

**UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO
“FRANKLIN ROOSEVELT”**

RESOLUCIÓN DEL CONSEJO DIRECTIVO NRO 078-2019-SUNEDU/SD

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



TESIS:

**“EFECTO ANTIBACTERIANO *in-vitro* DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS DE
Rosmarinus officinalis (ROMERO) Y *Mentha spicata* (HIERBA BUENA) SOBRE
Escherichia coli”**

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

Presentado por:

Bach. Bustamante Manayay María Elena Del Pilar

Bach. Cabrera Vásquez Evelyn Johana

ASESOR:

Mg. Cano Pérez, Carlos Alfredo

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos Naturales

Huancayo – Perú 2021

Dedicatoria

El presente trabajo está dedicado a nuestros padres, quienes nos apoyan constantemente y son parte de nuestro motivo de lucha para poder salir adelante. Del mismo modo a nuestros profesores, personas ejemplares y quienes siempre estuvieron compartiendo sus enseñanzas en toda nuestra trayectoria universitaria.

Agradecimiento

En primer lugar agradecemos a Dios por darnos salud y fortaleza para seguir adelante ante cualquier obstáculo en nuestro día a día, También a nuestra familia y a todas aquellas personas que nos incentivaron y apoyaron para que este sueño sea posible, así mismo agradecemos a nuestro asesor por guiarnos y acompañarnos en todo este proceso, hasta obtener nuestro título profesional de Químico Farmacéutico.

Página del jurado

PRESIDENTA:

Dra. Mónica Evencia Poma Vivas

SECRETARIO:

Mg. Julio Luis Díaz Uribe

VOCAL:

Mg. Carlos Alfredo Cano Pérez

SUPLENTE:

Mg. Rocío Jerónima López Calderón

Declaratoria de Autenticidad

Nosotros, **BUSTAMANTE MANAYAY, María Elena del Pilar** con DNI **47746965** y **CABRERA VASQUEZ, Evelyn Johana** con DNI **48292622**, tesistas de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, con la tesis titulada: **“EFECTO ANTIBACTERIANO *IN-VITRO* DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* (ROMERO) Y *MENTHA SPICATA* (HIERBA BUENA) SOBRE *ESCHERICHIA COLI*”**, para obtener el título profesional de químico farmacéutico. **DECLARAMOS BAJO JURAMENTO QUE TODA LA INFORMACION PRESENTADA ES AUTENTICA Y VERAZ**, afirmamos y nos rectificamos en lo expresado en señal de la cual firmamos el presente documento.

En este sentido somos conscientes de encontrar uso de material intelectual ajeno sin el debido reconocimiento de su fuente o autor, nos sometemos a las sanciones que determine el procedimiento disciplinario.

04 de noviembre del 2021

Bach. BUSTAMANTE MANAYAY
MARIA ELENA DEL PILAR
DNI:47746965

Bach. CABRERA VASQUEZ
EVELYN JOHANA
DNI:48292622

ÍNDICE

Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Página del jurado.....	iv
Declaratoria de Autenticidad.....	v
ÍNDICE.....	vi
RESUMEN.....	8
ABSTRACT.....	9
I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. MÉTODO.....	24
2.1. Tipo y diseño de la investigación.....	24
2.2. Operacionalización de variables.....	24
2.3. Población, muestra y muestreo.....	26
2.4. Técnicas, instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	26
2.5. Procedimientos.....	27
2.6. Métodos de análisis de datos.....	28
2.7. Aspectos éticos.....	29
III. RESULTADOS.....	30
IV. DISCUSIÓN.....	34
V. CONCLUSIONES.....	37
VI. RECOMENDACIONES.....	38
REFERENCIAS.....	39
ANEXOS.....	46

INDICE DE TABLAS

TABLA N° 1. Prueba de Tukey en comparaciones múltiples para un intervalo de confianza del 95%	30
TABLA N° 2. Evaluación de subconjuntos homogéneos	31
TABLA N° 3. Test de Dunnet en la comparación de múltiples concentraciones	33

RESUMEN

La presente investigación se ejecutó con la finalidad de determinar la sensibilidad del cultivo de cepas de *Escherichia coli* frente a la acción antibacteriana de los extractos etanólicos de las hojas *Rosmarinus officinalis* y *Mentha spicata*. Para lo cual se obtuvieron muestras de la ciudad de Ferreñafe que sufrieron un proceso de extracción con el método de la percolación con etanol al 96% durante 48 horas. Posteriormente, con el extracto obtenido de cada muestra se procedieron a la evaluación mediante el método de Kirby Bauer donde se midieron las diferentes sensibilidades de los extractos tanto a la concentración del 50% como del 100%. Los resultados que se encontraron son alentadores, pues señala que al 100% del extracto de *Rosmarinus officinalis* posee alta sensibilidad contra las cepas de *E. coli*. Mientras que los extractos de *Mentha spicata* al 100% posee sensibilidad media. La conclusión de la investigación fue que existe una sensibilidad alta del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* y una sensibilidad media del extracto de *Mentha spicata* sobre cepas de *Escherichia coli*.

Palabras claves: *Rosmarinus officinalis*, *Mentha spicata*, antibacteriana, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The present investigation was carried out in order to determine the sensitivity of the culture of *Escherichia coli* strains against the antibacterial action of the ethanolic extracts of the leaves *Rosmarinus officinalis* and *Mentha spicata*. For which samples were obtained from the city of Ferreñafe that underwent an extraction process with the percolation method with 96% ethanol for 48 hours. Subsequently, the extract obtained from each sample was evaluated using the Kirby Bauer method, where the different sensitivities of the extracts were measured at both the 50% and 100% concentration. The results found are encouraging, as it indicates that 100% of the *Rosmarinus officinalis* extract has high sensitivity against *E. coli* strains. While the 100% *Mentha spicata* extracts have medium sensitivity.

The conclusion of the investigation was that there is a high sensitivity of the ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* and a medium sensitivity of the extract of *Mentha spicata* on *Escherichia coli* strains.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*, *Mentha spicata*, antibacterial, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

El uso y la búsqueda de medicamentos derivados de plantas se han acelerado en los últimos años. Etnofarmacólogos, botánicos, microbiólogos y químicos de productos naturales están peinando la Tierra en busca de fitoquímicos y "pistas" que podrían desarrollarse para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Si bien el 50% de los productos farmacéuticos actuales se derivan de plantas, ninguno se utiliza como antimicrobianos. Los curanderos tradicionales han utilizado plantas durante mucho tiempo para prevenir o curar enfermedades infecciosas.¹

La medicina occidental está tratando de duplicar sus éxitos. Las plantas son ricas en una amplia variedad de metabolitos secundarios, como taninos, terpenoides, alcaloides y flavonoides, que se ha encontrado in vitro que tienen propiedades antimicrobianas.^{1,2}

Escherichia coli es un microorganismo común y diverso que vive como un organismo comensal del tracto gastrointestinal de humanos y muchos animales. Esta relación entre la bacteria y su huésped es simbiótica, lo que proporciona a ambos una serie de ventajas. Sin embargo, *E. coli* se ha convertido en un patógeno bien adaptado a su huésped a través de la pérdida y ganancia de genes. Algunas cepas de *E. coli* patógenas causan enfermedades diarreicas (*E. coli* patógena intrainestinal), mientras que otras causan infecciones extraintestinales (*E. coli* patógena extraintestinal).²

El uso de las especies vegetales forma parte de la medicina tradicional complementaria y está arraigada en la comunidad formando parte de la cultura y tradición de los pueblos del mundo, especialmente en donde la influencia de la modernidad se haya mantenido alejada. Miles de años de uso de esta práctica ofrecen una gran contribución como alternativa o complemento en la nueva concepción integral de la salud.¹

Existe una gran problemática en torno a las infecciones ocasionadas por bacterias, existiendo una lista que la Organización Mundial de la Salud pública para informar al mundo que se necesita de la invención de nuevos antibióticos que combatan estos microorganismos que por haber creado resistencia se han vuelto peligrosos para el ser humano.¹

E. coli son la principal causa de infecciones del tracto urinario y gastrointestinales, ya sean nosocomiales o adquiridas en la comunidad. También suele causar infecciones de tejidos blandos (p. Ej., Peritonitis) y del sistema nervioso central (p. Ej., Meningitis neonatal). La carga mundial de estas infecciones extraintestinales es asombrosa, con cientos de millones de personas afectadas anualmente y una morbilidad y mortalidad considerables en casos de complicación con bacteriemia o síndrome de sepsis.^{1,2}

En los últimos años este microorganismo que se encuentra diseminado por todo el medio ambiente es causante de muchas enfermedades en especial intra o extra hospitalarias es causante de muchas muertes alrededor del mundo en especial países subdesarrollados donde no existe un lineamiento o una política de salud pública que nos pueda ayudar a revertir estos datos. Su gran capacidad para adaptarse en sistemas u órganos hacen que este microorganismo pueda ser muy mortal tanto la OMS como otras organizaciones tratan de proporcionar esquemas y tratamientos para poder dar frente a estas enfermedades. Otro problema para estas organizaciones es la resistencia del microorganismo hacia ciertos antibióticos esto se debe al uso irracional de los antibióticos.^{1,2,3}

Además, los patógenos de *E. coli* en particular los que causan infecciones extraintestinales, han desarrollado resistencia a todas las clases de antibióticos introducidos para tratar infecciones humanas y animales. La prevalencia de resistencia a los antibióticos orales de primera línea, como trimetoprim-sulfametoxazol, amoxicilina y amoxicilina más ácido clavulánico, que se utilizan ampliamente para tratar las infecciones por *E. coli* adquiridas en la comunidad, ha aumentado de manera constante con el tiempo.^{4,5}

En América sucede un caso similar, con mayor implicancia en cuanto a la resistencia de las cepas de *E. coli* en infecciones, llegando a presentarse hasta un 90% de resistencia a múltiples antibacterianos, lo que indica que el tratamiento habitual está relacionado con una mezcla de antibióticos.^{6,7}

En el Perú, López presentó un artículo donde encontró una gran cantidad de bacterias por encima de los valores normales en la playa Agua Dulce en la capital. Aislados, se encontró

que eran resistentes a diferentes antibióticos por lo que refiere que muchas playas en el territorio nacional están contaminadas con este patógeno.⁸

En nuestro país, algunos estudios muestran realizadas han encontrado cepas resistentes también en infecciones comunitarias en un 30% y en hospitales en un 40% aproximadamente, por lo tanto, estos microorganismos están produciendo resistencia tanto en ambientes hospitalarios como en la comunidad, estos datos se correlacionan con las estadísticas mundiales.⁸

En el departamento de Lambayeque un estudio realizado por Aguilar et al. Mostró la prevalencia de varias cepas de *Escherichia coli* en las verduras y otros productos alimenticios encontrados en diferentes mercados como Moshoqueque.^{9,10,11}

El presente proyecto pretende colaborar en la búsqueda de tratamientos no farmacológicos que eviten la proliferación de cepas resistentes, utilizando como alternativas al tratamiento antibacteriano plantas medicinales.

Formulamos el problema general, ¿Cuál es el efecto antibacteriano in-vitro de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Mentha spicata* (hierba buena) sobre *Escherichia coli*? Seguido de los problemas específicos que son los siguientes, ¿Cuál es el efecto antibacteriano in-vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 100% sobre *Escherichia coli*?, ¿Cuál es el efecto antibacteriano in-vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 50% sobre *Escherichia coli*?, ¿Cuál es el efecto antibacteriano in-vitro del extracto etanólico de *Mentha spicata* (hierba buena) al 100% sobre *Escherichia coli*? y ¿Cuál es el efecto antibacteriano in-vitro del extracto etanólico de *Mentha spicata* (hierba buena) al 50% sobre *Escherichia coli*?

Esta investigación tiene como objetivo general, determinar el efecto antibacteriano in-vitro de los extractos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Mentha spicata* (hierba buena) sobre *Escherichia coli*, y como objetivos específicos, valorar el efecto antibacteriano in-vitro del extracto de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 100% sobre *Escherichia coli*, valorar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 50% sobre *Escherichia coli*, valorar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Mentha spicata*

(hierba buena) al 100% sobre *Escherichia coli* y valorar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de *Mentha spicata* (hierba buena) al 50% sobre *Escherichia coli*.

Esta investigación se justifica por la medicina tradicional o etnomedicina que proviene de una serie de prácticas empíricas ancestrales cuya transmisión de conocimientos se ha dado mediante la comunicación oral de generación en generación, principalmente por medios orales, con el intento de solucionar los diferentes problemas de salud. La medicina tradicional es la base primaria para el cuidado de la salud en sectores desprotegidos de la sociedad con escasos recursos económicos, esto debido a su fácil disponibilidad y su relativo bajo costo.

Las enfermedades diarreicas son la principal causa de morbilidad y mortalidad en los países de ingresos bajos a medianos y se estima que son la segunda causa principal de mortalidad entre los niños menores de 5 años, lo que resulta en 0,5 millones de muertes en todo el mundo. Las regiones subsaharianas y del sudeste asiático representan la mayor carga de la enfermedad (> 72%)

La fitoterapia forma parte de la medicina tradicional de muchos países y es la forma de tratamiento de primera mano por personas que no tienen acceso ni recursos a la medicina convencional o que por razones médicas requieren de tratamiento complementario especialmente cuando las reacciones adversas son mayores que los beneficios mostrados principalmente en pacientes polimedicados y crónicos.

El proyecto de investigación muestra viabilidad analítica en su ejecución puesto que no demandó el empleo de equipos sofisticados de alto costo, se cuenta con ambientes adecuados y suficientes para la realización de la mayor parte de la ejecución, metodológicamente y bibliográficamente se cuenta con la información y apoyo técnico científico para su ejecución; cuenta así mismo, con el recurso humano para la ejecución, apoyo y asesoría.

Las fuentes bibliográficas que se cuentan el desarrollo y ejecución del presente son los encontrados principalmente en internet como tesis, publicaciones en revistas relacionadas considerándose una antigüedad menor a 5 años.

Este estudio presenta limitaciones en cuanto a disponibilidad de equipos y reactivos ya que no se cuenta con los necesarios en la universidad, así mismo, la disponibilidad de la muestra presenta limitaciones en cuanto a accesibilidad inmediata, del mismo modo, algunas pruebas y análisis que sean necesarios fueron contratados como servicios por terceros.

Se presentan los siguientes antecedentes nacionales los que avalan dicha investigación, **Hernandez, R.**¹² presentó un trabajo de investigación titulado “EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Rosmarinus officinalis* SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Microsporus canis* in-vitro”, para obtener el título profesional de Biólogo-Microbiólogo en la Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo – Perú, **2019**. El estudio tuvo como objetivo principal determinar el efecto del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre el crecimiento de *Microsporus canis* in-vitro. La metodología empleada fue del tipo experimental, cuyo procedimiento consistió en obtener el aceite esencial mediante el método de arrastre por vapor de las hojas de *Rosmarinus officinalis*. Esta planta fue recolectada y desecada, teniendo en consideración de la limpieza y proceso adecuados, para luego someterlo al equipo de arrastre a vapor. Se prepararon diferentes concentraciones y se realizaron el sembrado correspondiente por puntura y a una temperatura de 25°C. Los resultados que se obtuvieron demostraron el efecto inhibitorio del crecimiento micelial con las diferentes concentraciones del aceite esencial. La conclusión del trabajo informa que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* inhibe el crecimiento de *Microsporus canis* in-vitro. **Sanchez E.**¹³ Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa* comparado con Cefepime. Estudio in vitro. Para obtener el título profesional de Médico cirujano por la Universidad César Vallejo Lima-Perú en el **2018**. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa* comparado con Cefepime. Se usó el método de extracción por percolación e hidrodestilación y de evaluación fisicoquímica con prueba estándar de identificación fisicoquímica y microbiológica. Para lo cual, previamente la muestra vegetal sufrió un proceso de desecado a fin de inmovilizar la actividad enzimática para posteriormente someter al proceso de obtención. Mediante el sembrado por el método de Kirby Bauer y realizando 10 repeticiones en las *Pseudomonas aeruginosa*, Los resultados que se encontraron fueron una incapacidad de inhibición del aceite esencial en las diferentes concentraciones que se evaluaron por lo que el estudio concluye que el aceite

esencial de *Rosmarinus officinalis* no posee capacidad para inhibir el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa* in-vitro. **Zelada J.**¹⁴ EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE *Mentha spicata* (MENTA) FRENTE A *Staphylococcus aureus*. Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico por la Universidad Los Ángeles de Chimbote. **2019**. El objetivo del trabajo fue determinar la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Mentha spicata* frente a *Staphylococcus aureus*. La metodología que usaron fue la obtención del aceite esencial mediante arrastre de vapor de la muestra vegetal. Estos se diluyeron en diferentes concentraciones. El cultivo de las cepas bacterianas y el sembrado se logró siguiendo la metodología de Kirby Bauer en donde colocando discos en diferentes placas contaminadas con la bacteria se pudo medir el halo de inhibición. Los resultados que encontraron que a la concentración de 75% no hubo diferencia significativa con el ciprofloxacino por lo que el estudio concluye que el aceite esencial de *Mentha spicata* si posee efecto antibacteriano in vitro con cepas de *Staphylococcus aureus*, y **Figuerola M.**¹⁵ Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha spicata* sobre *Escherichia coli* cepa 25922 comparado con norfloxacino, in vitro. Tesis para obtener el título de Médico Cirujano. Universidad César Vallejo. **2018**. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto antibacteriano de *Mentha spicata* sobre *Escherichia coli* comparado con norfloxacino in vitro. La metodología que siguió el estudio fue obtener el aceite esencial del *Mentha spicata* a través de arrastre de vapor, luego esta sustancia se almacenó en refrigeración para que por el método de Kirbi Bauer modificado pueda administrarse en discos empapados sobre cada cepa de *Escherichia coli*. Los resultados que se encontraron fue que a la concentración de 75% el halo de inhibición fue mayor por lo que el estudio concluyó que el aceite esencial de *Mentha spicata* si posee efecto antibacteriano in-vitro.

En los antecedentes a nivel internacionales presentamos los siguientes: **Rafael J. et al**¹⁶ "Rosmarinus officinalis L. (romero) como agente terapéutico y profiláctico". **2019**. El objetivo fue mostrar que los productos vegetales podrían ser equivalentes a los medicamentos disponibles. La metodología empleada en el trabajo de investigación es en la recopilación de información en fuentes indexadas de diferentes partes del mundo relacionados con la actividad antibacteriana de *Rosmarinus officinalis*, comparar estos con medicamentos relacionados y determinar su efectividad comparativa. Se determinó que el extracto de la planta se puede obtener de raíces, tallos, hojas, flores, frutos, semillas y

corteza y todos contienen principios activos con actividad terapéutica. Además, de encontrarse fuerte evidencia con diferentes actividades medicinales por lo que el estudio concluye que *Rosmarinus officinalis* puede actuar en diferentes patologías y serviría como complemento en diferentes tratamientos, **Park Y, et al**¹⁷ "Composición de compuestos volátiles y actividad antimicrobiana in vitro de nueve *Mentha* spp". Publicación indexada en Springer Plus. **2015**. El objetivo del trabajo fue determinar la composición de los compuestos volátiles y antibacteriana de 9 compuestos de *Mentha* sp. La metodología que se uso fue la de identificación de la composición de los volátiles a partir de las partes aéreas de nueve especies diferentes de *Mentha* usando cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC / MS). Además, se seleccionaron las actividades antimicrobianas contra seis bacterias patógenas transmitidas por alimentos utilizando extractos que obtuvieron estas plantas. Los resultados que mostraron la investigación fue que el extracto de etanol de nueve especies de *Mentha* mostró una mayor actividad en comparación con otros extractos solventes (metanol, hexano, di etil éter). De la investigación se concluye que los monoterpenoides son principalmente ricos en plantas *Mentha* . Además, la mayoría de los extractos obtenidos de *Mentha* mostraron una fuerte actividad antimicrobiana contra las bacterias, y **Jafari-Sales A.**¹⁸ Antimicrobial effects of *Rosmarinus officinalis* methanolic extract on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in laboratory conditions. Publicación indexada en la revista Medicinal and Chemical Sciences. **2020**. El objetivo fue determinar los efectos antimicrobianos del extracto metanólico de *Rosmarinus officinalis* sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en condiciones de laboratorio. La metodología que usó fue el de la extracción de los principios activos usando el método de Soxhlet con etanol. En primer lugar se limpiaron y se secaron a la sombra las hojas de *Rosmarinus officinalis* posteriormente, estos se ubicaron en el en equipo Soxhlet y se extrajo con metanol hasta agotamiento. Dicho extracto obtenido se concentró en un equipo rotavapor para que finalmente se puedan realizar diferentes diluciones experimentales de 20-400 mg / mL. La difusión por pozos sirvió para evaluar la actividad antibacteriana contra las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados que se encontraron muestra que el extracto metanólico de *R. officinalis* planta tiene un efecto inhibidor sobre *P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. aureus* de modo que tenga la más alta sensibilidad a los extractos metanólicos de *R. officinalis* en *P. aeruginosa* con una zona de

inhibición del crecimiento de 19,8 mm y la menor sensibilidad a *S. aureus* con la zona de inhibición del crecimiento 14,4 mm. Las conclusiones de la investigación indica que los extractos metanólicos de *Rosmarinus officinalis* si posee actividad antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Dentro de las bases teóricas tenemos a *Rosmarinus officinalis* L. es una planta medicinal que pertenece a la familia Lamiaceae y se conoce comúnmente como romero. Las hojas frescas y secas de romero se han utilizado por su aroma característico en la cocción de alimentos o se consumen en pequeñas cantidades como té de hierbas, mientras que los extractos de romero se emplean habitualmente como antioxidantes naturales para mejorar la vida útil de los alimentos perecederos. En este último caso, la Unión Europea aprobó el extracto de romero (E392) como un antioxidante natural seguro y efectivo para la conservación de alimentos.^{19,20} Se le conoce también como romero, romero blanco, romero común, planta del cielo, romiru, rosa del mar.¹⁹

En su clasificación taxonómica²⁰ tenemos: (Reino : Plantae), (Clase : Dicotiledóneas), (Orden : Lamiales), (Familia : Lamiaceae), (Género : *Rosmarinus*), (Especie : *Rosmarinus officinalis*).

La descripción botánica de *Rosmarinus officinalis*^{21,22}, es un arbusto de hoja perenne, generalmente erecto, espeso, de hasta 2 m de alto y ancho. Tallo indistintamente cuadrangular, finamente gris pubescente. Hojas opuestas, copetudas en las ramas, sésiles a pecioladas cortas; hoja lineal, 1-5 cm x 1-2 mm, aromáticamente fragante cuando se aplasta. Inflorescencia racemosa, axilar, de 5 a 10 flores, 0.5-2.5 cm de largo, terminando en ramas laterales cortas. Fruto compuesto de 4 nueces subglobosas a obovoides, de aproximadamente 2 mm de largo, largas y lisas.

Su composición química^{21,22,23} se caracteriza por la presencia de ácido carnósico, carnosol, ácido rosmarínico, ácido oleanólico, ácido ursólico y hesperidina, como componentes principales. El aceite esencial de romero contiene principalmente 1,8-cineol (46,4%), alcanfor (11,4%) y α -pineno (11,0%). Está compuesto principalmente por 1,8-cineol (26,54%) y α -pineno (20,14%), alcanfor (37,6%), 1,8-cineol (10,0%), p-cimeno-7-ol (7,8%) y borneol (5,4%).

Las propiedades farmacológicas^{22,23} de *Rosmarinus officinalis* demostrados incluyen capacidad para atenuar asma, aterosclerosis, cataratas, cólico renal, hepatotoxicidad, úlcera péptica, enfermedades inflamatorias, cardiopatía isquémica; acciones antioxidantes y antiinflamatorias del ácido rosmarínico; control de la hipercolesterolemia y el estrés oxidativo y alivio de la fatiga física y mental; reducción de la presión arterial miocárdica con ácido rosmarínico; acción antiulcerosa; reducción de la peroxidación lipídica en corazón y cerebro; efectos antiangiogénicos y neuroprotectores del ácido carnósico y el carnosol; prevención de problemas relacionados con la aterosclerosis ; efectos anticancerígenos y antiproliferativos; antiviral; y acciones antimicrobianas; capacidades hepatoprotectora, nefroprotectora y radioprotectora-antimutagénica; reducción de la glucemia; relajante muscular y tratamiento para la alergia cutánea; capacidad para tratar el comportamiento depresivo. Las hojas y las raíces de la planta se utilizan para tratar la indigestión y como febrífugo, mientras que las raíces actúan además como vermífugo. Los tallos tienen actividad tónica y sedante. La planta posee propiedades antioxidantes y captadoras de radicales libres, diurética, depurativa, digestiva y laxante.

La planta *Mentha spicata* (hierba buena),^{22,23} es una planta aromática que se encuentra principalmente en Eurasia, Australia, Sudáfrica y China. Aunque en la actualidad es conocida en todo el mundo. Comúnmente, las hojas frescas se usan como vegetales crudos o hierbas aromatizantes, mientras que las hojas secas se usan tradicionalmente para infusiones o medicinas. Se ha informado que las hierbas de menta poseen varios efectos biológicos, que incluyen actividades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas y antimicrobianas.

Esta planta es conocida como Hierba buena, hojas de santa maría, mastranza, menta verde, yerba buena, yerba olorosa, yerba santa, hierba del tiñoso.^{24,25}

Actualmente su distribución es mundial. Se introdujo en América del Norte desde Europa como una hierba medicinal y culinaria, pero se ha escapado del cultivo y se ha naturalizado en hábitats principalmente perturbados. Estos hábitats incluyen áreas bajas a lo largo de los ríos, prados húmedos, zanjas en las carreteras, áreas a lo largo de los cimientos de edificios, bordes de patios y terrenos baldíos. Esta planta a menudo se cultiva en jardines.^{25,26}

La hierba buena puede extenderse agresivamente en áreas abiertas donde hay una competencia limitada de las plantas más altas. A veces se ve afectado negativamente por la enfermedad foliar relacionada con el óxido. Es una planta muy fácil de cultivar, tiene éxito en la mayoría de los suelos y situaciones siempre que el suelo no esté demasiado seco. Crece bien en suelos arcillosos pesados. Una posición soleada es la mejor para la producción de aceites esenciales, pero también tiene éxito en la sombra parcial. Prefiere sombra parcial y un suelo ligeramente ácido. A menudo cultivada como hierba culinaria en el jardín de hierbas, la menta verde también se cultiva comercialmente por su aceite esencial, los rendimientos son de aproximadamente 3.5 a 4.5 kilos por tonelada de hojas. La *Mentha spicata* tiene raíces de propagación bastante agresivas y, a menos que tenga el espacio para dejarlas vagar, necesitan ser retenidas por algún medio, como plantarlas en contenedores que están enterrados en el suelo.^{25,26,27}

Su clasificación taxonómica^{27,28} es: (Reino : Plantae), (Clase : Magnoliopsida), (Orden : Lamiales), (Familia : Lamiaceae), (Género : Mentha), (Especie : *Mentha spicata*)

La descripción botánica^{26,27,28,29} es una planta herbácea perenne de aproximadamente 30 cm de altura. El tallo central y cualquier tallo lateral son de color verde claro a verde rojizo, de 4 ángulos y glabros. Pares de hojas opuestas sésiles ocurren a lo largo de estos tallos. Las hojas individuales son lanceoladas a ovadas y dentadas a lo largo de sus márgenes. Los dientes alargados de los márgenes tienen puntas estrechas que se doblan hacia la punta de cada lámina de la hoja. La superficie superior de cada hoja es de color verde medio y glabro. La superficie inferior de cada hoja es de color verde pálido a medio. El follaje de la menta verde tiene una fragancia a menta moderadamente fuerte. El tallo central y cualquier tallo lateral superior terminan en espigas densas de flores en espiral de aproximadamente 3 cm de largo. En el ápice del tallo central, la inflorescencia generalmente consiste en una espiga central y 2 espigas laterales más pequeñas. Las flores individuales son aproximadamente 3 mm. de largo, que consiste en un cáliz tubular corto con 5 dientes estrechos, una corola tubular corta con 5 lóbulos, 4 estambres fuertemente ejercidos y un pistilo con un solo estilo que se divide en su punta. El cáliz es de color verde claro a verde rojizo y glabro, mientras que la corola es de color blanco a rosa claro. El período de floración ocurre desde mediados del verano hasta el otoño, dura aproximadamente 1-2 meses. Luego, cada flor se reemplaza por 4 pequeñas nueces que se

encuentran dentro del cáliz persistente. El sistema de raíces poco profundas es fibroso y rizomatoso. Las colonias clonales de plantas a menudo se producen a partir de los rizomas.

Composición química del aceite esencial de esta planta está compuesta por: α -pineno, Sabinene, Limoneno, 1,8-cineol, Menthone, Isomenthone, α -terpineol, Carveol, Pulegone, Piperitona, Timol, Carvacrol, Longifolene. Además, contiene ácido cafeíco, ácido cinámico, y oleanólico. En general muchos compuestos flavonoides.²⁹

Las propiedades farmacológicas^{29,30,31} de las plantas de *Mentha spicata* fresca y seca se usan ampliamente en una variedad de aplicaciones. Desde la antigüedad, las culturas occidentales y orientales se han practicado con la menta verde como plantas medicinales y aromáticas. En términos de usos biológicos, la hierba buena actúa como insecticida, antiespasmódicos y antiplaquetarios. Además, la menta verde se utiliza como agentes antimicrobianos y antioxidantes. En términos de usos médicos, la hierbabuena se considera una medicina a base de hierbas en remedios populares para el tratamiento de resfriados y gripe, problemas del tracto respiratorio, gastralgia, hemorroides y dolor de estómago. La menta verde se extrae en forma de aceite y se usa regularmente en medicina. Las hojas de hierbabuena generalmente se toman como un té en el que sus propiedades carminativas pueden ayudar a tratar los trastornos digestivos, la fiebre y las dolencias menores. Además, la menta verde se ha aplicado ampliamente para tratar diversas enfermedades. Por ejemplo, náuseas, vómitos y trastornos gastrointestinales.

Siguiendo con las bases teóricas el género *Escherichia* está formado por bacilos gramnegativos anaerobios facultativos que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. La especie tipo género *Escherichia coli* está ampliamente distribuida, donde es el principal anaerobio facultativo que habita el intestino grueso de humanos y animales de sangre caliente. Aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* viven de forma inofensiva en el colon y rara vez causan enfermedades en individuos sanos, una serie de cepas patógenas pueden causar enfermedades intestinales y extraintestinales tanto en individuos sanos como inmunodeprimidos.^{32,33}

E. coli bacterias pueden dar lugar a infecciones en las heridas, el urinario tracto, biliar tracto, y abdominal cavidad (peritonitis). Este organismo puede causar septicemia, meningitis neonatal, gastroenteritis infantil, diarrea turística y diarrea hemorrágica. Una *E. coli* infección puede también surgir debido a la exposición ambiental. Las infecciones con

este tipo de bacterias representan una seria amenaza para la salud pública con brotes que surgen de alimentos y agua que han sido contaminados con heces o aguas residuales de humanos o animales. Este tipo de bacterias ha sido utilizado como un indicador biológico para seguridad del agua potable desde la década de 1890. La exposición también puede ocurrir durante la hospitalización, lo que resulta en neumonía en pacientes inmunodeprimidos o aquellos en un ventilador.^{33,34}

Las características generales y bioquímicas de *Escherichia coli* un miembro de la familia Enterobacteriaceae son: bacterias gramnegativas, facultativamente anaeróbicas en forma de bastoncillo (que poseen un metabolismo fermentativo y respiratorio) y que no producen la enzima oxidasa. Las células de *Escherichia coli* suelen tener 1,1 a 1,5 µm de ancho, 2 a 6 µm de largo y se presentan como bastoncillos rectos únicos. Pueden ser móviles o inmóviles, y cuando son móviles producen flagelos laterales, en lugar de polares. Además de los flagelos, muchas cepas producen otros apéndices como las fimbrias. o pili, que son estructuras proteínicas (o apéndices o fibras) que se extienden hacia afuera desde la superficie bacteriana y juegan un papel en la unión a superficies que incluyen otras células o tejidos del huésped.^{34,35}

Escherichia coli tiene antígenos de lipopolisacárido O específicos de la cepa en su pared celular (actualmente se reconocen al menos 188 antígenos O) y flagelos o antígenos H si están presentes (se reconocen al menos 53 tipos H). También existen numerosos antígenos de polisacáridos (K) capsulares diferentes. *Escherichia coli* se serotipifica en base a la combinación de antígenos O, H y K, aunque generalmente solo se enumeran los tipos O y H, por ejemplo, *E. coli* O157: H7. La serotipificación de *E. coli*, junto con la tipificación del genoma, la virulencia y los fagos, es una herramienta epidemiológica útil. La secuenciación del genoma completo es un método que se está volviendo comúnmente utilizado para la tipificación de *E. coli* identificación de genes de virulencia. Las secuencias del genoma de *E. coli* no patógenas constan de 4.6 millones de bases, mientras que los aislados patógenos tienen genomas más grandes de alrededor de 5.4 millones de bases. Dicha información genómica proporciona una base para comprender las relaciones entre los diferentes grupos patógenos de *E. coli*, el potencial de las cepas aisladas para causar enfermedades y la capacidad de transferir material genético que puede conducir a la aparición de tipos nuevos o más virulentos de *E. coli*.^{35,36}

La *E. coli* patógena opcional se diagnostica mediante cultivo de muestras apropiadas e identificación bioquímica. En el diagnóstico de infección del tracto urinario por orina a mitad del flujo, se debe determinar el número de bacterias. Un recuento bacteriano > 10⁵ / ml habla de infección. La detección de *E. coli* patógena intestinal es comparativamente difícil. Aquí vienen los ensayos de cultivo celular, el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas y / o se utilizan métodos biológicos moleculares. La serotipificación sigue siendo un laboratorio especializado.^{35,36}

La prevalencia de resistencia en *E. coli* se ha deteriorado significativamente en los últimos años en algunos casos. Según el estudio de resistencia de la Sociedad Paul Ehrlich de Quimioterapia, la proporción de cepas con resistencia a la ampicilina participó en todos los aislamientos de *E. coli* examinados del 30,7% en 1990 a > 50% en 2004. La causa más común de resistencia a la ampicilina son las betalactamasas, que son inhibidas en gran medida por los inhibidores de betalactamasas. Simultáneamente, la frecuencia de resistencia aumentó en comparación con otros antibióticos. El aumento de la resistencia a las fluoroquinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino, moxifloxacino, etc.) se considera particularmente crítico. Además, se observa un aumento de cepas productoras de BLEE (5,1% en 2004). Las BLEE (beta-lactamasas de espectro extendido) son beta-lactamasas,^{35,36}

Un mecanismo importante de resistencia que se puede encontrar en *E. coli* es la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE), cefalosporinasas AmpC (AmpC), o ambas, lo que resulta en la inactivación enzimática de los β -lactámicos. La prevalencia global de genes de β -lactamasa (p. Ej., Bla) ha aumentado considerablemente durante los últimos 30 años en todo el mundo, tanto en humanos como en animales. Este aumento podría deberse a la dispersión espacial de elementos genéticos móviles o clones de alto riesgo o podría deberse a la presión antimicrobiana. En caballos, se ha documentado resistencia fenotípica al ceftiofur (XNL) en potros y en adultos. La variante del gen BLEE bla CTX - M - 1 se identifica con mayor frecuencia. Sin embargo, también se han detectado bla CTX - M - 2 , bla CTX - M - 9 , bla CTX - M - 15 , y varias variantes de bla CMY . Todas estas variantes también se han encontrado en otros animales de 10 especies y en los seres humanos. El gen bla CTX - M - 15 es la variante más prevalente en humanos porque se disemina a través de plásmidos epidémicos y clones de *E. coli* de alto riesgo, como el ST131 de tipo secuencial. Los genes de la β -lactamasa son transportados principalmente por plásmidos, que también pueden transmitir resistencia a otras clases de antimicrobianos, lo que confiere resistencia a

múltiples fármacos (MDR). Además, tener un caballo es un factor de riesgo para el transporte de BLEE en humanos, lo que pone de relieve la posible preocupación por la salud pública. El uso de cefalosporinas de tercera y cuarta generación comercializadas para medicina veterinaria está autorizado en caballos en Francia, posiblemente mejorando la diseminación de genes BLEE / AmpC.

Los genes de resistencia a los antimicrobianos pueden coexistir con los genes de virulencia en los mismos plásmidos en bacterias patógenas. Aunque *E. coli* no se considera un patógeno entérico en caballos adultos, se ha reconocido esporádicamente a *E. coli* patógena extra-intestinal (ExPEC) como agentes patógenos potenciales en caballos, y se ha informado la presencia de factores de virulencia en *E. coli* aislado de caballos. Las ExPEC son motivo de preocupación para la salud pública porque algunas cepas pueden ser zoonóticas. La presencia de cepas altamente virulentas y resistentes a los antimicrobianos en la microbiota intestinal de los caballos podría representar un riesgo para los manejadores de caballos debido a la posibilidad de transmisión por contacto cercano.^{36,37}

Las características que producen infecciones y virulencia son las siguientes: Pili, ayuda a la adherencia de los organismos a las células del yeyuno e íleon en caso de infección del tracto intestinal; epitelio del tracto urinario en caso de infecciones del tracto urinario. Cápsula, interfiere con la fagocitosis, juega el papel principal en infecciones sistémicas. Endotoxina (lipopolisacárido), responsable de varias características de la sepsis por gramnegativos, como fiebre, hipotensión y coagulación intravascular diseminada (CID). Exotoxinas, por ejemplo, enterotoxina que actúan sobre las células del yeyuno y el íleon para provocar diarrea. Otras exotoxinas son la verotoxina, la toxina similar a Shiga, etc.^{37,38,39}

Esta investigación tiene como hipótesis general, los extractos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Metha spicata* (hierba buena) poseen efecto antibacteriano *in vitro* contra *Escherichia coli*, y como hipótesis específicas las siguientes, el extracto de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 100% posee efecto antibacteriano *in vitro* contra *Escherichia coli*, el extracto de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 50% posee efecto antibacteriano *in vitro* contra *Escherichia coli*, el extracto de *Mentha spicata* (hierba buena) al 100% posee efecto antibacteriano *in vitro* contra *Escherichia coli* y el extracto de *Mentha spicata* (hierba buena) al 50% posee efecto antibacteriano *in vitro* contra *Escherichia coli*.

II. MÉTODO

2.1. Tipo y diseño de la investigación

Tipo de investigación.

- En cuanto a su finalidad: aplicada, experimental y prospectivo.

Diseño de la investigación

- Experimental

Debido a que se manipulará las variables independientes y luego se analizará el efecto producido sobre la variable dependiente.

G1	X1	O1
G2	X2	O2
G3	--	O3

G1, G2 y G3: Grupos de cepas de *Escherichia coli*

X1: Tratamiento con extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* “romero”

X2: Tratamiento con extracto etanólico de *Mentha spicata* “hierba buena”

O1, O2 y O3: Efecto observado.

-- Control negativo, sin tratamiento.

2.2. Operacionalización de variables

- **Variable independiente:**

Extractos de *Rosmarinus officinalis* y Extractos de *Mentha spicata*

- **Variable dependiente:**

Efecto antibacteriano contra las cepas de *Escherichia coli*

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
El extracto etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero)	Solución obtenida mediante extracción con etanol de los metabolitos secundarios de la planta.	Concentración	100%	Porcentaje
			50%	
El extracto etanólico de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena)	Solución oleosa extraída de la matriz vegetal con alcohol etanol los fitoconstituyentes .	Concentración	100%	Porcentaje
			50%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia coli</i>	Actividad que muestra una sustancia sobre el crecimiento bacteriano.	Halo de inhibición	Diámetro	milímetros

2.3. Población, muestra y muestreo ((*incluir criterios de selección*))

Población

- Población vegetal:
Muestras de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Mentha spicata* (hierba buena) extraídas de Ferreñafe.
- Poblaciones biológicas
Escherichia coli

Muestra.

- Muestra vegetal:

Extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero)
Extracto etanólico de *Mentha spicata* (hierba buena)
- Muestra biológica:
Cepas de *Escherichia coli*

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

Técnicas.

Percolación con alcohol. Se utilizó el método de la percolación para la extracción de los principios activos de las especies vegetales. Dicho método se sustenta en la maceración en donde por contacto permanente de la muestra vegetal con el alcohol permitirá obtener un extracto al que se le conoce con el nombre de extracto alcohólico.⁴⁰

Método biológico de Kirby Bauer. Este proceso consiste en comprobar la actividad antibacteriana de varios compuestos para lo cual, se usan discos de papel embebidos en la sustancia antibacteriana. Dichos discos se ponen en contacto con las cepas bacterianas previamente reactivadas y sembradas en placas Petri en un medio de cultivo adecuado. Se basa en la formación de halos de inhibición después de 48 o 72 horas de incubación.⁴¹

Instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos que se usarán en la ejecución del presente trabajo de investigación son:

Cuaderno de registros: Elaborado por el investigador, donde se recopilaban los datos de medidas de los halos de inhibición del control y de los extractos etanólicos. (Ver anexo 2)

Bases de datos en Excel: Los datos obtenidos en el cuadro de registro se ingresaron a una base de datos en Excel para poder obtener medidas de tendencia central y dispersión.

2.5. Procedimientos

- **Recolección y preparación del extracto alcohólico^{42,43}**

Se recolectaron aproximadamente 500 gr. muestras de *Rosmarinus officinalis* y 500 gr. de *Mentha spicata* en las cercanías al pueblo de Ferreñafe. Estos se secaron debidamente al medioambiente sin presencia del sol directo.

Se pesaron 500 gr. de hojas secas de cada muestra biológica, se trituraron y agregaron 500 ml de etanol de 96°, luego se dejó en el equipo de percolación por separado durante 48 horas. El resultado de este proceso se evaporó el solvente en un rotavapor con la finalidad de obtener un extracto fluido de concentración 1:1.

Este extracto fluido sirvió para realizar las diluciones respectivas y aplicar en las placas que se prepararan posteriormente. El extracto debe de mantenerse en refrigeración hasta su uso.

- **Reactivación de la cepa de *Escherichia coli*:**^{42,43}

La reactivación de la cepa de *Escherichia coli* se realizó en caldo de Müller Hinton en incubadas a 37°C por 24 horas. Luego se comparó la turbidez con tabla de Mac Farland N 0.5 (1.5 x 10⁸ UFC ml)

- **Sembrado en placa de cepa de *Escherichia coli*:**⁴²

Se realizó un sembrado en estrías en agar Muller Hinton, se llevó a incubación por 24 horas a 37°C para posteriormente realizar el efecto antibacteriano en placa.

- **Evaluación del extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* y *Mentha spicata***^{42,43}

a) Con pinzas estériles se colocaron en cada placa ocho⁴⁵ discos de papel de filtro de la manera siguiente:

- 1 disco con 10 ul de alcohol etílico 96% (control negativo).
- 1 disco con 10 ul de agua destilada (control negativo).
- 3 disco con 10 ul de extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* al 50% y 100% y extracto etanólico de *Mentha spicata* al 50% y 100%.

b) Las muestras se incubaron por 24 horas a 37°C

c) Luego de esto se procedieron a tomar las medidas directas de los halos de inhibición formados.

2.6. Métodos de análisis de datos.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva de tendencia central y dispersión para cada variable, así mismo, se emplearon estadística inferencial mediante las pruebas Tukey, Dunnett y ANOVA. El nivel de significancia será del 0.05.

2.7. Aspectos éticos

El presente proyecto de investigación no presenta ningún riesgo en personas o animales ya que no son objeto de la investigación, en el mismo sentido cumple con los principios de ética y deontología en todo su desarrollo. Durante la ejecución del proyecto se mantuvo un alto nivel de bioseguridad especialmente por la manipulación de microorganismos patógenos.

III.RESULTADOS

TABLA N° 1. Prueba de Tukey en comparaciones múltiples para un intervalo de confianza del 95%

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Diámetros

HSD Tukey

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
RO100	RO50	2,200*	,333	,000	1,25	3,15
	ME100	3,311*	,333	,000	2,36	4,26
	ME50	7,533*	,333	,000	6,58	8,48
	CP	-9,000*	,324	,000	-9,92	-8,08
RO50	RO100	-2,200*	,333	,000	-3,15	-1,25
	ME100	1,111*	,342	,018	,14	2,09
	ME50	5,333*	,342	,000	4,36	6,31
	CP	-11,200*	,333	,000	-12,15	-10,25
ME100	RO100	-3,311*	,333	,000	-4,26	-2,36
	RO50	-1,111*	,342	,018	-2,09	-,14
	ME50	4,222*	,342	,000	3,25	5,20
	CP	-12,311*	,333	,000	-13,26	-11,36
ME50	RO100	-7,533*	,333	,000	-8,48	-6,58
	RO50	-5,333*	,342	,000	-6,31	-4,36
	ME100	-4,222*	,342	,000	-5,20	-3,25
	CP	-16,533*	,333	,000	-17,48	-15,58
CP	RO100	9,000*	,324	,000	8,08	9,92
	RO50	11,200*	,333	,000	10,25	12,15
	ME100	12,311*	,333	,000	11,36	13,26
	ME50	16,533*	,333	,000	15,58	17,48

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Fuente: Elaboración propia

La prueba de Tukey en comparaciones múltiples para cada uno de los grupos de trabajo arroja resultados de diferencia significativas entre ellos. Su comportamiento es dosis dependiente y muestra resultados más efectivos para el grupo patrón seguido del grupo RO (*Rosmarinus officinalis*) a la máxima concentración.

TABLA N° 2. Evaluación de subconjuntos homogéneos

Diámetros

HSD Tukey^{a,b}

Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
ME50	9	7,67				
ME100	9		11,89			
RO50	9			13,00		
RO100	10				15,20	
CP	10					24,20
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

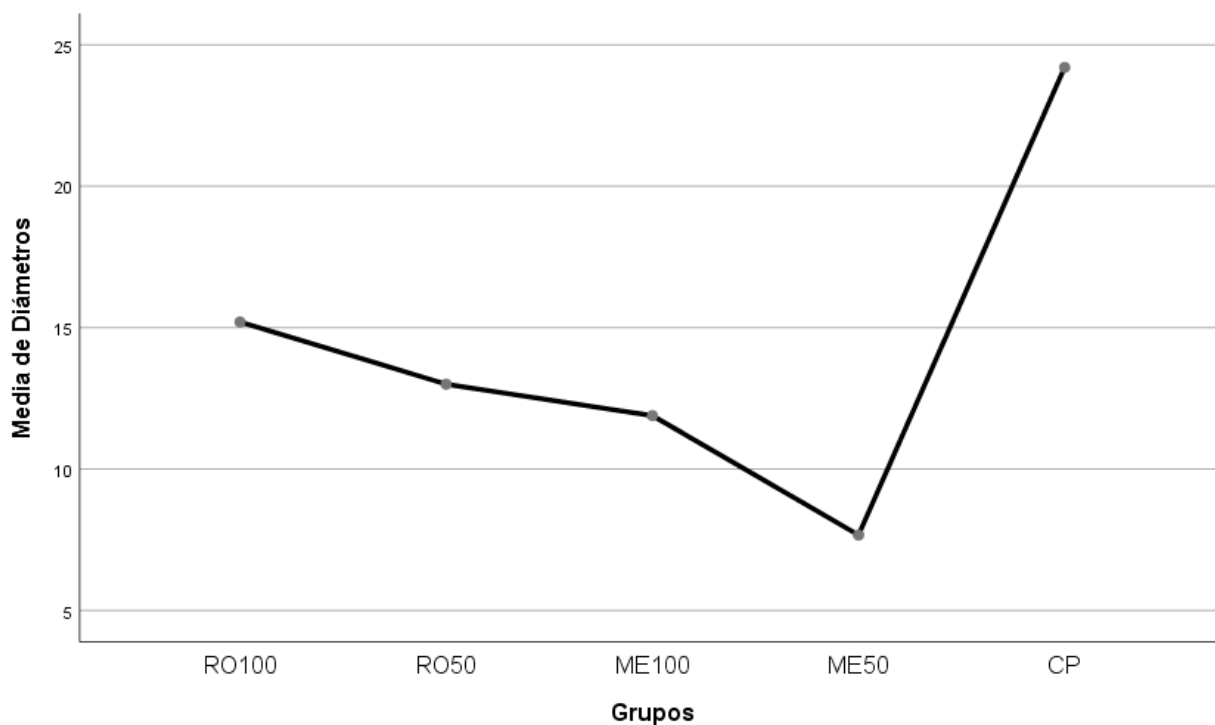
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,375.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Fuente: Elaboración propia

La evaluación de subconjuntos homogéneos para cada uno de los grupos experimentales muestra la diferenciación estadística en las muestras experimentales ME50, ME100, RO50, RO100 y CP.

FIGURA N°1. Medias de halos a diferentes concentraciones de extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Mentha spicata*



Fuente: Elaboración propia

La figura muestra los diámetros de los halos bajo la acción experimental en las concentraciones altas y bajas de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Mentha spicata*.

TABLA N° 3. Test de Dunnett en la comparación de múltiples concentraciones

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Diámetros

T de Dunnett (bilateral)^a

(I) Grupos	(J) Grupos	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
RO50	RO100	-2,200*	,333	,000	-3,05	-1,35
ME100	RO100	-3,311*	,333	,000	-4,16	-2,46
ME50	RO100	-7,533*	,333	,000	-8,38	-6,69
CP	RO100	9,000*	,324	,000	8,18	9,82

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como un control, y comparan todos los demás grupos con este.

Fuente: Elaboración propia

La evaluación de Dunnett muestra resultados comparados de las medias de *Rosmarinus officinalis* con los demás grupos experimentales a un intervalo de confianza del 95%

IV.DISCUSIÓN

Popularmente conocida como romero, la planta *Rosmarinus officinalis* se ha utilizado con mayor frecuencia debido a razones religiosas y se emplea comúnmente como adorno ritual para deidades y seres humanos. Sus virtudes fueron descubiertas en la Edad Media, y desde entonces ha sido ampliamente utilizado con fines culinarios y medicinales en todo el mundo. Sus principales componentes son ácido rosmarínico, ácido carnósico, carnosol, ácido ursólico, ácido oleanólico, genkwanina, apigenina y luteolina. En muchas investigaciones, atribuyen a dichos fitoconstituyentes actividades antibacterianas cuando han sido sometidos experimentalmente en placas petris.⁴⁴ Por otro lado, las especies de mentha son ricas en polifenoles y, además, contienen ácido cafeico y sus derivados ácidos caftárico, ácido cinámico, ácido ferúlico y ácido oleanólico. Estos compuestos son conocidos por poseer actividad antibacteriana cuando han sido aisladas in vitro.^{45,46}

Varios estudios se han realizado analizando ácido carnósico, carnosol, ácido rosmarínico, ácido oleanólico, ácido ursólico y aceite esencial del género *Rosmarinus* y se han enfrentado a varias cepas de bacterias Gram positivas (*Staphylococcus epidermidis* , *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*), tres bacterias Gram negativas (*Proteus vulgaris* , *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*) y han mostrado resultados con actividades antibacterianas in vitro.^{47,48}

Las investigaciones nacionales e internacionales como Jafari-sales,¹⁸ entre otros también han mostrado actividad antibacteriana in vitro de las hojas de *Rosmarinus officinalis* sobre las cepas de *Escherichia coli* a diferentes concentraciones.⁴⁹ Los resultados en las Tablas N°1, Tablas N°2 también muestran valores significativos de la acción antibacteriana del extracto de *Rosmarinus officinalis* al 100% que según la escala de Duraffourd entra en la clasificación de muy sensible (++)⁵⁰

El ácido rosmarínico a quien se le atribuye principalmente el efecto es un compuesto fitoquímico, tiene un perfil farmacéutico diverso. Está compuesto por

dos componentes básicos: ácido cafeico y una unidad de ácido salvánico.⁴⁹ La actividad antimicrobiana del ácido rosmarínico ya ha sido probada en bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, así como en levaduras. Según las últimas investigaciones, este compuesto podría ser candidata a un agente antimicrobiano tópico con actividad destructora en formas planctónicas de algunas cepas bacterianas.^{51,52}

La *Mentha spicata* también posee varias actividades biológicas y se utiliza en la medicina folclórica como agente carminativo, antiespasmódico, diurético, antibacteriano, antifúngico y antioxidante, y para el tratamiento de resfriados, tos y gripe, problemas del tracto respiratorio y el dolor de estómago.^{53,54}

Los aceites esenciales de mentha fueron reconocidos como ricos en monoterpenos oxigenados. Carvona, limoneno y cineol son algunos de los más representativos componentes de los aceites esenciales a quienes se les atribuye actividades antibacterianas entre otros.⁵⁵

Los estudios nacionales realizados por Zelada,¹⁴ Figuerola,¹⁵ así como los internacionales ejecutados por Park,¹⁷ han comprobado la actividad antibacteriana de la *Mentha spicata*, especialmente de sus aceites esenciales, pero también del extracto en diferentes actividades.⁵⁶

Los resultados de la experimentación (Tabla N°2; Figura N°1) muestra cierta acción antibacteriana contra las cepas de *Escherichia coli*, con un halo de inhibición de 12 mm que representa una sensibilidad media (+) según la escala de Duraffourd.⁵⁰

Algunos estudios como el realizado por Ismaili⁵⁷ cuando enfrentaron el aceite esencial de *Mentha spicata* sobre las cepas de *Escherichia coli* mostraron halos de inhibición de hasta 22.5 mm. Probablemente se debe a que en la composición del extracto las concentraciones de los componentes del aceite esencial se encuentra en menor proporción, así como también el efecto de variedad de especie, zonas geográficas, clima, tipo de suelo y otras condiciones que generan variabilidad en las concentraciones de metabolitos secundarios.¹⁵

La bacteria de *Escherichia coli* se considera una enterobacteria que vive en el tracto digestivo y responde efectivamente a algunos antimicrobianos como ciprofloxacino, cefuroxima, amoxicilina-ácido clavulámico, norfloxacino, entre otros. Algunas investigaciones preclínicas realizadas usan como medicamento patrón de comparación de respuesta antibacteriana al norfloxacino pues, es un bactericida que actúa inhibiendo la producción de ADN en la bacteria.^{58,59}

Figerola,¹⁵ comprobó que el halo de inhibición bacteriana del norfloxacino en las cepas sensibles de *E coli* es de 24.5 mm en promedio. Los resultados presentados en la Tabla N°2 y Figura N°1 presentan un diámetro de inhibición de 24.2 mm cuando fueron expuestos a los discos de norfloxacino en las placas Petri.

V. CONCLUSIONES

- ✓ El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 100% si posee actividad antibacteriana muy sensible sobre cepas de *Escherichia coli*
- ✓ El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) al 50% si posee actividad antibacteriana medianamente sensible sobre cepas de *Escherichia coli*
- ✓ El extracto etanólico de *Mentha spicata* (hierva buena) al 100% si posee actividad antibacteriana medianamente sensible sobre cepas de *Escherichia coli*
- ✓ El extracto etanólico de *Mentha spicata* (hierva buena) al 50% no posee actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli*

VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Los resultados encontrados en esta investigación al ser in vitro requieren tomarlo con criterio científico antes de poder usarse abiertamente como una forma de tratamiento que reemplace a los medicamentos antibacterianos conocidos.
- ✓ Se requiere mayor investigación que amplíe, corrobore o modifique lo aquí encontrado. Esto antes de poder identificar o aislar los principios activos y poder sintetizarlos.
- ✓ Se requiere estudios complementarios respecto de los niveles de toxicidad, mecanismos de acción y otros que puedan aportar al conocimiento del uso de las plantas medicinales como alternativa viable dentro de la medicina integrativa.

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. OMS. 2017 [cited 2019 May 24].
2. Organización Mundial de la Salud. Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Ginebra; 2016 [cited 2019 May 24].
3. García R. Medicina tradicional o complementaria: pacientes que lo usan al mismo tiempo que su tratamiento farmacológico. *Ciencia y desarrollo*. 2019; (22)1.
4. García-Ishimine R, Rodríguez-Vega JL, Mejía-Pinedo D. Efecto hepatoprotector, antioxidante y anticancerígeno de la espirulina. *Rev haban cienc méd*. 2020;; 19(6):
5. Mantilla C. Determinación del efecto antibacteriano del aceite esencial del fruto *Citrus paradisi* (“tangelo”) frente a *Escherichia coli* in vitro. Universidad Alas Peruanas; 2018.
6. Yaranga Zaga L. Efecto biotóxico del extracto hidroalcohólico de las hojas y semillas de *Datura stramonium* “chamico” sobre larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus*. [Internet]. 2015 [cited 2019 Jul 3].
7. García Apac C. Resistencia antibiótica en el Perú [Internet]. Colegio Médico del Perú; 2012 [cited 2019 May 6] p. 99–103.
8. Lopez F, Miranda F. Niveles de *Escherichia coli* enteropatógena (epec) en agua de mar de la playa agua dulce del distrito de Chorrillos. Facultad de Farmacia. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. 2018. Lima
9. Aguilar Gamboa FR, Aguilar Martinez SL, Cubas Alarcón DM, Coaguila Cusicanqui LÁ, Fernández Valverde DA, Mario Cecilio MM, et al. Portadores de bacterias multirresistentes de importancia clínica en áreas críticas (UCI-UCIN) de un hospital al norte del Perú. *Horiz Médico* [Internet]. 2016 [cited 2019 May 24];16(3):50–7.

10. Pérez Eslava M. Caracterización de staphylococcus aureus resistentes a meticilina en personas institucionalizadas en centros geriátricos. 2018 [cited 2019 May 24];1.
11. Flores-Villegas MY, González-Laredo RF, Prieto-Ruíz JÁ, Pompa-García M, Ordaz-Díaz LA, Domínguez-Calleros PA. Eficiencia del extracto vegetal de *Datura stramonium* L. como insecticida para el control de la mosca sierra. *Rev Madera y Bosques*. 2019;25(1):1–11.
12. Hernandez R. Efecto de la concentración del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre el crecimiento de *Microsporum canis* in vitro. Universidad Nacional de Trujillo; 2019.
13. Sanchez E. Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Pseudomonas aeruginosa* comparado con Cefepime. Estudio in vitro. Trujillo 2018. Universidad César Vallejo; 2018.
14. Zelada J. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE *Mentha spicata* (MENTA) FRENTE A *Escherichia coli*. Escuela profesional de ciencias de la salud. Universidad católica los Ángeles de Chimbote. 2019; Chimbote.
15. Figuerola M. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha spicata* sobre *Escherichia coli* cepa 25922 comparado con norfloxacin, in vitro. Facultad de ciencias médicas. Universidad César Vallejo. Trujillo; 2018.
16. Rfael J, Afonso S, Días L. *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *J Biomed Sci*. 2019; 26: 5.
17. Park Y, Baskar T, Yeo S, Arasu M, Al-Dhabi N, Lim S, Park S. Composition of volatile compounds and in vitro antimicrobial activity of nine *Mentha* spp. *Springerplus*. 2016; 5(1): 1628.
18. Jafari-Sales A, Hossein O. Antimicrobial effects of *Rosmarinus officinalis* methanolic extract on *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in laboratory conditions. *Journal of Medicine*. 2020; 3(2): 103-108
19. Tai J, Cheung S, Wu M, Hasman D. Efecto antiproliferación del romero (*Rosmarinus officinalis*) en células de cáncer de ovario humano in vitro. *Phytomedicine*. 2012; 19 (5): 436–443.

20. González-Vallinas M, Molina S, Vicente G, et al. La expresión de microARN-15b y la glicosiltransferasa GCNT3 se correlaciona con la eficacia antitumoral de los diterpenos de romero en el cáncer de colon y pancreático. PLoS ONE . 2014; 9 (6): e98556.
21. Corrêa Dias P., Foglio MA, Possenti A., De Carvalho JE Actividad antiulcerogénica del extracto hidroalcohólico crudo de *Rosmarinus officinalis* L. Journal of Ethnopharmacology . 2000; 69 (1): 57–62. doi: 10.1016 / s0378-8741 (99) 00133-6.
22. MR al-Sereiti, KM Abu-Amer, Sen P. Farmacología del romero (*Rosmarinus officinalis* Linn.) Y sus potenciales terapéuticos. Indian J Exp Biol. 1999; 37 : 124-130.
23. Karthik D, Viswanathan P, Anuradha CV. La administración de ácido rosmarínico reduce la cardiopatología y la presión arterial mediante la inhibición de la p22phox NADPH oxidasa en ratas hipertensas alimentadas con fructosa. J Cardiovasc Pharmacol. 2011; 58 : 514–521.
24. Koeller J, Aapro M, Gralla R, et al. Pautas antieméticas: crear un enfoque de tratamiento más práctico. Apoyo a la atención del cáncer. 2002; 10: 519–22. doi: 10.1007 / s00520-001-0335-a.
25. Leicester RJ, Hunt RH. Aceite de menta para reducir el espasmo del colon durante la endoscopia. Lanceta. mil novecientos ochenta y dos; 2: 989. doi: 10.1016 / S0140-6736 (82) 90191-X.
26. Cirlini M., Mena P., Tassotti M., Herrlinger KA, Nieman KM, Dall'Asta C., et al. (2016) Composición fenólica y volátil de un extracto seco de menta verde (*Mentha spicata* L.). Moléculas 21: E1007. 10.3390 / moléculas21081007
27. Wang H., Xie M., Charpin-El Hamri G., Ye H., Fussenegger M. (2018). Tratamiento del dolor crónico por células de diseño controladas por aromaterapia de menta verde. Nat. Biomed. Ing. 2 114–123. 10.1038 / s41551-018-0192-3
28. Bensabah F., Houbairi S., Essahli M., Lamiri A., Naja J. Composición química y efecto inhibitor del aceite esencial de *Mentha spicata* regado por aguas residuales en la corrosión del aluminio en ácido clorhídrico 1 molar. Puerto. Electrochim Acta 2013; 31 : 195-206.

29. Telci I., Demirtas I., Bayram E., Arabaci O., Kacar O. Variación ambiental en los componentes aromáticos de la menta verde rica en pulegone / piperitona (*Mentha spicata* L.) Ind. Crops Prod. 2010; 32 : 588–592. doi: 10.1016 / j.indcrop.2010.07.009
30. Znini M., Bouklah M., Majidi L., Kharchouf S., Aouniti A., Bouyanzer A., Hammouti B., Costa J., Al-Dyab SS Composición química y efecto inhibitor del aceite esencial de *Mentha spicata* sobre el corrosión del acero en ácido clorhídrico molar. En t. J. Electrochem. Sci. 2011; 6 : 691–704.
31. Adelpoor MJ, Golparvar AR. Composición química de aceites esenciales de tres ecotipos de *Mentha spicata* L de la provincia de Kohgiluyeh va Boyer-Ahmad, Irán. Iran.J. Drogas de hierbas. 2013; 4 : 63–8.
32. Wullenweber M., Beutin L., Zimmermann S., Jonas C. (1993). Influencia de algunos factores bacterianos y del hospedador sobre la colonización e invasividad de *Escherichia coli* K1 en ratas recién nacidas . Infectar. Immun. 61 , 2138-2144.
33. Vincent C., Boerlin P., Daignault D., Dozois CM, Dutil L., Galanakis C., et al. . (2010). Depósito de alimento para *Escherichia coli* que causa infecciones del tracto urinario . Emerg. Infectar. Dis. 16 , 88–95. 10.3201 / eid1601.091118
34. Scott L., Mcgee P., Walsh C., Fanning S., Sweeney T., Blanco J., et al. . (2009). Detección de numerosos serotipos de *E. coli* verotoxigénicos , con múltiples resistencias a antibióticos en heces y suelo de ganado . Veterinario. Microbiol. 134 , 288-293. 10.1016 / j.vetmic.2008.08.008
35. Perelle S., Dilasser F., Grout J., Fach P. (2005). Detección del serogrupo O103 de *Escherichia coli* mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real . J. Appl. Microbiol. 98 , 1162-1168. 10.1111 / j.1365-2672.2005.02545.x
36. Sidjabat HE, Derrington P, Nimmo GR, Paterson DL. 2010. *Escherichia coli* ST131 que produce CTX-M-15 en Australia . J. Antimicrob. Chemother. 65 : 1301–1303. 10.1093 / jac / dkq098
37. Peirano G, van Greune CHJ, Pitout JDD. 2011. Características de las infecciones causadas por *Escherichia coli* productora de β -lactamasa de

- espectro extendido en hospitales comunitarios de Sudáfrica . *Diagn. Microbiol. Infectar. Dis.* 69 : 449–453. 10.1016 / j.diagmicrobio.2010.11.011
38. Fam N, Leflon-Guibout V, Fouad S, Aboul-Fadl L, Marcon E, Desouky D, El-Defrawy I, Abou-Aitta A, Klena J, Nicolas-Chanoine MH. 2011. Aislamientos clínicos de *Escherichia coli* productora de CTX-M-15 en El Cairo (Egipto), incluidos los aislados del complejo clonal ST10 y los clones ST131, ST73 y ST405 tanto en entornos comunitarios como hospitalarios . *Microb. Resistencia a las drogas.* 17 : 67–73. 10.1089 / mdr.2010.0063
39. Tiruvury H, Johnson JR, Mariano N, Grenner L, Colon-Urban R, Erritouni M, Wehbeh W, Segal-Maurer S, Rahal JJ, Johnston B, Urban C. 2012. Identificación de CTX-M β -lactamasas entre *Escherichia coli* de la comunidad de la ciudad de Nueva York . *Diagn. Microbiol. Infectar. Dis.* 72 : 248–252. 10.1016 / j.diagmicrobio.2011.11.008
40. Gonzales A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2014 [cited 2019 Aug 17]. Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf>
41. Corbett JV, Banks AD. *Laboratory tests and diagnostic procedures: with nursing diagnoses.* Pearson; 2013. 726 p.
42. Rodenas D. EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE TALLOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*.L) EN CULTIVOS DE “*Escherichia coli*” ESTUDIO INVITRO. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y bioquímica. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018. Perú.
43. Arteaga E. Efecto del aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. sobre el crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. Universidad Nacional de Trujillo; 2018.
44. Lamaison JL, Petitjean-Freytet C, Carnat A. Medicinal Lamiaceae with antioxidant properties, a potential source of rosmarinic acid. *Pharm Acta Helv.* 1991;66:185–188.
45. Koşar M., Dorman H.J.D., Baser K.H.C., Hiltunen R. Screening of Free Radical Scavenging Compounds in Water Extracts of *Mentha* Samples Using a Postcolumn Derivatization Method. *J. Agric. Food Chem.* 2004;52:5004–5010

46. Bimakr M., Rahman R.A., Taip F.S., Ganjloo A., Salleh L.M., Selamat J., Hamid A., Zaidul I. Comparison of different extraction methods for the extraction of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*Mentha spicata* L.) leaves. *Food Bioprod. Process.* 2011;89:67–72
47. Shin H-B, Choi M-S, Ryu B, et al. Antiviral activity of carnosic acid against respiratory syncytial virus. *Virology*. 2013;10(1):303.
48. Swamy MK, Akhtar MS, Sinniah UR. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2016:1–21.
49. Zych M, Kaczmarczyk-Sedlak I, Wojnar W, Folwarczna J. Effect of Rosmarinic Acid on the Serum Parameters of Glucose and Lipid Metabolism and Oxidative Stress in Estrogen-Deficient Rats. *Nutrients.* 2019 Jan 25;11(2):267.
50. Duraffourd C, Lapraz J. *Cuaderno de Fitoterapia Clínica*. Editorial Masson; 4 th ed Francia; 1983.
51. Moreno S., Scheyer T., Romano C.S., Vojnov A.A. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radic. Res.* 2006;40:223–231.
52. Cetin-Karaca H. Master's Thesis. University of Kentucky; Lexington, KY, USA: 2011. [(accessed on 26 June 2018)]. Evaluation of Natural Antimicrobial Phenolic Compounds against Foodborne Pathogens.
53. Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh M., Mohamed M., El Elimat T. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem.* 2007;104:1372–1378.
54. Kizil S., Hasimi N., Tolan V., Kiliç E., Yüksel U. Mineral content, essential oil components and biological activity of two *Mentha* species (*M. piperita* L., *M. spicata* L.) *Turk. J. Field Crops.* 2010;15:148–153.
55. Bardaweel SK, Bakchiche B, ALSalamat HA, Rezzoug M, Gherib A, Flamini G. Composición química, actividades antioxidantes, antimicrobianas y antiproliferativas del aceite esencial de *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) del atlas argelino sahariano. *Complemento BMC Altern Med.* 2018 3 de julio; 18 (1): 201.

56. Brahmi F, Hadj-Ahmed S, Zarrouk A, Bezine M, Nury T, Madani K, Chibane M, Vejux A, Andreoletti P, Boulekbache-Makhlouf L, Lizard G. Evidence of biological activity of *Mentha* species extracts on apoptotic and autophagic targets on murine RAW264.7 and human U937 monocytic cells. *Pharm Biol.* 2017 Dec;55(1):286-293.
57. Ismaili R, Lamiri A, Moustaid k. Study of Antibacterial Activity of Essential Oils of Three Aromatic and Medicinal Plants. *International Journal of Engineering Research & Technology.* 2014; 3 (8). (Citado de 24 Abril del 2018) ISSN 2278- 018
58. Infantes M. EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE *Minthostachys mollis* (muña) FRENTE A *Escherichia coli* COMPARADO CON NORFLOXACINO. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. 2019. Trujillo
59. Ramos A. Evaluación de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales e hidrosoles de *Rosmarinus officinalis* y *Taraxacum officinale* frente a microorganismos patógenos. Universidad Javeriana. 2013. Colombia

ANEXOS

ANEXO Nº 01

MATRIZ DE CONSISTENCIA

Efecto antibacteriano in-vitro de los extractos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Mentha spicata* (hierba buena) sobre *Escherichia coli*

PROBLEMAS DE INVESTIGACIÓN	OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN	HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>Problema General ¿Cuál es el efecto antibacteriano in-vitro de los extractos de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) y <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) sobre <i>Escherichia coli</i>?</p> <p>Problemas Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - ¿Cuál es el efecto antibacteriano in-vitro del extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) al 100% sobre <i>Escherichia coli</i>? - ¿Cuál es el efecto antibacteriano in-vitro del extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) al 50% sobre <i>Escherichia coli</i>? - ¿Cuál es el efecto 	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano in-vitro de los extractos de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) y <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) sobre <i>Escherichia coli</i></p> <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> - Valorar el es el efecto antibacteriano in-vitro del extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) al 100% sobre <i>Escherichia coli</i> - Valorar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) al 	<p>Hipótesis General</p> <p>Los extractos de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) y <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) poseen efecto antibacteriano in vitro contra <i>Escherichia coli</i></p> <p>Hipótesis Especificas</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. El extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) al 100% posee efecto antibacteriano in vitro contra <i>Escherichia coli</i> 2. El extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) al 50% posee efecto antibacteriano in vitro contra <i>Escherichia coli</i> 	<p>Tipo de Investigación:</p> <p>Aplicada, experimental y prospectiva</p> <p>Nivel de Investigación:</p> <p>Es descriptivo, explicativo y correlacional.</p>	<p>Método de Investigación:</p> <p>Inductivo</p> <p>Diseño de Investigación:</p> <p>Experimental</p>	<p>Variable Independiente (x)</p> <p>X1 : Extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero)</p> <p>X2 : Extracto de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena)</p> <p>Indicadores: x1: Concentración 50%, 100%</p> <p>x2: Concentración 50%, 100%</p> <p>Variable Dependiente (y)</p> <p>Efecto antibacteriano</p>	<p>Población :</p> <p><i>Rosmarinus officinalis</i> (romero)</p> <p><i>Mentha spicata</i> (hierba buena)</p> <p>Muestra:</p> <p>Extracto de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero)</p> <p>Extracto de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena)</p>

<p>antibacteriano in-vitro del extracto de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) al 100% sobre <i>Escherichia coli</i>?</p> <p>- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in-vitro del extracto de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) al 50% sobre <i>Escherichia coli</i>?</p>	<p>50% sobre <i>Escherichia coli</i></p> <p>- Valorar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) al 100% sobre <i>Escherichia coli</i></p> <p>- Valorar el efecto antibacteriano in vitro del extracto de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) al 50% sobre <i>Escherichia coli</i></p>	<p>3. El extracto de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) al 100% posee efecto antibacteriano in vitro contra <i>Escherichia coli</i></p> <p>4. El extracto de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) al 50% posee efecto antibacteriano in vitro contra <i>Escherichia coli</i></p>			<p>Indicadores:</p> <p>y1: diámetro del halo de inhibición</p>	
---	---	--	--	--	--	--

ANEXO N°2

CUADRO DE REGISTRO DE DATOS DE TAMAÑOS DE HALO DE INHIBICIÓN PRODUCIDOS EN CEPAS DE *Escherichia coli* ATCC 25923

Placa	Extracto Etanólico		
	Control (mm)	50% (mm)	100% (mm)
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

TABLA N° 1. Estadísticos descriptivos para un intervalo de confianza del 95%

Descriptivos

Diámetros

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
RO100	10	15,20	,789	,249	14,64	15,76	14	16
RO50	9	13,00	,866	,289	12,33	13,67	12	14
ME100	9	11,89	,601	,200	11,43	12,35	11	13
ME50	9	7,67	,707	,236	7,12	8,21	7	9
CP	10	24,20	,632	,200	23,75	24,65	23	25
Total	47	14,62	5,651	,824	12,96	16,28	7	25

Fuente: Elaboración propia

GRÁFICO. N°1. Análisis varianza (ANOVA) de resultados de diámetros entre los grupos de trabajo.

ANOVA

Diámetros

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1447,017	4	361,754	687,843	,000
Dentro de grupos	22,089	42	,526		
Total	1469,106	46			

ANEXO N° 3 JUCIO DE EXPERTOS



UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO

"FRANKLIN ROOSEVELT"

ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACEUTICAS
Y BIOQUIMICA

Huancayo 19 de Noviembre del 2021

CARTA Nro.01-2021-YSG/MOMM/UPFR

Señores (as): Dr. QF José Edwin Rodríguez Lichtenheldt
Mg. Diaz Uribe, Julio Luis.
Mg. Miranda Paredes Jean Paul.

PRESENTE

ASUNTO : VALIDEZ DE INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

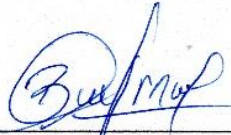
Por medio del presente me dirijo a Ud. Para saludarle cordialmente y solicitarle su participación en la validez de instrumentos de investigación a través de "juicio de expertos" del proyecto de investigación que estoy realizando, para obtener el título profesional; teniendo como tesis titulado, "**EFFECTO ANTIBACTERIANO *in-vitro* DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS DE *Rosmarinus officinalis* (ROMERO) Y *Mentha spicata* (HIERBA BUENA) SOBRE *Escherichia coli*"**

. Para lo cual adjunto:


- Formato de apreciación al instrumento: formato A y B.
- Matriz de consistencia.
- Operacionalización de variables.
- Instrumento de recolección de datos.

Esperando la atención del presente le reitero las muestras de mi especial consideración y estima personal

Atentamente,



**Bach. BUSTAMANTE
MANAYAY, MARIA ELENA
DEL PILAR**



**Bach. CABRERA
VASQUEZ, EVELYN
JOHANA**

FORMATO: A

VALIDEZ DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN POR JUICIO DE EXPERTO

TESIS: "EFECTO ANTIBACTERIANO *in-vitro* DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS DE *Rosmarinus officinalis* (ROMERO) Y *Mentha spicata* (HIERBA BUENA) SOBRE *Escherichia coli*"

Investigadores: Bach. Bustamante Manayay, María Elena Del Pilar
Bach. Cabrera Vásquez, Evelyn Johana

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ESPECIES	CEPAS	La concentración del extracto etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) y <i>Mentha spicata</i> (hierba buena)															
		10ul (50%)				10 ul (100%)				Norfloxacino				Alcohol 96°			
		R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4	R1	R2	R3	R4
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922																

Indicación: Señor calificador se le pide su colaboración para que luego de un riguroso análisis de los ítems de la ficha de recolección de datos que le mostramos, marque con un aspa el casillero que crea conveniente de acuerdo a su criterio y experiencia profesional, denotando si el instrumento cuenta con los requisitos mínimos de formación para su posterior aplicación.

NOTA: Para cada ítem se considera la escala de 1 a 5 dónde:

1= Muy Deficiente o	2= Deficiente	3= Regular	4= Bueno	5= Muy Bueno				
Dimensión: Concentración / 6				1	2	3	4	5
INDICADOR: Extracto etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) al 100%								
Diámetro (mm)							X	

INDICADOR: Extracto etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> (romero) al 50%					
Diámetro (mm)				X	
INDICADOR: Extracto etanólico de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) al 100%					
Diámetro (mm)				X	
INDICADOR: Extracto etanólico de de <i>Mentha spicata</i> (hierba buena) al 50%					
Diámetro (mm)				X	
INDICADOR: Control negativo (etanol)					
Diámetro (mm)				X	
INDICADOR: Control positivo (Norfloxacino)					
Diámetro (mm)				X	

RECOMENDACIONES

PROMEDIO DE VALORACIÓN

4

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Dr. QF José Edwin Rodríguez Lichtenheldt.

DNI N° 10734121

Dirección domiciliaria : Av. Bolivia 1109. Dpto 1512 - Breña

Título Profesional : Químico Farmacéutico

Grado Académico : Doctor en Farmacia y Bioquímica



Firma
DNI: 10734121

Lugar y fecha: 19 de Noviembre del 2021

PROMEDIO DE VALORACIÓN

80

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular **4) Buena** 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Dr. QF José Edwin Rodríguez Lichtenheldt.

DNI N° 10734121

Dirección
domiciliaria : Av. Bolivia 1109. Dpto 1512 - Breña

Título Profesional : Químico Farmacéutico

Grado Académico : Doctor en Farmacia y Bioquímica



Firma
DNI: 10734121

Lugar y fecha: 19 de Noviembre del 2021

PROMEDIO DE VALORACIÓN

4

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Mg. Diaz Uribe, Julio Luis.

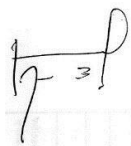
DNI N° : 07247790

Dirección domiciliaria : Av Canevaro 742-902 Lince

Título Profesional : Químico Farmacéutico

Grado Académico : Magister

Mención : Ciencia de los alimentos



Firma
DNI: 07247790

Lugar y fecha: 17 de Noviembre del 2021

PROMEDIO DE VALORACIÓN

80

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular **4) Buena** 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Mg. Diaz Uribe, Julio Luis.

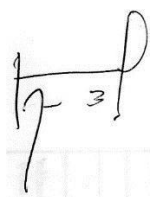
DNI N° : 07247790

Dirección domiciliaria : Av Canevaro 742-902 Lince

Título Profesional : Químico Farmacéutico

Grado Académico : Magister

Mención : Ciencia de los alimentos



Firma
DNI: 07247790

Lugar y fecha: 17 de Noviembre del 2021

PROMEDIO DE VALORACIÓN

4

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Mg. Miranda Paredes Jean Paul.

DNI N° : 10118769

Dirección domiciliaria : Jr. Emilio de los Ríos N° 5450 Los Olivos

Título Profesional : Maestro en docencia universitaria y gestión educativa

Grado Académico : Magister



Firma
DNI: 10118769

Lugar y fecha: 17 de Noviembre del 2021

PROMEDIO DE VALORACIÓN

80

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular **4) Buena** 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Mg. Miranda Paredes Jean Paul.

DNI N° 10118769

Dirección domiciliaria : Jr. Emilio de los Ríos N° 5450 Los Olivos

Título Profesional : Maestro en docencia universitaria y gestión educativa

Grado Académico : Magister



Firma
DNI: 10118769

Lugar y fecha: 17 de Noviembre del 2021


ANEXO N° 4 CERTIFICADO DE CALIDAD CEPA *Escherichia coli* ATCC 25922



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-506** Reference Number: ATCC® 25922™** Purity: Pure Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2022/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2020/4/8</p>
--	--

Performance	
<p>Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough</p> <p>Microscopic Features: Gram negative straight rod</p>	<p>Medium: SBAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p>

<p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>
--	---

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC coding marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 – 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 – 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 – 1.69	No organism identified or Phage	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Run Creation Date/Time: 2020-03-27T11:51:17.542 KLH

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-506	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

ANEXO N° 5 GALERIA DE FOTOGRAFIAS





