

# UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



**EFECTO ANTIBACTERIANO *IN VITRO* DEL ACEITE ESENCIAL DE  
*Pelargonium hortorum* SOBRE LA CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* ATCC  
27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.**

**TESIS:**

**PARA OPTENER EL TITULO DE:**

**MEDICO CIRUJANO**

AUTORA: GARCÍA LLAJARUNA, SANDRA DEL PILAR

ASEDORA: DRA MEJÍA DELGADO, ELVA

Trujillo- Perú 2015

## **MIEMBROS DE JURADO**

**PRESIDENTE: Dr. EDUARDO FERNANDEZ VASQUEZ**

**SECRETARIO: Dra. ELENA CACERES ANDONAIRE**

**VOCAL: Dr. HUGO PEÑA PISCOYA**

## **D]           RIA**

*Al amor más lindo y puro que puede existir en este mundo Dios, gracias por existir por darme amor, fuerza, esperanza y sobre todo Fe, tú sabes que estoy aquí sustentando mi tesis por ti TE AMO.*

*A mis padres **Alejita y Manuel**, por su Amor incondicional, por ser los mejores padres del mundo, porque siempre dijeron si a mis sueños, por confiar en mí, por su paciencia, su comprensión, por darme fuerzas para seguir adelante, por ser los pilares de mi vida, porque ustedes son mi felicidad y el regalo más bonito que he recibido en mi vida los amo con todo mi corazón.*

*A mi hermoso **Mateo**, por ser la luz que ilumina mi vida, su amor, su sonrisa, sus ocurrencias, hacen que mi vida sea maravillosa, por ti me esfuerzo cada día, tu eres la motivación más tierna que me hace seguir adelante te amo mateito, eres mi vida y estoy muy orgullosa de ti.*

*A mis hermanos **Manuel, Herminia y Carlita**, por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas, por sus consejos las jaladas de orejas, porque sé que puedo contar con ustedes en cualquier momento y por su enorme amor sincero hacia mí.*

**AGR**

**ENTO**

*A Dios y a mi Familia, por su apoyo Incondicional durante toda mi carrera.*

*A la Dra. Elva mejía delgado, por aceptar con gusto y alegría ser mi asesora, por su paciencia su cariño, por su bondad, por brindarme su tiempo valioso en la ejecución de mi tesis. Gracias.*

*A la familia luna marchena, en especial a doña Carlotita, gracias por ser tan linda conmigo por tratarme con mucho amor cariño por preocuparse por mí, por sus consejos por permitirme ser parte de su familia y sobre todo por la confianza que me brindo.*

*A mi mejor amiga carlita que siempre ha permanecido a mi lado a pesar de las dificultades.*

*A mis amigos Amparo, Gabriela, Katia, Carlos, Edith, Mayra y Karencita, por expresarme su cariño su amor Y porque ustedes siempre estuvieron en el momento que más les he necesitado, por los bonitos momentos que he pasado con ustedes los quiero mucho y les estimo demasiado.*

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como propósito determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

El presente estudio experimental incluyó un total de 16 repeticiones de cada concentración al 5%,25%,50% y 75%. El efecto antibacteriano se procesó mediante la técnica de Kirby Bauer.

El análisis de varianza muestra que existe diferencia altamente significativa entre las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*.

Se determinó que el aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, en las concentraciones 25%,50% y 75%; y en *Staphylococcus aureus* ATCC25923., en todas las concentraciones 5%,25%,50% y 75%. Los promedios del diámetro de los halos de inhibición fueron mayores en las concentraciones de 50 y 75% para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y al 75% para *Staphylococcus aureus* ATCC25923, el grupo control con Imipenem y Vancomicina, comparados con las concentraciones del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, fueron los que obtuvieron mayor diámetro de inhibición.

Estos resultados demuestran que el Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum*, tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923..

Palabras claves: Efecto antibacteriano, *Pelargonium hortorum*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2785, *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

## ABSTRACT

The present investigation was to determine the antibacterial effects of the essential oil of *Pelargonium hortorum* on strains of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

This experimental study included a total of 16 repetitions of each concentration 5%, 25%, 50% and 75%. The antibacterial effect was processed using the Kirby Bauer technique.

The variance analysis shows that there is a highly significant difference between the different concentrations of the essential oil of *Pelargonium hortorum*.

Found that the essential oil of *Pelargonium hortorum* has an antibacterial effect on *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 strains, at concentrations 25%, 50% and 75%; and *Staphylococcus aureus* at all concentrations 5%, 25%, 50% and 75%. The average diameter of the inhibition halos were higher in concentrations of 50 and 75% for *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923.75% for the control group imipenem and vancomycin compared with the concentrations of the essential oil of *Pelargonium hortorum* were obtained the greatest diameter of inhibition.

These results demonstrate that the essential oil of *Pelargonium hortorum* has antibacterial effect on strains of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC25923..

Keywords: antibacterial effect, *Pelargonium hortorum*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 , *Staphylococcus aureus* ATCC25923..

## INDICE

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>4</b>
<b>II.</b>	<b>DISEÑO METODOLOGICO.....</b>	<b>9</b>
<b>III.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>19</b>
<b>IV.</b>	<b>DISCUSION.....</b>	<b>28</b>
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>30</b>
<b>VI.</b>	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>31</b>
<b>VII.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....</b>	<b>32</b>

## ANEXOS

## I. INTRODUCCION

*Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria Gram negativa, aerobia, con motilidad unipolar, tiene forma de bastón, no fermentador de glucosa, pertenece a la familia *Pseudomonadaceae*, género *Pseudomonas*, compuesta por una membrana citoplasmática interna y una celular externa y entre ellas está el espacio periplásmico que contiene peptidoglicano, sus cepas producen pigmentos fluorescentes (pioverdina) y pigmentos solubles (piocianina) que le otorgan un color verdoso en el medio de cultivo. Crecen en zonas húmedas, en el suelo, forma parte de la biota normal del intestino, boca.<sup>(1,2,3,4)</sup>

*Pseudomonas aeruginosa* es el agente más común de infecciones intrahospitalarias especialmente las adquiridas en las unidades de cuidados intensivos (UCI), puede ocasionar: neumonía, meningitis, infecciones del tracto urinario y bacteriemia. La infección se da en pacientes inmunocomprometidos, ancianos, niños menores de un año, desnutridos, quemados, pacientes con alteración de la conciencia, asociado también al uso de catéteres urinarios, catéteres intravenosos o tubos endotraqueales que facilitan la invasión bacteriana <sup>(5,6,7,8)</sup>.

La virulencia de *Pseudomonas aeruginosa* es debida a su exotoxina A, un inmunosupresor de los linfocitos B y T; su exoenzima S, que fija la bacteria a las células del hospedador; proteasas que ocasionan necrosis en piel, pulmón, cornea; inactivación del interferón gamma humano y del factor de necrosis tumoral (TFN); su elastasa que ocasiona hemorragia; la fosfolipasa C, hemolisina, que ocasionan la liberación de mediadores inflamatorio; su Pili, el cual favorece la adherencia a las células epidérmicas normales y las provenientes de piel quemada; y exomucopolisacárido, que alteran la motilidad, endocitosis y formación del fagosoma.<sup>(9)</sup>

La resistencia a los antibióticos es un problema de salud pública mundial. La *Surveillance Network Database USA* ha detectado un incremento del 62% en los aislamientos de *P. aeruginosa* multirresistente (resistencia a más de 3 antibióticos) desde 1998 hasta 2000<sup>(10,11)</sup>



Sus mecanismos de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* es la capacidad de formar biopelículas que disminuyen la permeabilidad de la membrana externa, poseen bombas de expulsión para diversos fármacos y enzimas que van a modificar a los antibacterianos, hay resistencia a los  $\beta$ -lactámicos, quinolonas, tetraciclinas y cloranfenicol <sup>(12,13)</sup>.

*Staphylococcus aureus*, es un coco Gram-positivo, ubicuo, anaerobio facultativo, pertenece a la familia *Micrococaceae*, género *Staphylococcus*, no formador de esporas, produce carotenoides el cual da una pigmentación dorada en el medio de cultivo; presenta una pared celular formada por peptidoglucano el cual tiene actividad endotoxica y estimula la liberación de citoquinas por los macrófagos, activación de la vía de complemento y agregación plaquetaria <sup>(14, 15,16)</sup>.

*Staphylococcus aureus*, es responsable de infecciones de piel, partes blandas; aquello se produce cuando hay ruptura en la barrera cutáneo-mucosa, el cual facilita el paso de los microorganismos a tejidos adyacentes y posteriormente al torrente sanguíneo; es un agente frecuente de infecciones adquiridas en la comunidad y hospitalarias; <sup>(17,18)</sup>.

*Staphylococcus aureus*, tiene la capacidad de resistencia a antibióticos entre ellos está la meticilina (SARM), presenta un gen mec A, este codifica una proteína fijadora de penicilina alterada (la PFP 2 a), con baja afinidad por este antibiótico, en Perú la prevalencia de cepas MRSA en pacientes hospitalizados es de 70%, ésta aumenta en el servicio de UTI a 89.4% <sup>(19,20)</sup>.

Un estudio multicéntrico prospectivo, recoge las infecciones por *S. aureus* de hospitales de Colombia, Ecuador, Perú, y Venezuela; y la prevalencia de SARM en la comunidad fue del 47%, con variaciones geográficas (Perú: 62%, Colombia: 45%, Ecuador: 28%, Venezuela: 26%) <sup>(21)</sup>.

Tanto *Pseudomonas aeruginosa* como *Staphylococcus aureus* constituyen los agentes infecciosos más comunes de infecciones intrahospitalarias en el Perú <sup>(22)</sup>.

El empleo de plantas medicinales se ha utilizado como tratamientos tradicionales para numerosas enfermedades durante miles de años en todo el mundo debido a su contenido en aceites esenciales, flavonoides, terpenos, alcaloides, alditoles o alcohol azúcares y otros fitoquímicos. <sup>(23)</sup>.

*Pelargonium hortorum* pertenece a la familia Geraniaceae, género Geraniáceas, Orden Geraniales, conocida en Perú como “geranio común”, es nativa de Sudáfrica, y se ha adaptado bien a los climas de Perú, tiene 250 especies, entre ellas está el *Pelargonium graveolens* “geranio de olor”, *Pelargonium grandiflorum* “geranio del pensamiento”, *Pelargonium peltatum* “geranio hiedra”; descripción biológica, tenemos que *Pelargonium hortorum*, es una planta que necesita de luz solar, pero crece mejor si tiene algo de protección, sus hojas son blandas tiene una zona anular más oscura, su porte es erguido aunque sus tallos se inclinan según el desarrollo. Sus usos terapéuticos tradicionales son como analgésicos, antibacterianos, cicatrizante, afecciones pulmonares, hemorragias externas, irritación de encías y otras enfermedades periodontales <sup>(24,25)</sup>.

Estudio refiere que el *Pelargonium hortorum*, posee actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, por sus fitoconstituyentes esteroides, triterpenoides, fenoles, flavonoides y taninos. <sup>(26)</sup>.

No se han encontrado según la literatura revisada estudios sobre *Pelargonium hortorum* con efectos antibacterianos sobre *Pseudomonas aeruginosa*. Motivo por el cual surge el propósito del estudio.

## JUSTIFICACION

El presente estudio está diseñado para determinar el efecto antibacteriano del aceite del *Pelargonium hortorum*, sobre microorganismos *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, patógenos más frecuentes y responsables de infecciones adquiridas en la comunidad e intrahospitalaria. Estos patógenos tienen la capacidad de adquirir resistencia a los antibióticos causando un problema a nivel mundial, por esta razón existe la necesidad de buscar alternativas de tratamiento como el uso de productos naturales en este caso el aceite de *Pelargonium hortorum*.

### 1. PROBLEMA

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923?

### 2. HIPÓTESIS

**H<sub>0</sub>:** El aceite esencial de *Pelargonium hortorum* no tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de la *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

**H<sub>1</sub>:** El aceite de *Pelargonium hortorum* tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de la *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

### 3. OBJETIVOS

#### GENERAL:

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

#### ESPECÍFICOS:

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC25923.
- Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* con el de imipenem sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- Comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* con el de la vancomicina sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

## II. DISEÑO METODOLOGICO

### 2.1. Material de estudio

#### 2.1.1 Población Muestral

Está constituida por la cepas estandarizadas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

#### 2.1.2 Muestra

##### Unidad de análisis

La unidad de análisis lo constituyó cada repetición realizada (con diferentes concentraciones del aceite esencial del *Pelargonium hortorum*) en cada placa Petri con la cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

##### Unidad de muestreo

La unidad de muestreo lo constituyó cada repetición realizada (con diferentes concentraciones del aceite esencial del *Pelargonium hortorum*) en cada placa Petri con la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

##### Tamaño muestral

Se empleó la fórmula estadística para hallar el número de repeticiones necesarias que validen el diseño experimental.

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

Dónde:

- $Z_{\alpha/2} = 1.96$  para un nivel de confianza del 95%
- $Z_{\beta} = 0.84$  para una potencia de prueba del 80%.

Asumiendo que no se conoce la varianza y que  $\sigma^2 \delta = \delta^2$

Reemplazando se tiene que:

$$n = \pi(Z^{\alpha/2} + Z\beta)^2 X^2$$

$$n = (1.96 + 0.84)^2 x^2$$

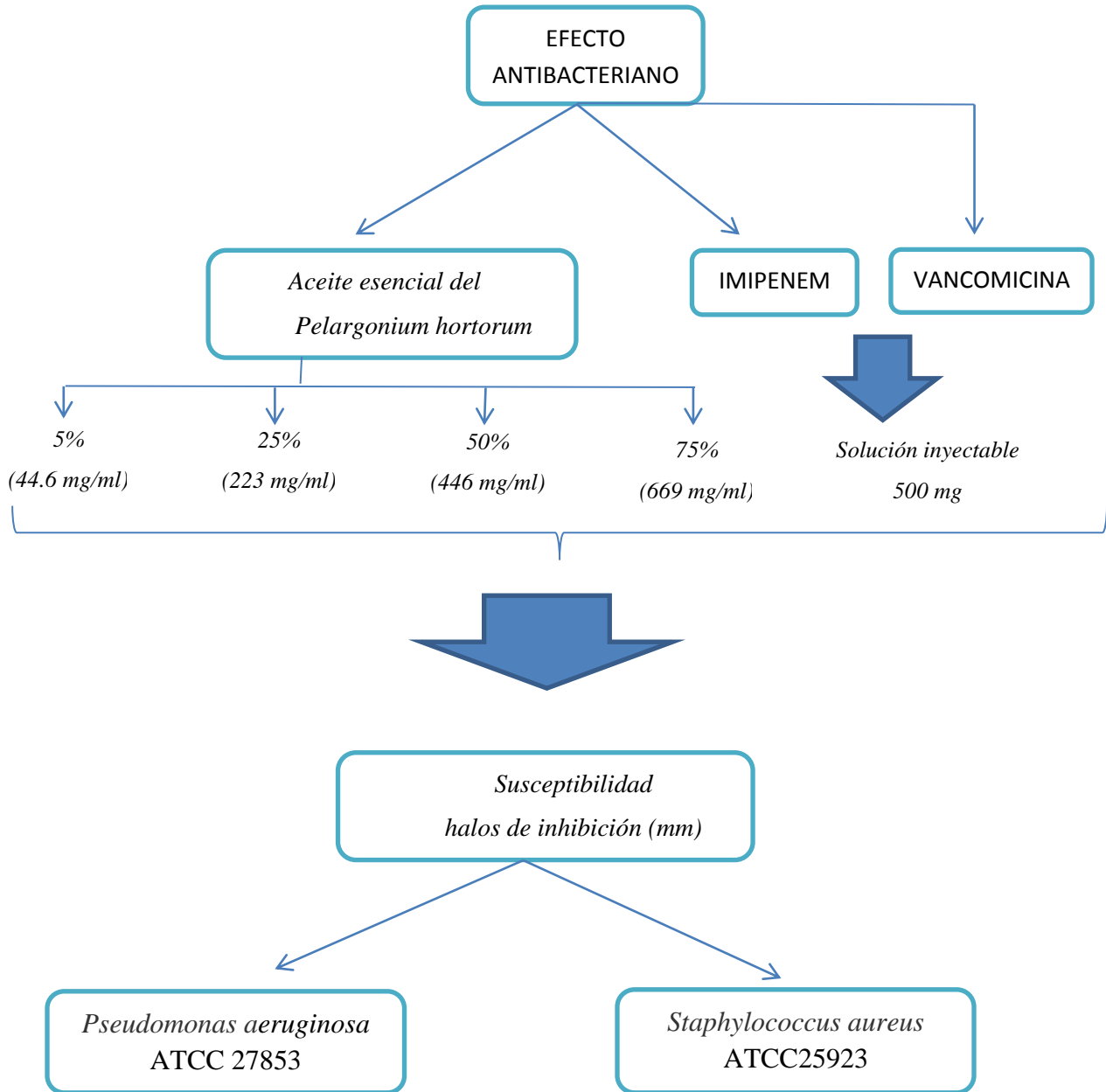
$$n = 15.68 = 16 \text{ repeticiones como minimo}$$

## 2.2 Métodos:

### 2.2.1 Tipo de estudio:

Según el periodo en se capta la información	Según la evolución del fenómeno estudiado	Según la comparación de poblaciones	Según la interferencia del investigador en el estudio
Prospectivo	Longitudinal	comparativo	Experimental

### 2.2.2 Diseño de estudio



### 2.2.3 Variables de estudio:

Enunciado de las Variables	Tipo según su naturaleza	Escala de Medida
<b>Variable Independiente:</b> Aceite esencial de <i>Pelargonium hortorum</i> al 5%, 25%, 50% y 75%	cualitativa	Nominal
<b>Variable Dependiente:</b> Efecto antimicrobiano in vitro sobre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	cuantitativa	De razón
Efecto antimicrobiano in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i> .	cuantitativa	De razón

### 2.2.4. Definición operacional de las variables

#### 2.2.4.1 Aceite esencial de *Pelargonium hortorum*:

Aceite esencial obtenido mediante destilación por arrastre a vapor que contiene principios activos de la planta preparando en 4 concentraciones diferentes 5%, 25%, 50%, 75%.



#### **2.2.4.2 Efecto antibacteriano in vitro:**

Capacidad de inhibir la producción o causar la muerte de un agente bacteriano en condiciones experimentales.

#### **2.2.4.3 Halo de Inhibición:**

Zona alrededor del disco donde una sustancia antibacteriana es capaz de impedir el crecimiento de la bacteria al cabo de 18 a 24 horas de incubación. Se utilizará como medida los diámetros de estas zonas en mm, según la escala de Duraffourd.

**2.2.4.4 Escala de Duraffourd:** Escala utilizada para determinar el efecto inhibitorio in vitro, según diámetro de inhibición.

- Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.
- Sensibilidad límite (sensible +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.
- Medio (muy sensible ++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.
- Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm.

### **2.3 Procedimiento:**

#### **2.3.1 Recolección de la muestra: Aceite esencial del *Pelargonium hortorum*.**

##### **2.3.1.1 Recolección e identificación taxonómica:**

Las hojas de *Pelargonium hortorum*, han sido recolectadas en el mes de enero del 2015 en la provincia de Santiago de Chuco región la Libertad, ubicada a 4,238 ms.n.m.

##### **2.3.1.2 Identificación y determinación taxonómica de la especie**

Un ejemplar completo de la planta fue llevado al Herbario Antenor Orrego (HAO) de la Universidad Privada Antenor Orrego, para su identificación y posterior verificación taxonómica.

### **2.3.1.3 Preparación de la muestra**

#### **Selección de la muestra**

El material recolectado fue transportado al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, donde se eliminaron las sustancias extrañas presentes en la muestra.

#### **Lavado de la droga**

Luego de la separación de las sustancias extrañas, se procedió a lavar las hojas con agua destilada, seguido de una desinfección utilizando hipoclorito de sodio, a una concentración de 200 ppm., durante 1 minuto. Posteriormente se realizará un enjuague de la planta con suficiente agua destilada estéril, para retirar los residuos de hipoclorito<sup>(27)</sup>.

### **2.3.1.4 Preparación del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*.**

La obtención del aceite se realizó por el método de “destilación por arrastre de vapor de agua”.

El aceite esencial fue extraído a partir de hojas del material vegetal en estado fresco, previamente fraccionadas en trozos pequeños. Luego se colocó en un balón de fondo plano y se sometió a una corriente de vapor de agua sobrecalentada; de esta manera se arrastrar la esencia. Posteriormente por acción del refrigerante, fue condensada. El destilado se separó tomando en cuenta sus propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, utilizando una pera de separación de vidrio, se deshidrato las impurezas de agua del aceite esencial con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtró y se guardó en un frasco de vidrio color ámbar (para evitar la descomposición por la luz), y bajo refrigeración a una temperatura de 4 °C.<sup>(28)</sup>

- **Determinación del porcentaje de aceite esencial de las hojas de *P. hortorum***

La determinación del porcentaje de rendimiento de aceite esencial (%RAE), se realizó a escala laboratorio por el método de arrastre del vapor de agua en un equipo de destilación de vidrio. A partir de 100 g de hojas de *P. hortorum*, se obtuvo un determinado volumen que fue medido con una probeta florentino. Por el método gravimetría-volumétrico se determinó el %RAE, aplicando la siguiente fórmula:

$$\%RAE = \text{Vol. AE (mL)} / \text{Pmuestra (g)} \times 100$$

Dónde:

Vol. AE : Volumen del aceite esencial obtenido en mililitros.

Pmuestra: Peso de la muestra a destilar en gramos.

- **Preparación de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *P. hortorum***

Se tomaron del aceite esencial de *P. hortorum* puro (100%), volúmenes de 5, 2.5, 5 y 7.5 mL y, se colocó en una fiola de 10 mL. Luego se completó a volumen con etanol al 80%, obteniendo las concentraciones de 5%, 25%, 50% y 75% (v/v) respectivamente.

Posteriormente, se colocó cada concentración en frascos de color ámbar, para protegerlas de la luz. Las diluciones se guardaron a 4 °C para el estudio microbiológico.

### **2.3.2 Cepas bacterianas**

La cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923 fue aisladas de 2 pacientes con infecciones intrahospitalarias, una vez verificada en la Facultad Nacional de Medicina fue enviada al Instituto Nacional de Salud en Lima Perú para su tipificación.

### **2.3.3 Preparación del inóculo de *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923**

#### **a. Método de suspensión directa de colonias**

El método de suspensión directa de colonias es el más adecuado para la preparación del inóculo.

- (1) Preparar el inóculo haciendo un cultivo en solución salina de las colonias aisladas seleccionadas de una placa de agar Mueller Hinton después de 18 a 24 horas de incubación.

(2) Ajustar la turbidez de la suspensión hasta que sea equivalente al estándar 0,5 de la escala de McFarland. Se obtiene así una suspensión que contiene aproximadamente de  $1 \text{ a } 2 \times 10^8$  unidades formadores de colonias (UFC)/ml para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923. Para realizar este paso con exactitud, se debe utilizar un equipo fotométrico o, si se realiza visualmente, una luz adecuada para comparar el tubo del inóculo con el estándar 0,5 de McFarland frente a una tarjeta de fondo blanco y líneas negras.

**b. Prueba de efectividad antibacteriana:** Mediante la técnica de Kirby y Bauer

Inoculación de las placas

(1) Lo ideal es que dentro de los 15 minutos después de haber ajustado la turbidez de la suspensión del inóculo, se sumerja un hisopo de algodón estéril en la suspensión ajustada. Se debe rotar el hisopo varias veces y presionar firmemente por las paredes internas del tubo por encima del nivel del líquido. Este procedimiento elimina el exceso de líquido del hisopo.

(2) Inocular la superficie seca de una placa de agar Mueller Hinton estriando con el hisopo toda la superficie del agar estéril. Repetir este procedimiento estriando dos veces más el hisopo, rotando la placa aproximadamente  $60^\circ$  cada vez para asegurar una distribución homogénea del inóculo. Como paso final, se debe estriar el hisopo por el borde del agar.

(3) La tapa puede dejarse entreabierta durante tres a cinco minutos, pero no más de 15 minutos, para permitir que el exceso de humedad de la superficie se absorba antes de aplicar los discos impregnados con el antibiótico.

### **c. Determinación del efecto antibacteriano**

Mediante la difusión de discos de Kirby y Bauer, el cual consiste en preparar discos de papel de filtro estériles, los cuales serán sumergidos dentro de cada concentración *Aceite esencial de Pelargonium hortorum* al 5%, 25%, 50% y 75% por el periodo no menor de 1 hora, luego con una aguja estéril, éstos se colocarán sobre los cultivos de *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* y *Staphylococcus aureus ATCC25923* en las placas petri previamente preparadas; las placas se mantendrán en la misma posición por un periodo de 5 minutos.

Luego de este tiempo las placas se voltearán de posición y se incubarán a 37° C, durante 24 horas. Todo el procedimiento se llevará a cabo dentro del diámetro de 10 cm de la llama de un mechero.

La lectura de los resultados, se llevará a cabo después de las 24 horas, mediante la inspección visual de cada placa. Se efectuará tomando el registro en milímetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* y *Staphylococcus aureus ATCC25923*.

#### **2.6.1 Instrumento**

La información fue registrada en fichas elaboradas especialmente para la recolección de datos ( ANEXOS 1,2)

### **2.7 PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE LA INFORMACION**

**2.7.1 Estadística descriptiva:** Para analizar la información se construyó tablas de distribución de frecuencias de una entrada con sus valores absolutos. Se calculó su media y su desviación estándar.

**2.7.2 Estadística analítica:** Para determinar el efecto in vitro aceite esencial *Pelargonium hortorum* al 5%, 25%, 50% y 75% se utilizó un análisis de varianza de un diseño completamente aleatorizado para el efecto antibacteriano analizado por el halo de inhibición, luego se hizo una prueba de comparaciones múltiples. Prueba Duncan para las comparaciones múltiples. Ambas con un nivel de significancia del 5%.

Todos estos datos son procesados de manera automatizada con el soporte del paquete estadístico SPSS- 15.0.

## **2.8 Ética:**

El presente trabajo cumplió con informar objetivamente y comunicar a la sociedad los resultados de la investigación para contribuir al avance cultural del público en general y la difusión del conocimiento, y para justificar ante la sociedad los recursos dedicados a la investigación.

El proyecto de investigación se presenta para consideración, comentario, consejo y aprobación de los comités designados por la Facultad de Medicina de la UPAO.

Al realizar la investigación se tuvo en cuenta la Declaración de Helsinki<sup>(29)</sup>, basándose en principios de bioseguridad, prestando atención adecuada a los factores que puedan dañar el medio ambiente.

### III. RESULTADOS

En el presente estudio de tipo experimental “in vitro”, cuyo propósito fué determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Después de haber medido los halos de inhibición, se clasificó los diámetros de acuerdo a la escala de Duraffourd obteniendo que.

- De las 16 repeticiones al 50% y 75% del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, presentaron mayor efecto antibacteriano sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- De las 16 repeticiones al 5% del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, no presentaron efecto antibacteriano sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.
- De las 16 repeticiones al 75% del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, presentaron mayor efecto antibacteriano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923.
- De las 16 repeticiones al 5%,25% y 50% del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, presentaron similar efecto antibacteriano sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923.
- Los promedios de los diámetros de halos de inhibición de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, fue mayor de 7 mm en las cuatro concentraciones, y con *Staphylococcus aureus* ATCC25923 fue mayor de 9 mm; el grupo control con Imepinem, su diámetro de halo de inhibición fue mayor de 20 mm y con Vancomicina fue mayor de 40 mm.

**TABLA N° 1:**

**Diámetro promedio de Halo del Efecto Antibacteriano, de las diferentes concentraciones del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 Y del Antibiótico *IMIPENEM***

<i>Grupos de Investigación</i>	<i>ni</i>	<i>Media</i>	<i>Desv. Est.</i>
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 5%</i>	<i>16</i>	<i>7.81</i>	<i>0.98</i>
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 25%</i>	<i>16</i>	<i>10</i>	<i>1.03</i>
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 50%</i>	<i>16</i>	<i>9</i>	<i>1.10</i>
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 75%</i>	<i>16</i>	<i>10.75</i>	<i>1.69</i>
<i>Control IMIPENEM</i>	<i>16</i>	<i>41.25</i>	<i>1.53</i>

**Fuente:** Datos obtenidos por el investigador UPAO, año 2015

ni: número de intervenciones



**TABLA N° 2:**

**Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* en sus diferentes concentraciones sobre la cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y del Antibiótico IMIPENEM**

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>gl</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>Tratamientos</i>	13070.050	4	3267.513	1938.2	0.0000
<i>Error</i>	126.438	75	1.686		
<i>Total</i>	13196.488	79			

**Fuente:** Datos obtenidos por el investigador UPAO, año 2015

FV: fuente de variación, SC: suma de cuadrados, gl: grado de libertad, CM: cuadrado de medio, F: comparar varias variables, P: probabilidad.

En la tabla N°2, Se muestra el análisis de varianza, en donde se obtuvo como resultado que existe una diferencia altamente significativa del diámetro del halo de inhibición de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, en las diferentes concentraciones del aceite de *Pelargonium hortorum*.

**TABLA N° 3:**

**Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* en sus diferentes concentraciones sobre la cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y del Antibiótico IMIPENEM**

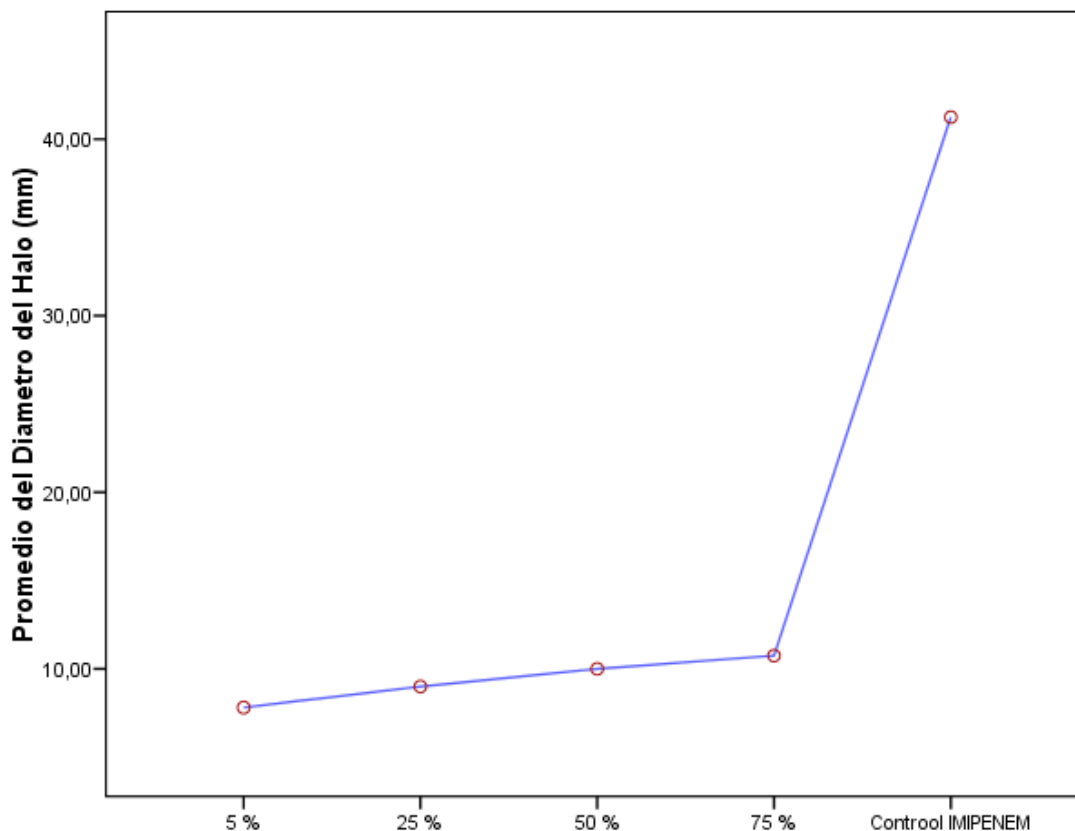
<i>Grupo de Investigación en Cepa</i> <i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	<i>ni</i>	<i>Grupos para alfa = 0.05</i>			
		<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G3</i>	<i>G4</i>
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 5%</i>	16	7.81			
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 25%</i>	16		9		
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 50%</i>	16			10	
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 75%</i>	16			10.75	
<i>Control IMIPENEM</i>	16				41.25

**Fuente:** Datos obtenidos por el investigador UPAO, año 2015

En la tabla N°3, Se muestra los promedios del diámetro del halo de inhibición de crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 después de aplicar la técnica de kirby y Bauer. Se realizó la prueba de Duncan, que comparo cada uno de los promedios de los halo encontrándose que existe diferencia altamente significativa entre las concentraciones del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* al 5% y 75%. Hay semejanza en las concentraciones del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* al 50% y 75%. El grupo control con Imipenem obtuvo el mayor promedio de halo 41.25 mm

## GRAFICO N° 1:

**Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* en sus diferentes concentraciones sobre la cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y del Antibiótico IMPENEM**



**Grupo de investigación en cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

**Fuente:** Datos obtenidos por el investigador UPAO, año 2015

En el grafico N°1, Se muestra el efecto antibacteriano del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, a las concentraciones del 5%, 25%, 50% y 75% , apreciándose que al aumentar las concentraciones del aceite, mayor es el efecto antibacteriano . El grupo control con Imipenem tuvo mayor efecto antibacteriano comparado a las concentraciones del Aceite esencial de *Pelargonium hortorum*.

**TABLA N° 4:**

**Diámetro promedio de Halo del Efecto Antibacteriano, del Antibiótico VANCOMICINA y diferentes concentraciones del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923.**

<i>Grupos de Investigación</i>	<i>ni</i>	<i>Media</i>	<i>Desv. Est.</i>
<i>Aceite Esencial Pelargonium hortorum 5%</i>	<i>16</i>	<i>9.50</i>	<i>0.73</i>
<i>Aceite Esencial Pelargonium hortorum 25%</i>	<i>16</i>	<i>10.31</i>	<i>1.53</i>
<i>Aceite Esencial Pelargonium hortorum 50%</i>	<i>16</i>	<i>10.75</i>	<i>1.54</i>
<i>Aceite Esencial Pelargonium hortorum 75%</i>	<i>16</i>	<i>13.63</i>	<i>3.12</i>
<i>Vancomicina</i>	<i>16</i>	<i>24.69</i>	<i>5.83</i>

**Fuente:** Datos obtenidos por el investigador UPAO, año 2015

ni: número de intervenciones

**TABLA N° 5:**

**Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* en sus diferentes concentraciones sobre la cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y del Antibiótico VANCOMICINA**

<i>FV</i>	<i>SC</i>	<i>gl</i>	<i>CM</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
<i>Tratamientos</i>	2536.325	4	634.081	64.823	0.0000
<i>Error</i>	733.625	75	9.782		
<i>Total</i>	3269.95	79			

**Fuente:** Datos obtenidos por el investigador UPAO, año 2015

FV: fuente de variación, SC: suma de cuadrados, gl: grado de libertad, CM: cuadrado de medio, F: comparar varias variables, P: probabilidad.

En la tabla N°5, se muestra el análisis de varianza, y se obtuvo como resultado que existe una diferencia altamente significativa del diámetro del halo de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC25923, en sus diferentes concentraciones del aceite de *Pelargonium hortorum*.

**TABLA N° 6:**

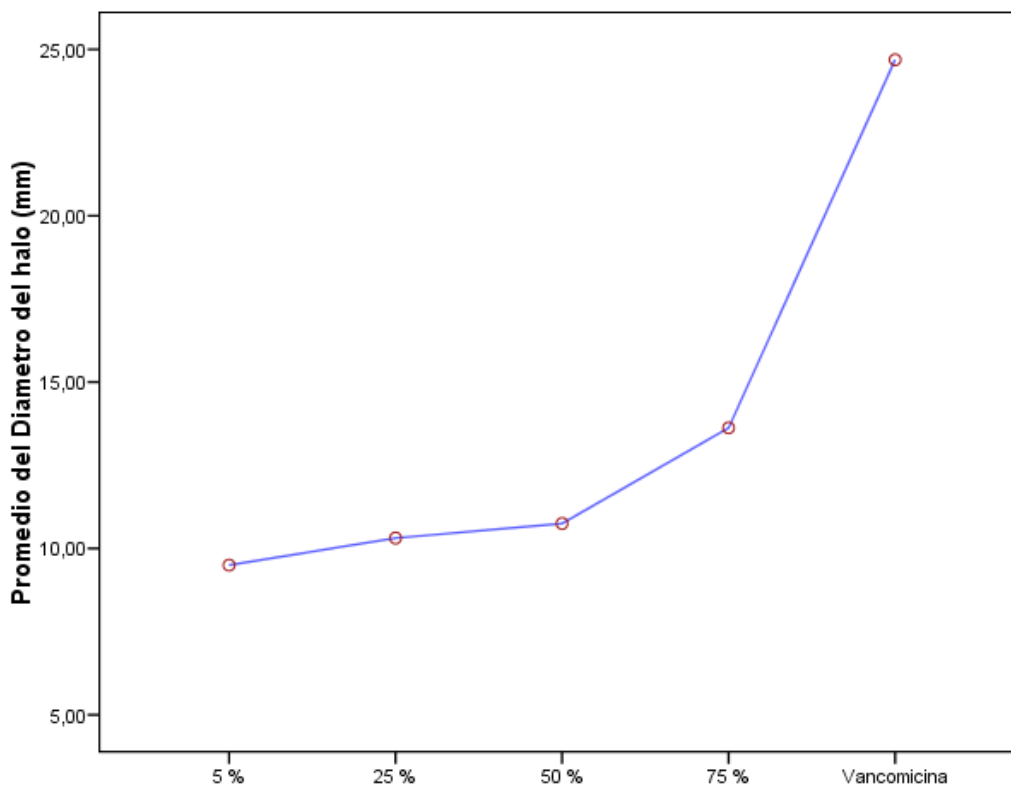
**Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* en sus diferentes concentraciones sobre la cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923 y del Antibiótico VANCOMICINA**

<i>Grupo de Investigación en Cepa de Staphylococcus aureus.</i>	<i>N</i>	<i>Grupos para alfa = 0.05</i>		
		<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G3</i>
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 5%</i>	16	9.5		
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 25%</i>	16	10.31		
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 50%</i>	16	10.75		
<i>Aceite Esencial Pelargonium Hortorum 75%</i>	16		13.63	
<i>Control Vancomicina</i>	16			24.69

En la tabla N°6, Se muestra los promedios del diámetro del halo de inhibición de crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC25923, después de aplicar la técnica de kirby y Bauer. Se realizó la prueba de Duncan, que comparo cada uno de los promedios de los halo encontrándose que existe diferencia altamente significativa entre las concentraciones (G1), y (G2), por lo tanto la concentración al 75%, es más efectivo ya que el halo de inhibición es mayor (13.63 mm), las tres concentraciones (G1) son similares no hay diferencia en cuanto al diámetro del halo. El grupo control con Vancomicina obtuvo el mayor diámetro de halo 24.69 comparado a las concentraciones del Aceite esencial de *Pelargonium hortorum*.

## GRAFICO N° 2:

**Análisis de Varianza del Efecto Antibacteriano, del Antibiótico VANCOMICINA y diferentes concentraciones del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923.**



**Grupo de investigación en cepa de *Staphylococcus aureus***

**Fuente:** Datos obtenidos por el investigador UPAO, año 2015

En el grafico N° 2, Se muestra el efecto antibacteriano del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923, apreciándose que las concentraciones del 5%, 25% y 50%, tienen el mismo efecto antibacteriano en comparación a la concentración al 75% el cual tuvo un mayor efecto antibacteriano. El grupo control con Vancomicina obtuvo mayor efecto antibacteriano comparado a las concentraciones del Aceite esencial de *Pelargonium hortorum*.

#### IV. DISCUSION

*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, bacteria Gram negativa, agente más común de infecciones intrahospitalarias especialmente las adquiridas en las unidades de cuidados intensivos (UCI), *Staphylococcus aureus* ATCC25923, un coco Gram-positivo, agente frecuente de infecciones adquiridas en la comunidad y hospitalarias. Estos constituyen los dos agentes bacterianos más comunes de infecciones intrahospitalarias de Perú, y su resistencia a los antibióticos son un problema de salud pública mundial.

*Pelargonium hortorum*, es una planta que pertenece a la familia Geraniaceas, orden Geraniaceas, conocida en Perú como “geranio común” es nativa de Sudáfrica, y se adaptado bien a los climas de Perú, tiene 250 especies. Según Estudios refieren que el *Pelargonium hortorum* ha demostrado poseer actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, que se atribuye sus fitoconstituyentes más esenciales como esteroides, triterpenoides, fenoles, flavonoides y taninos.

El presente estudio de tipo experimental in vitro, demostró que si hay efecto antibacteriano del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 en tres concentraciones 25%,50% y 75% y en *Staphylococcus aureus* ATCC25923 en sus cuatro concentraciones 5%, 25%, 50%, y 75%.

Para determinar el efecto antibacteriano del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum*, se utilizó el sistema de difusión de discos, registrando promedios de halos de inhibición.

El mayor efecto antibacteriano sobre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 fue con la concentración al 50% y 75% del Aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, y con el grupo control de Imipenem. Se observó que en la concentración al 5% no hubo efecto antibacteriano

El mayor efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC25923, fue con la concentración al 75% del Aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, y con el grupo



control de Vancomicina. Se observó que hubo efecto antibacteriano desde la concentración al 5%.

En el presente estudio al aplicar Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum*, se obtuvo halos de inhibición promedio entre 7.81mm y 10.75mm para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y de 9.5 mm y 13.63mm, para *Staphylococcus aureus* ATCC25923 (tablas N° 3y 6), lo que nos estaría indicando que este Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum*, presentan un efecto inhibitorio menor al grupo control en donde se obtuvo halos de inhibición promedio de 41.25mm, con Imipenem y 24.69mm con Vancomicina.

Sin embargo los promedios de halos inhibitorio al aplicar el Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* al 75%y 50% sobre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 fue mayor que las concentraciones al 5% y 25%, y al aplicarlo a *Staphylococcus aureus* ATCC25923 al 75% fue mayor que las concentraciones al 5%,25%y 50%, es decir a mayor concentración del aceite mayor es el efecto antibacteriano.

Este efecto antibacteriano se atribuye a sus fitoconstituyentes que son los esteroides, triterpenoides, fenoles, flavonoides y taninos, estos se encuentran principalmente en sus hojas de los cuales se obtiene el Aceite esencial de *Pelargonium hortorum*.

Finalmente se acepta la hipótesis de que existe efecto antibacteriano del Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum* sobre la cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

## V. CONCLUSIONES

1. El Aceite Esencial de *Pelargonium hortorum*, posee efecto antibacteriano in vitro frente a la cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923.
2. *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, fue sensible a las concentraciones 25%, 50% y 75%, del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, a mayor concentración mayor sensibilidad.
3. *Staphylococcus aureus* ATCC25923, fue sensible a todas las concentraciones 5% 25%, 50% y 75%, del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, a mayor concentración mayor sensibilidad.
4. El grupo control con Imipenem y Vancomicina tuvieron mayor efecto antibacteriano comparado con las concentraciones del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*.

## VI. RECOMENDACIONES

1. Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*, con otras bacterias patógenas.
2. Realizar estudios con dos o más especies del *Pelargonium* a fin de obtener mayor efecto de las propiedades antibacterianas.
3. Realizar combinaciones con otras plantas con propiedades antibacterianas frente a microorganismos de interés médico.
4. Utilizar concentraciones mayores, para determinar su efecto antibacteriano del aceite esencial de *Pelargonium hortorum*.
5. Realizar estudios sobre quien posee mejor efecto antibacteriano de los fitoconstituyentes del *Pelargonium hortorum*.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Farías E, Medina R, Chavarría J. Neumonía nosocomial por *Pseudomonas aeruginosa*. *Med Int Mex* 2005; 21:368-79.
2. Colina G, Hernández Y, Pérez A, Pérez D, Pineda E, Piña J, Rojas A. Patrones de swarming y cambios de longitud celular en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* silvestre y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología* 2013; 33: suplemento 1 pp.
3. Aquino A, Ribas R, Filio G, Coria R, Rolón A, Aparicio G. Detección de sistemas de expulsión involucrados en la resistencia a antibióticos en aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*.
4. Sandoval C, Moreno C, Abarca K. Sepsis por *Pseudomonas aeruginosa* en un lactante previamente sano. *Rev. chil. infectol.* vol.28 no.6 Santiago dic. 2011
5. Vallés J, Mariscal D. Neumonía por *Pseudomonas aeruginosa*. doi: 10.1016/S0210-5705(09)71003-9.
6. Persigilli A, Enrico C, Bongiovanni E, Bilbao L, Martínez G, Ledesma E. Aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido en un centro privado de Córdoba. *Rev. chil. infectol.* v.26 n.4 Santiago ago. 2009
7. Lebeque Y, Morris H, Calas N. Infecciones nosocomiales: incidencia de la *Pseudomonas aeruginosa*.
8. Gómez C, Castro A, Pérez M, Navarrete M. mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: entendiendo a un peligroso enemigo. *Rev.fac.med.unal* vol.53 no.1 Bogotá Jan. 2005.
9. Ortiz M, Mora J, Aguilar A. Colonización bacteriana y susceptibilidad antibacteriana de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de pacientes quemados infectados del Hospital Regional de Alta Especialidad de Veracruz. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, vol. 29, núm. 1, enero-marzo 2009.
10. Bodi M, Garnacho J. *Pseudomonas aeruginosa*: tratamiento combinado frente a monoterapia *Med. Intensiva* v.31 n.2 Madrid mar. 2007.

11. Luján D, Ibarra J, Mamani E. Resistencia a los antibióticos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital universitario en Lima, Perú. *Rev Biomed* 2008; 19:156-160
12. Castillo j, Ribas R, Osorio L, Aparicio G. Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de origen hospitalario multirresistentes a 21 antibioticos. Volumen 31 No. 2 Abril-Junio 2006. p. 41-48 41.
13. Gubbay L, Galanternik L, Galan G, Cabrera J, Galas M, Degrossi C. *Staphylococcus aureus*: sensibilidad antibiótica y detección de enterotoxinas de cepas aisladas de alimentos y manos de manipuladores
14. Bustos J, Hamdan A, Gutierrez M. *Staphylococcus aureus* : la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Rev Biomed* 2006; 17:287-305.
15. Hurtado M, De la parte M, Brito A. *Staphylococcus aureus*: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* v.22 n.2 Caracas jul. 2002.
16. Gil M. *Staphylococcus aureus*:Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a metilina. *Rev. Chil Infect* (200); 17 (2): 145-152.
17. Mallorquín J, Taboada A, Benítez G. Sepsis por *Staphylococcus aureus* comunitario. *Rev. Inst. Med. Trop* 2012;7 (1).
18. Perazzi B, Camacho M, Bombicino K, Flores Z, Vay C, Famiglietti A. *Staphylococcus aureus*: nuevos y antiguos antimicrobianos. *Rev. argent. microbiol.* vol.42 no.3 Ciudad Autónoma de Buenos Aires jul./set. 2010.
19. Nodarse R. Detección de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina mediante disco de cefoxitina. *Rev Cub Med Mil* v.38 n.3-4 Ciudad de la Habana jul.-dic. 2009
20. Alvarado A, Alcalá K, Alvarado P, Champi R. Riesgo de aparición de cepas *Staphylococcus aureus* resistente a vancomicina en pacientes hospitalarios de un hospital del Perú, 2008.
21. Barrios M. características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de las infecciones por *staphylococcus aureus* adquirido en la comunidad en pediatría.
22. Hidalgo L, Marroquin J, Antogni J, Samalvides F. Prevalencia de infecciones hospitalarias en un hospital peruano de nivel IV, en el año 2008. *Rev Med Hered* 22 (2), 2011.

23. Sanchez I, Rubio A. Atención Farmaceutica en la enfermedad periodontal. *Ámbito farmacéutico* jul-ago. 210; 29(4):62-67.
24. Flores K, Laime S. Crema dental a base de las propiedades medicinales y terapéuticas del aceite esencial del geranio (*Pelargonium x hortorum*).
25. Bastardes F, Cardona. El geranio la más popular de nuestras plantas ornamentales.
26. Guerrero J, Ortiz Z, Peralta L, Pérez F. Actividad antibacteriana de *Pelargonium peltatum*(L.) L'Hér. sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis* frente a clorhexidina. *Rev Cubana Plant Med* vol.18 no.2 Ciudad de la Habana abr.-jun. 2013
27. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba. 2002.
28. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. 1ª ed. Universidad de la Habana. Cuba. 2 000.
29. Manzini J. L. Declaración de Helsinki: principios éticos para la investigación médica sobre sujetos humanos. *Acta Bioethica* 2000; 4(2):324-334

# ANEXOS

## Anexo 01

**Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre las cepa de *Pseudomonas aeruginosa*.**

### PROTOCOLO DE DATOS

Halo de inhibición en mm	CONCENTRACIÓN ACEITE ESENCIAL DE <i>Pelargonium hortorum</i> SOBRE LAS CEPA DE <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .				CONTROL IMIPENEM
	5%	25%	50%	75%	
Halo 1					
Halo 2					
Halo 3					
Halo 4					
Halo 5					
Halo 6					
Halo 7					
Halo 8					
Halo 9					
Halo 10					
Halo 11					
Halo 12					
Halo 13					
Halo 14					
Halo 15					
Halo 16					
Fecha					



## Anexo 02

**Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Pelargonium hortorum* sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*.**

### PROTOCOLO DE DATOS

Halo de inhibición en mm	CONCENTRACIÓN ACEITE ESENCIAL DE <i>Pelargonium hortorum</i> SOBRE LAS CEPA DE <i>Staphylococcus aureus</i>				CONTROL VANCOMICINA
	5%	25%	50%	75%	
Halo 1					
Halo 2					
Halo 3					
Halo 4					
Halo 5					
Halo 6					
Halo 7					
Halo 8					
Halo 9					
Halo 10					
Halo 11					
Halo 12					
Halo 13					
Halo 14					
Halo 15					
Halo 16					
Fecha					

## Anexo 03

**Selección de la muestra**



**Lavado de la droga**



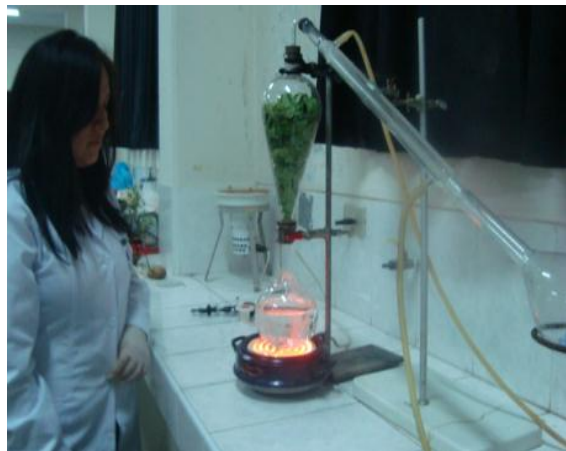
**Peso de la muestra**



**Colocación de la muestra en un balón**



**Destilación**



## Aceite esencial del *Pelargonium hortorum*



### Aislamiento de cepas

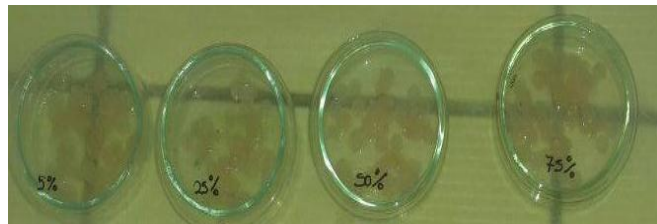


### Inoculación de las placas



### Discos sumergidos en las concentración *Aceite esencial de Pelargonium hortorum*

al 5%, 25%, 50% y 75%



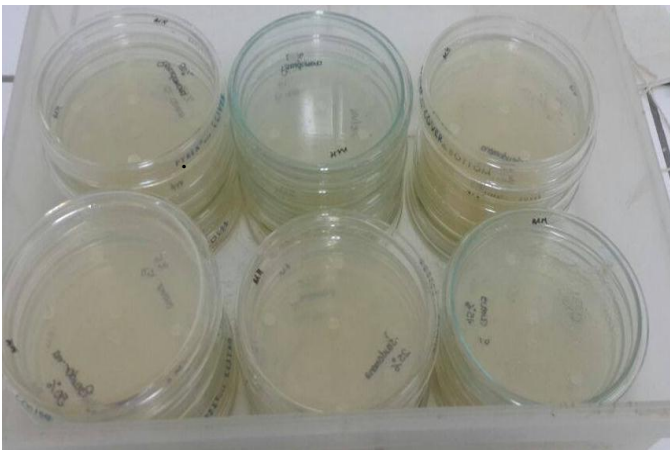
### Colocación de los discos a la placa petri.



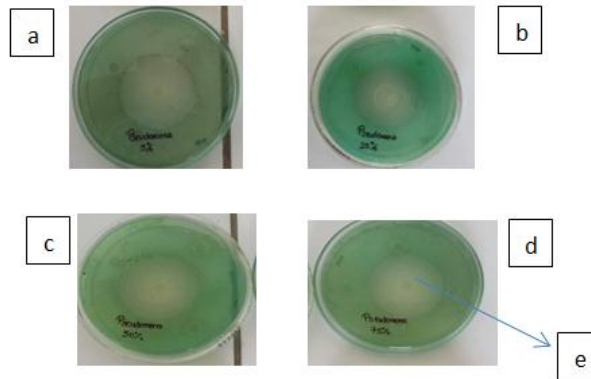
### Control con imipenem y vancomicina.



### Colocación de las placas petri en la estufa

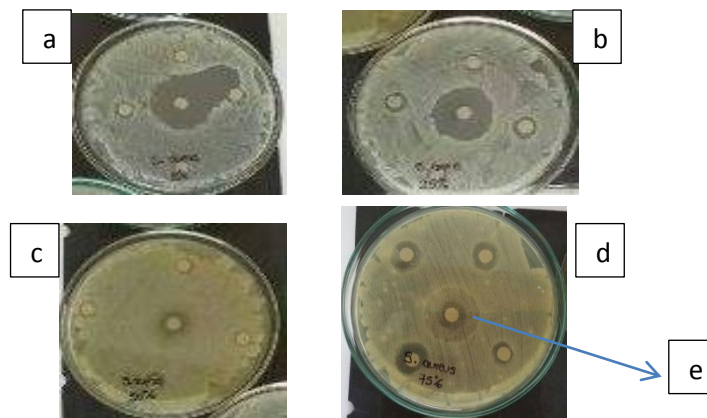


### La lectura de los resultados de *Pseudomonas aeruginosa*



- a. halos de inhibición al 5%    b. halos de inhibición al 25%.  
c. halos de inhibición al 50%    d. halos de inhibición al 75%.  
e. halo de inhibición con Imipenem

### La lectura de los resultados de *Staphylococcus aureus*



- a. halos de inhibición al 5%    b. halos de inhibición al 25%.  
c. halos de inhibición al 50%    d. halos de inhibición al 75%.  
e. halo de inhibición con vancomicina