2002 [cited 2025 Nov 1];15(2):194. Available from: <https://PMC118069/>
80. Rodríguez A, Burgos A. Mecanismos de resistencia de la *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Peruana de Ciencias de la Salud* [Internet]. 2024 Jan 5 [cited 2025 Nov 1];6(1):58–65. Available from: <https://revistas.udh.edu.pe/RPCS/article/view/522/893>

ANEXOS

Anexo 1. Obtención de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale* mediante destilación por arrastre con vapor de agua



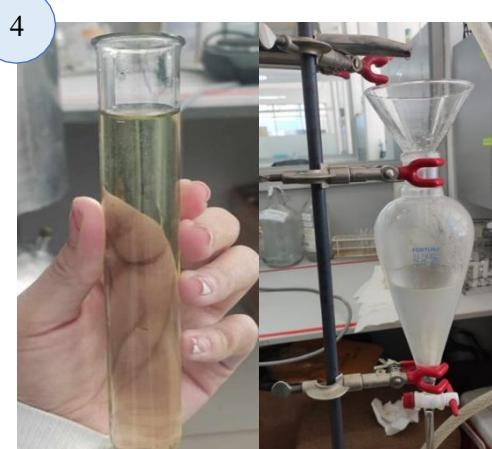
Secado de la materia vegetal



Equipo de destilación

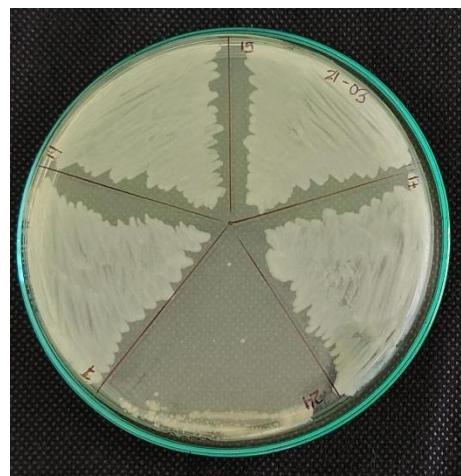


Decantación del aceite esencial



Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale*

Anexo 2. Reactivación de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* MDR en agar cetrimide



Obtención de masa bacteriana
para posterior purificación

Anexo 3. Purificación de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* MDR en agar cetrimide.

Cepa n°07

Cepa n°14

Cepa n°15



Cepa n°22

Cepa n°23

Cepa n°2575



Cepa n°360

Cepa n°361

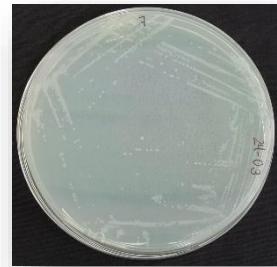
Cepa n°362



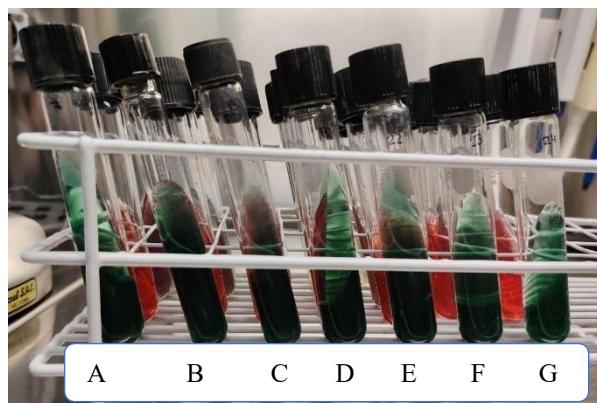
Cepa n°363

Cepa n°365

Cepa n°370



Anexo 4. Identificación bioquímica de *Pseudomonas aeruginosa* MDR



Tubos de ensayo sin inocular

A: cepa n°07; **B:** cepa n°14; **C:** cepa n°15; **D:** cepa n°2575; **E:** cepa n°22; **F:** cepa n°23; **G:** Tubo de control de calidad del medio



Tubos de ensayo inoculados



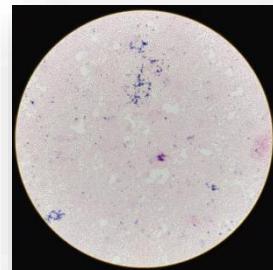
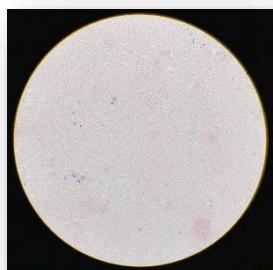
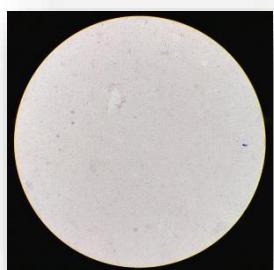
Todas las cepas utilizadas (cepas de prueba piloto n°07, 14, 15, 22, 23, 2275 y cepas de pruebas de sensibilidad n°360, 361, 362, 365 y 370) fueron sometidos a las pruebas bioquímicas de **A:** Citrato de Simmons (+); **B:** TSI (K/K, sin gas, sin H₂S); **C:** LIA (K/R, H₂S negativo); **D:** SIM (H₂S negativo, Indol negativo, motilidad positiva).

Anexo 5. Tinción Gram de *Pseudomonas aeruginosa* MDR

Cepa n°07

Cepa n°14

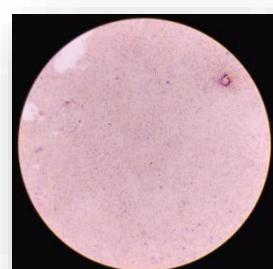
Cepa n°15



Cepa n°22

Cepa n°23

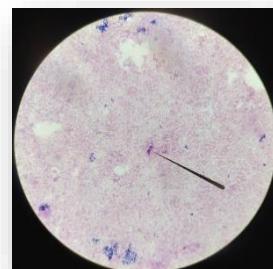
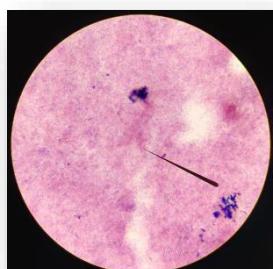
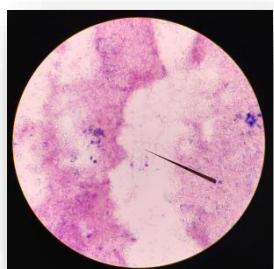
Cepa n°2575



Cepa n°360

Cepa n°361

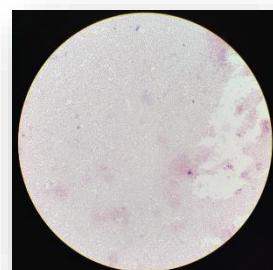
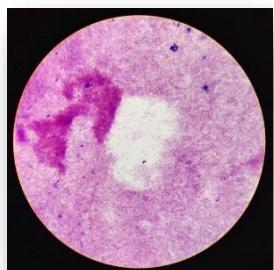
Cepa n°362



Cepa n°363

Cepa n°365

Cepa n°370



Anexo 6. Determinación de la resistencia a diferentes antibióticos.

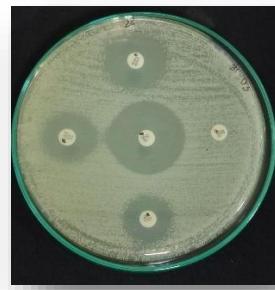
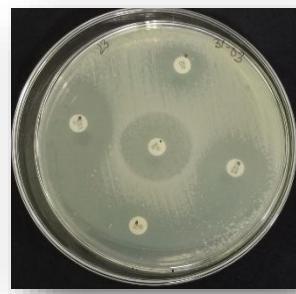
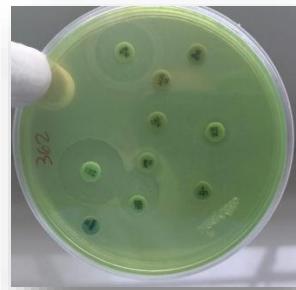
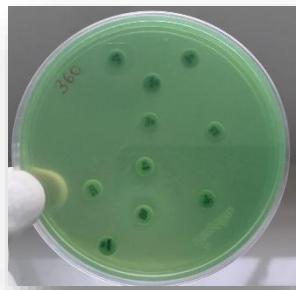
Código de Cepa	Cefalosporinas		Monobactámico	Carbapenémicos		Fluoroquinolonas		Gentamicina (CN)	Piperacilina/Tazobactam	Resistencia
	Cefepime	Ceftazidima	Aztreonam	Imipenem	Meropenem	Norfloxacino	Levofloxacino			
07	R	R	S	R	R	R	R	R	S	MDR
14	R	R	S	S	R	R	R	R	S	MDR
15	R	R	S	S	R	R	R	S	S	MDR
22	R	R	S	S	R	R	I	S	S	MDR
23	R	R	S	S	R	R	R	S	S	MDR
2575	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MDR

Código de Cepa	Cefalosporinas		Monobactámico	Carbapenémicos		Fluoroquinolonas		Gentamicina (CN)	Piperacilina/Tazobactam	Resistencia
	Cefepime	Ceftazidima	Aztreonam	Imipenem	Meropenem	Norfloxacino	Levofloxacino			
360	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MDR
361	R	R	S	R	R	R	R	R	S	MDR
362	R	R	S	R	R	R	R	R	R	MDR
363	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MDR
365	R	R	S	R	S	R	R	S	S	MDR
370	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MDR

Tabla de susceptibilidad para su clasificación en MDR, XDR y PDR

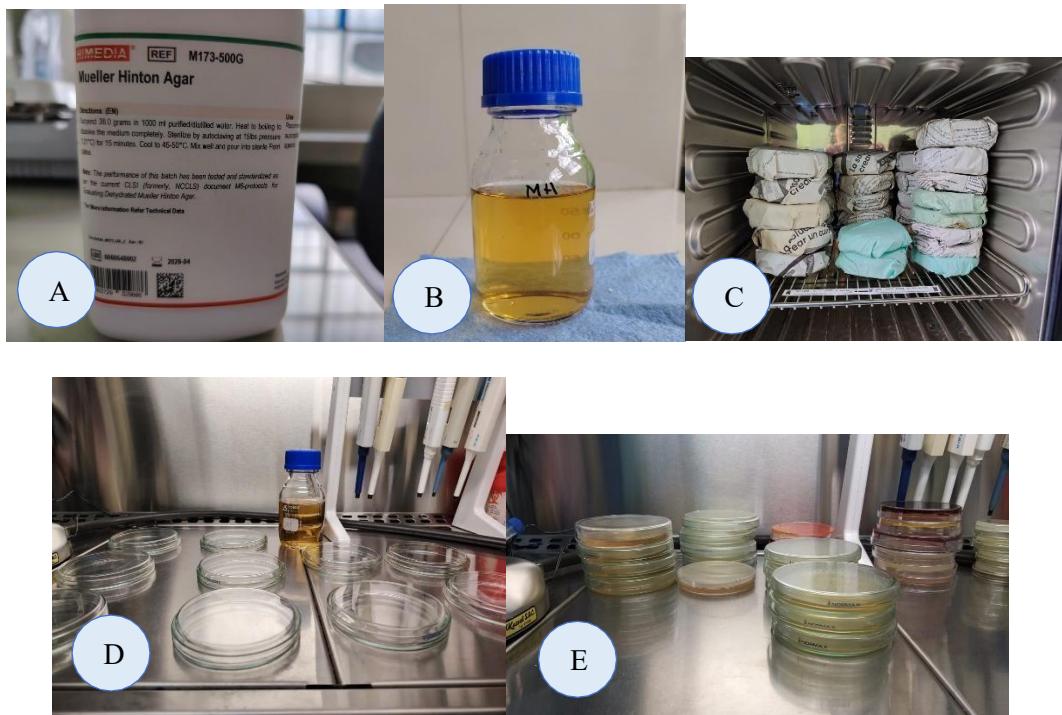
ANTIBIÓTICO	S (\geq mm)	I (mm)	R (\leq mm)
Piperacilina – Tazobactam	≥ 22	18–21	≤ 17
Ceftazidima	≥ 18	15–17	≤ 14
Cefepime	≥ 18	15–17	≤ 14
Aztreonam	≥ 22	16–21	≤ 15
Imipenem	≥ 19	16–18	≤ 15
Meropenem	≥ 19	16–18	≤ 15
Gentamicina	≥ 15	13–14	≤ 12
Amikacina	≥ 17	15–16	≤ 14
Ciprofloxacino	≥ 25	19–24	≤ 18
Levofloxacino	≥ 22	15–21	≤ 14

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SENSIBLE	1 – 3
	MDR	4 – 8
	XDR	9 – 10
	PDR	11 a más



Antibiogramas de los aislamientos puros de *Pseudomonas aeruginosa* MDR

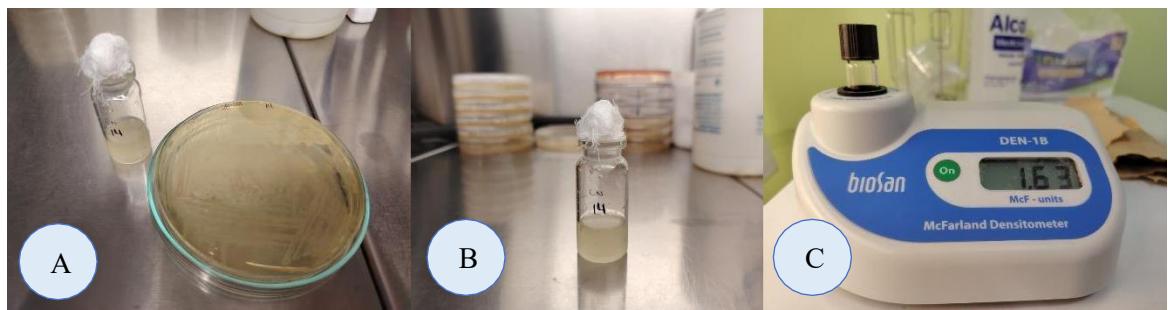
Anexo 7. Preparación de medio Mueller Hinton, preparación de las concentraciones (100%, 75%, 50%) de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale*, y medición de turbidez en tubos de solución salina para realizar pruebas de sensibilidad por difusión en disco.



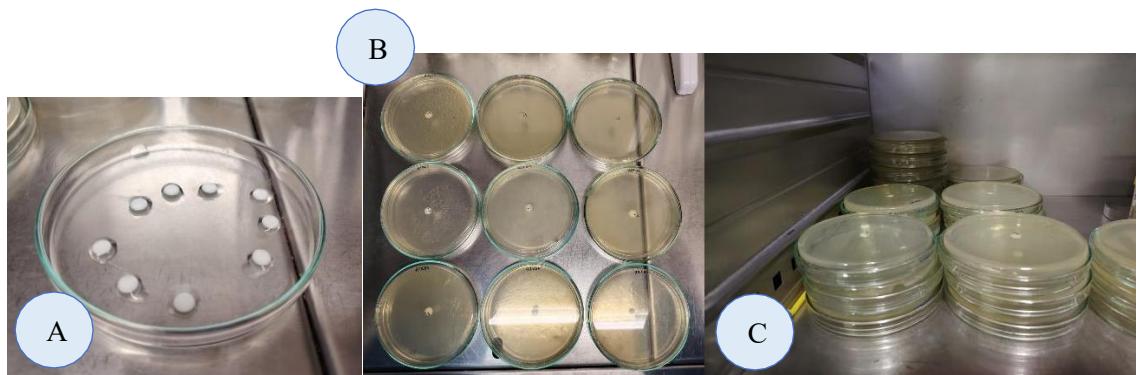
A: Agar Mueller Hinton; **B:** Agar Mueller Hinton preparado y esterilizado; **C:** Placas Petri en horno para esterilizar; **D:** medio de cultivo listo para servir en placas estériles; **E:** medio de cultivo solidificado.



A: 3 concentraciones (100%, 75%, 50%) de aceite esencial de eucalipto; **B:** 3 concentraciones (100%, 75%, 50%) de aceite esencial de jengibre; **C:** 3 concentraciones (100%, 75%, 50%) de aceite esencial combinado.



A: preparación de los inóculos; **B:** inoculo bacteriano; **C:** medición de la densidad bacteriana en el densitómetro.



A: discos blancos de difusión con aceite esencial; **B:** prueba de Kirby Bauer con discos blancos y aceite esencial; **C:** incubación de las placas con discos blancos de difusión.

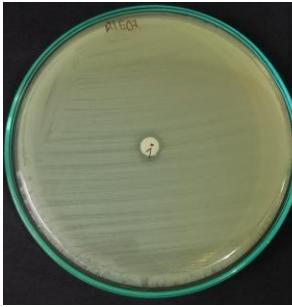
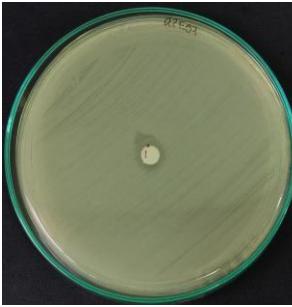
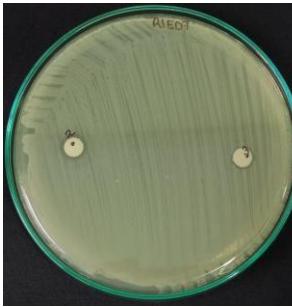
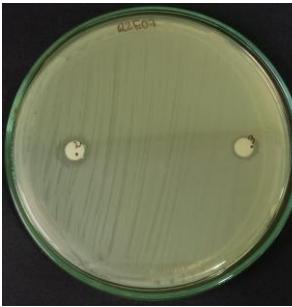
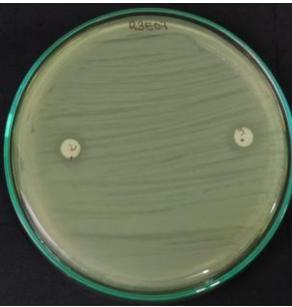
Anexo 8: Evaluación de efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale*

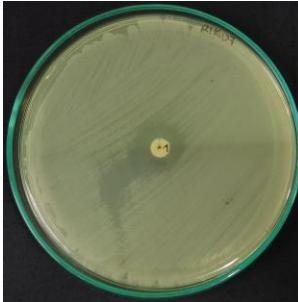
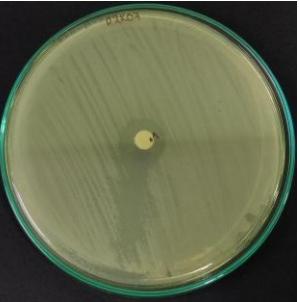
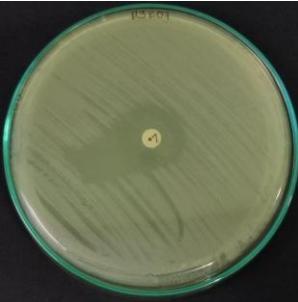
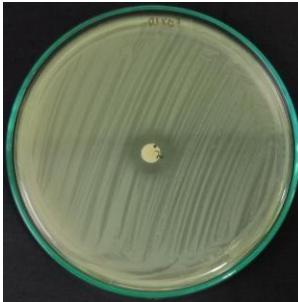
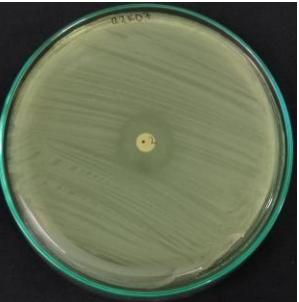
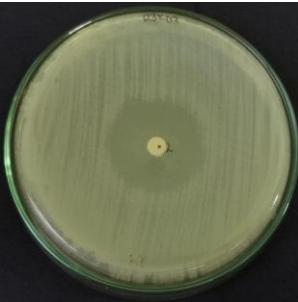
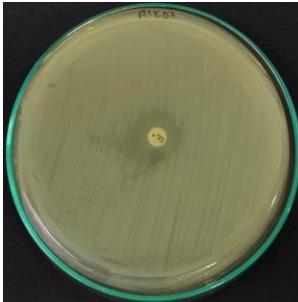
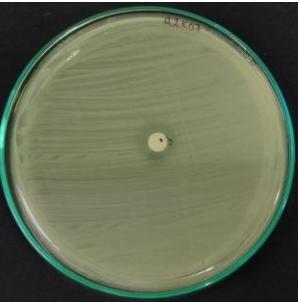
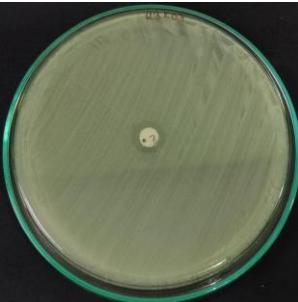
Código cepa	AEE 100%				AEE 75%				AEE 50%				AEJ 100%				AEJ 75%				AEJ 50%				AEC 100%				AEC 75%				AEC 50%			
	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P
7	9	9	10	9.3	8	8	9	8.3	7	7	8	7.3	16	14	21	17.0	13	19	15	15.7	16	12	10	12.7	15	16	15	15.3	14	13	15	14.0	11	10	10	10.3
14	10	9	9	9.3	12	19	15	15.3	9	10	10	9.7	17	17	16	16.7	15	16	16	15.7	19	25	22	22.0	13	13	13	13.0	11	12	12	11.7	12	10	12	11.3
15	14	13	14	13.7	13	13	11	12.3	12	11	10	11.0	16	15	15	15.3	15	13	13	13.7	12	12	11	11.7	14	15	15	14.7	13	12	12	12.3	11	12	11	11.3
22	12	14	13	13.0	11	12	12	11.7	10	11	11	10.7	15	16	17	16.0	13	14	13	13.3	11	13	12	12.0	15	13	14	14.0	13	12	11	12.0	12	11	11	11.3
23	10	10	11	10.3	9	9	10	9.3	9	9	9	9.0	14	12	13	13.0	11	12	11	11.3	10	10	11	10.3	13	11	12	12.0	11	10	10	10.3	10	9	9	9.3
2575	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	8	9	8	8.3	0	7	6	4.3	0	6	6	4.0	7	7	6	6.7	6	0	6	4.0	6	0	0	2.0

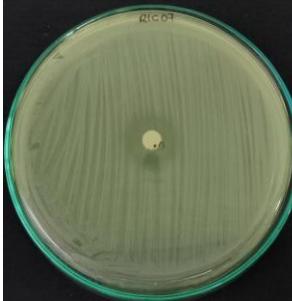
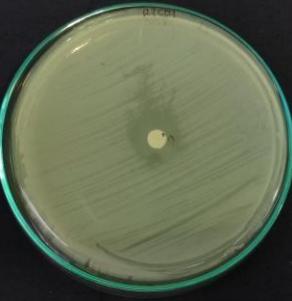
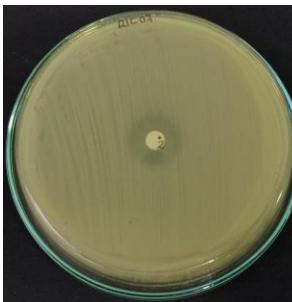
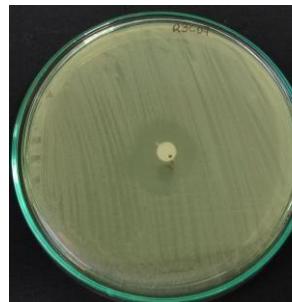
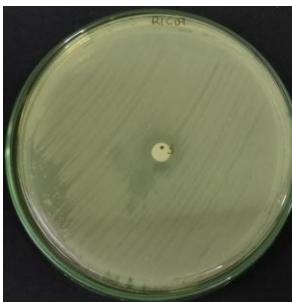
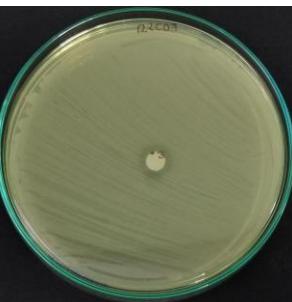
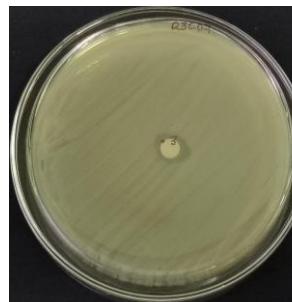
Código cepa	AEE 100%				AEE 75%				AEE 50%				AEJ 100%				AEJ 75%				AEJ 50%				AEC 100%				AEC 75%				AEC 50%			
	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P	I	II	III	P
360	11	10	13	11.3	10	9	10	9.7	11	9	9	9.7	9	10	8	9.0	9	10	8	9.0	10	10	8	9.3	7	10	8	8.3	10	10	12	10.7	7	7	8	7.3
361	8	8	9	8.3	8	9	8	8.3	7	9	9	8.3	10	10	8	9.3	10	10	9	9.7	8	9	10	9.0	7	8	9	8.0	8	9	10	9.0	7	8	10	8.3
362	12	10	13	11.7	12	10	11	11.0	12	9	11	10.7	7	8	8	7.7	11	12	9	10.7	11	10	11	10.7	8	9	7	8.0	10	10	8	9.3	7	7	9	7.7
363	9	8	9	8.7	10	8	9	9.0	10	8	10	9.3	9	8	11	9.3	12	13	10	11.7	13	11	11	11.7	9	10	7	8.7	9	11	11	10.3	9	11	11	10.3
365	9	8	9	8.7	10	7	8	8.3	9	8	8	8.3	11	12	11	11.3	15	16	11	14.0	16	13	15	14.7	10	11	11	10.7	14	13	12	13.0	9	10	10	9.7
370	8	8	9	8.3	10	7	8	8.3	9	9	7	8.3	10	11	7	9.3	12	9	11	10.7	8	9	8	8.3	11	9	11	10.3	12	9	11	10.7	10	11	13	11.3

Todas las cepas fueron trabajadas al triplicado (se muestra como ejemplo la cepa n° 07):

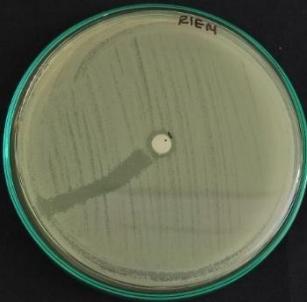
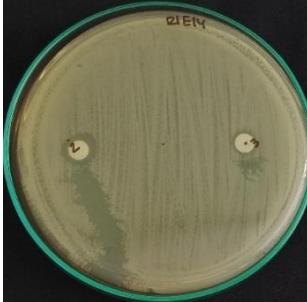
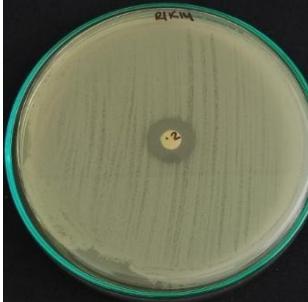
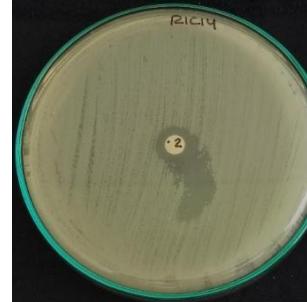
Cepa 07

EUCALIPTO	repetición n°1	repetición n°2	repetición n°3
100%			
75% y 50%			

JENGIBRE	repetición n°1	repetición n°2	repetición n°3
100%			
75%			
50%			

COMBINADO	repetición n°1	repetición n°2	repetición n°3
100%			
75%			
50%			

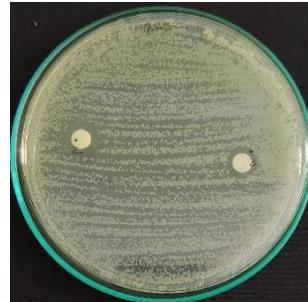
Cepa nº14

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

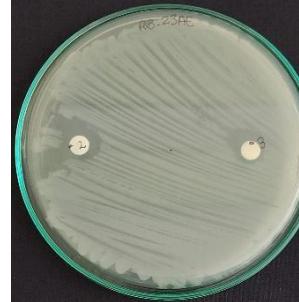
Cepa nº15

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

Cepa nº22

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

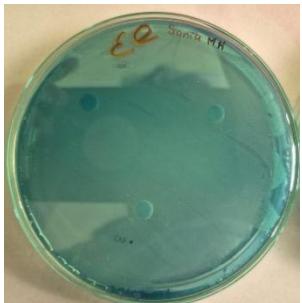
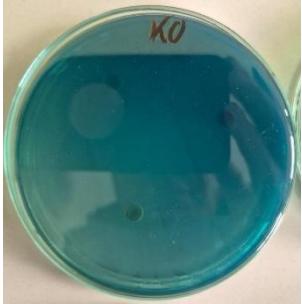
Cepa nº23

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

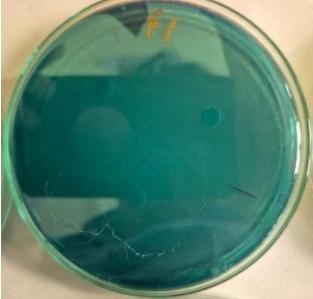
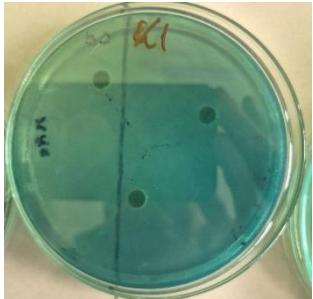
Cepa nº2575

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

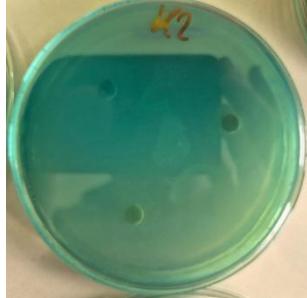
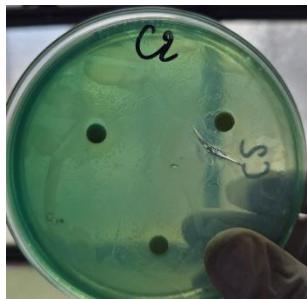
Cepa n°360

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

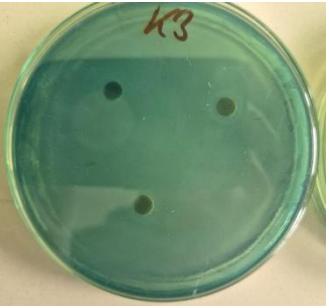
Cepa n°361

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

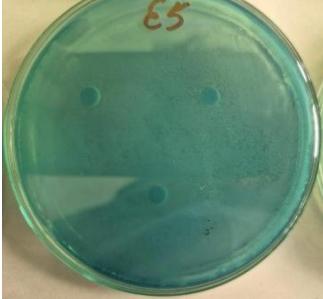
Cepa n°362

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

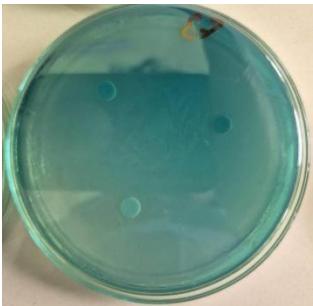
Cepa n°363

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

Cepa n°365

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

Cepa n°370

	100%	75%	50%
Eucalipto			
jengibre			
Combinado			

Anexo 9. Determinación de la CMI Y CMB

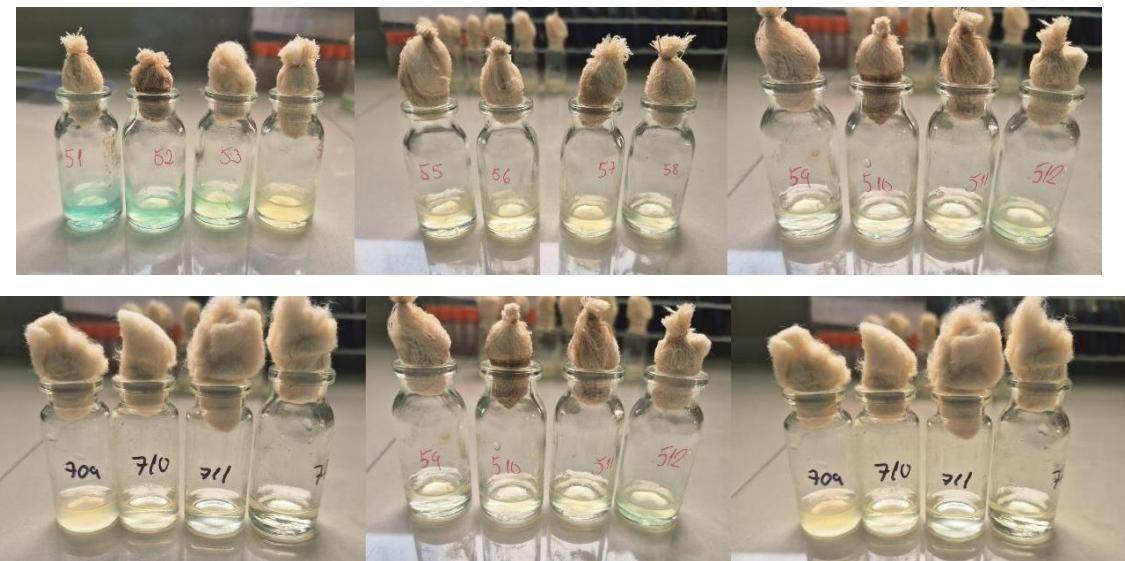
Determinación de la CMI del aceite esencial de eucalipto, donde podemos observar la nula inhibición (formación de pigmento) del aceite frente a las cepas 360, 361, 362, 363, 365, 370



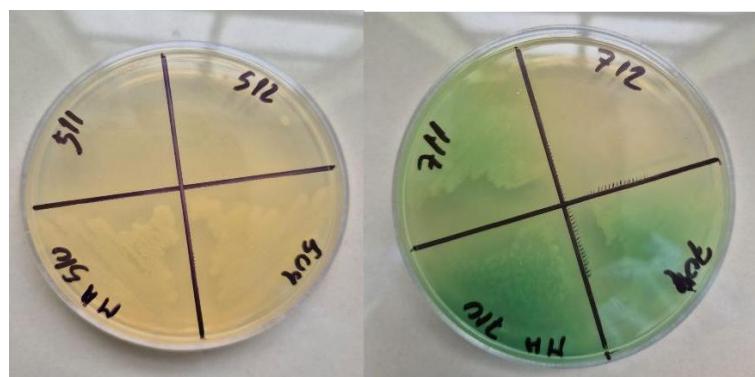
Determinación de la CMI del aceite esencial de jengibre, donde podemos observar cierta inhibición en 3 cepas



Determinación de la CMI del aceite esencial combinado



Determinación de Concentración Mínima Bactericida



Anexo 10. Concentraciones mínimas inhibitorias y concentraciones mínimas bactericidas

Código Cepa	CMI AEE (mg/mL)	CMB AEE (mg/mL)	CMI AEJ (mg/mL)	CMB AEJ (mg/mL)	CMI AEC (mg/mL)	CMB AEC (mg/mL)
360	37.7608	NC	36.0976	NC	36.9336	NC
361	>41.1936	NC	>39.3792	NC	>40.2912	NC
362	37.7608	NC	36.0976	39.3792	36.9336	36.9336
363	>41.1936	NC	>39.3792	NC	>40.2912	NC
365	37.7608	NC	36.0976	36.0976	36.9336	36.9336
370	37.7608	41.1936	36.0976	39.3792	36.9336	NC
*NC: No Alcanzada a la máxima concentración probada.						

Anexo 11. Batería de tubos de ensayo para determinar CMI

Nº Tubo	Volumen Solución Madre (μL)	Volumen caldo Mueller Hinton (μL)	Volumen Inóculo Bacteriano (μL)	Volumen Total (μL)
1	100	1900	500	2500
2	200	1800	500	2500
3	300	1700	500	2500
4	400	1600	500	2500
5	500	1500	500	2500
6	600	1400	500	2500
7	700	1300	500	2500
8	800	1200	500	2500
9	900	1100	500	2500
10	1000	1000	500	2500
11	1100	900	500	2500
12	1200	800	500	2500

Anexo 12. Prueba de normalidad

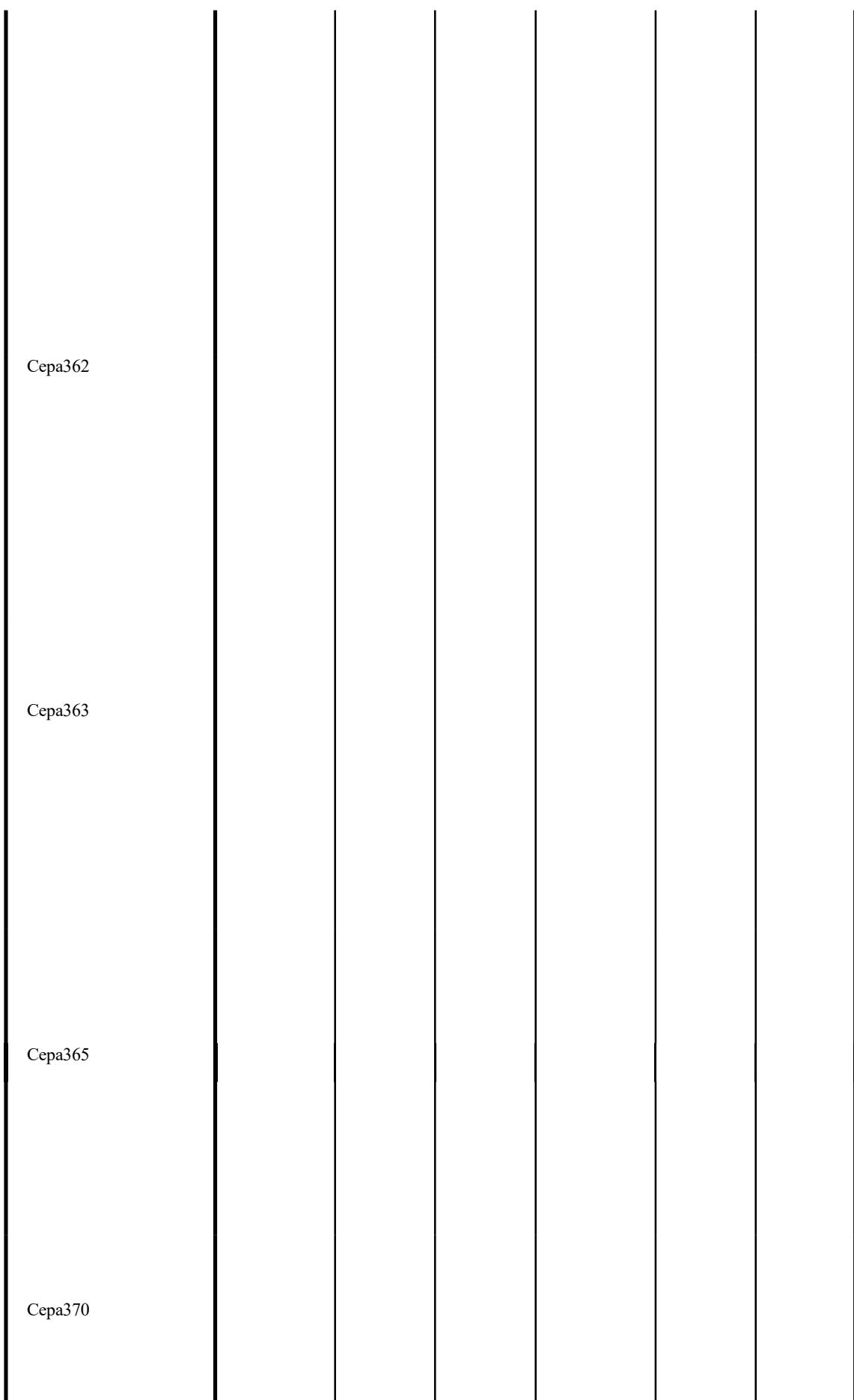
	Grupo	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Cepa7	AEC 100%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 75%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEE 100%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEE 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEE 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 100%	,276	3	.	,942	3	,537
	AEJ 50%	,253	3	.	,964	3	,637
	AEJ 75%	,253	3	.	,964	3	,637
	AEC 50%	,385	3	.	,750	3	,000
Cepa14	AEC 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEE 100%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEE 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEE 75%	,204	3	.	,993	3	,843
	AEJ 100%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 50%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEJ 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 100%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 75%	,385	3	.	,750	3	,000
Cepa15	AEE 100%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEE 50%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEE 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 100%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 100%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEC 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 75%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEE 100%	,175	3	.	1,000	3	1,000
Cepa22	AEE 50%	,385	3	.	,750	3	,000

	AEE 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 100%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEJ 50%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEJ 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 100%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEC 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEE 100%	,385	3	.	,750	3	,000
Cepa23	AEE 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 100%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEJ 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 100%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 50%	,385	3	.	,750	3	,000
Cepa2575	AEC 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 100%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 75%	,337	3	.	,855	3	,253

a. Corrección de la significación de Lilliefors

	Grupo	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
	AEC 100%	,253	3	.	,964	3	,637
	AEC 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEC 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEE 100%	,253	3	.	,964	3	,637
Cepa360	AEE 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEE 75%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 100%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEJ 50%	,385	3	.	,750	3	,000
	AEJ 75%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEC 100%	,175	3	.	1,000	3	1,000
Cepa361	AEC 50%	,253	3	.	,964	3	,637
	AEC 75%	,175	3	.	1,000	3	1,000
	AEE 100%	,385	3	.	,750	3	,000

AEE 50%	,385	3	.	,750	3	,000
AEE 75%	,385	3	.	,750	3	,000
AEJ 100%	,385	3	.	,750	3	,000
AEJ 50%	,175	3	.	1,000	3	1,000
AEJ 75%	,385	3	.	,750	3	,000
AEC 100%	,175	3	.	1,000	3	1,000
AEC 50%	,385	3	.	,750	3	,000
AEC 75%	,385	3	.	,750	3	,000
AEE 100%	,253	3	.	,964	3	,637
AEE 50%	,253	3	.	,964	3	,637
AEE 75%	,175	3	.	1,000	3	1,000
AEJ 100%	,385	3	.	,750	3	,000
AEJ 50%	,385	3	.	,750	3	,000
AEJ 75%	,253	3	.	,964	3	,637
AEC 100%	,253	3	.	,964	3	,637
AEC 50%	,385	3	.	,750	3	,000
AEC 75%	,385	3	.	,750	3	,000
AEE 100%	,385	3	.	,750	3	,000
AEE 50%	,385	3	.	,750	3	,000
AEE 75%	,175	3	.	1,000	3	1,000
AEJ 100%	,253	3	.	,964	3	,637
AEJ 50%	,385	3	.	,750	3	,000
AEJ 75%	,253	3	.	,964	3	,637
AEC 100%	,385	3	.	,750	3	,000
AEC 50%	,385	3	.	,750	3	,000
AEC 75%	,175	3	.	1,000	3	1,000
AEE 100%	,385	3	.	,750	3	,000
AEE 50%	,385	3	.	,750	3	,000
AEE 75%	,253	3	.	,964	3	,637
AEJ 100%	,385	3	.	,750	3	,000
AEJ 50%	,253	3	.	,964	3	,637
AEJ 75%	,314	3	.	,893	3	,363
AEC 100%	,385	3	.	,750	3	,000
AEC 50%	,253	3	.	,964	3	,637
AEC 75%	,253	3	.	,964	3	,637



AEE 50%	,385	3	.	,750	3	,000
AEE 75%	,253	3	.	,964	3	,637
AEJ 100%	,292	3	.	,923	3	,463
AEJ 50%	,385	3	.	,750	3	,000
AEJ 75%	,253	3	.	,964	3	,637

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Anexo 13. Pruebas de Kruskal Wallis para los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Zingiber officinale*

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig. ^{a,b}	Decisión
1	La distribución de Cepa7 es la misma entre categorías de Grupo.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.005	Rechace la hipótesis nula.
2	La distribución de Cepa14 es la misma entre categorías de Grupo.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.003	Rechace la hipótesis nula.
3	La distribución de Cepa15 es la misma entre categorías de Grupo.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.006	Rechace la hipótesis nula.
4	La distribución de Cepa22 es la misma entre categorías de Grupo.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.008	Rechace la hipótesis nula.
5	La distribución de Cepa23 es la misma entre categorías de Grupo.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.004	Rechace la hipótesis nula.
6	La distribución de Cepa2575 es la misma entre categorías de Grupo.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.014	Rechace la hipótesis nula.

a. El nivel de significación es de .050.

b. Se muestra la significancia asintótica.

Resumen de contrastes de hipótesis

	Hipótesis nula	Prueba	Sig. ^{a,b}	Decisión
1	La distribución de Cepa360 es la misma entre categorías de Concentración.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.062	Conserve la hipótesis nula.
2	La distribución de Cepa361 es la misma entre categorías de Concentración.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.474	Conserve la hipótesis nula.
3	La distribución de Cepa362 es la misma entre categorías de Concentración.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.020	Rechace la hipótesis nula.
4	La distribución de Cepa363 es la misma entre categorías de Concentración.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.082	Conserve la hipótesis nula.
5	La distribución de Cepa365 es la misma entre categorías de Concentración.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.004	Rechace la hipótesis nula.
6	La distribución de Cepa367 es la misma entre categorías de Concentración.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.090	Conserve la hipótesis nula.

a. El nivel de significación es de .050.

b. Se muestra la significancia asintótica.