



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

TESIS

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Melissa officinalis*
(TORONJIL) Y *Origanum vulgare* (OREGANO) FRENTE A CEPAS DE *Escherichia
coli***

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

AUTORES:

Bach. María Ursula Yerren Pantaleón

Bach. Rosmery Salazar Chavesta

ASESOR:

Dra. Monica Evencia Poma Vivas

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos Naturales

HUANCAYO – PERÚ

2021

DEDICATORIA

Para mi hija Alisson Rihanna, quien es la persona más importante de mi vida y el motivo por el cual me inspira superarme día a día.

Rosmery Salazar Chavesta

Con todo cariño dedico este trabajo a mi esposo y a mi hija porque son mi fuerza de motivación para superarme cada día más y así poder luchar por un futuro mejor.

A mis amigas quienes con sus palabras de aliento no me dejaron decaer y siguiera adelante para cumplir mis ideales.

María Ursula Yerren Pantaleón

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser quien me acompaña siempre en cada momento de mi vida y sobre todo por su amor y fortaleza que pude recibir de Él para no rendirme y lograr mis objetivos planteados.

Rosmery Salazar Chavesta

Principalmente doy gracias a Dios por su bondad infinita y por que mis pasos día a día ayudándome a aprender de mis errores.

A nuestros profesores de la escuela de Farmacia y Bioquímica por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestro proyecto de investigación quien nos ha guiado con su paciencia y su rectitud como docente.

María Ursula Yerren Pantaleón

PÁGINA DEL JURADO

PRESIDENTE:

Mg. CANO PEREZ, CARLOS ALFREDO

MIEMBRO SECRETARIA:

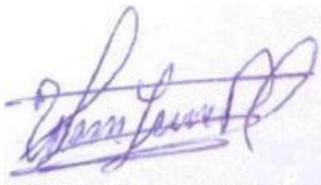
Mg. DIAZ URIBE, JULIO LUIS

MIEMBRO VOCAL:

Dra. POMA VIVAS, MÓNICA EVENCIA

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, **María Ursula Yerren Pantaleón**, de Nacionalidad Peruana, identificado con, DNI N° 42066904, Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado en Calle Francisco González Burga #337, Pueblo Nuevo, Ferreñafe, Chiclayo - Lambayeque. DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 14 días del mes de Noviembre del 2021.



María Ursula Yerren Pantaleón
DNI: 42066904

DECLARACION JURADA SIMPLE

Yo, **Rosmery Salazar Chavesta**, de Nacionalidad Peruana, identificado con, DNI N° 45127388, Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado Calle Siete de Enero 748 int 2, Chiclayo - Lambayeque. DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 14 días del mes de noviembre del 2021.



Rosmery Salazar Chavesta
DNI: 45127388



ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	xi
ABSTRACT.....	xii
I. INTRODUCCIÓN	13
II. MÉTODO.....	21
2.1. Tipo y diseño de investigación.....	21
2.2. Operacionalización de variables.....	22
2.3. Población, muestra y muestreo	22
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	24
2.5. Procedimiento.....	24
2.6. Método de Análisis de datos.....	26
2.7. Aspectos éticos	26
III. RESULTADOS	27
IV. DISCUSIÓN.....	34
V. CONCLUSIONES.....	37
VI. RECOMENDACIONES	38
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
ANEXOS.....	42

Índice de tablas

Tabla 1. Estadística descriptiva para los datos de los grupos experimentales y control	27
Tabla 2. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos	28
Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)	29
Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)	29
Tabla 5. Prueba Post Hoc para comparaciones múltiples	30
Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	32
Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	32

Índice de figuras

Figura 1. Comportamiento según medias de los grupos experimentales y control	28
Figura 2. Recolección de la muestra.....	58
Figura 3. Tratamiento de las muestras.....	58
Figura 4. Extracción de los aceites esenciales	59
Figura 5. Reactivación de la cepa bacteriana	60
Figura 6. Determinación del efecto antibacteriano.....	61

Índices de anexos

Anexo 1. Matriz de consistencia	43
Anexo 2. Operacionalización de las variables.....	45
Anexo 3. Ficha de recolección de datos	46
Anexo 4. Validación del instrumento – Juicio de expertos	47
Anexo 5. Identificación taxonómica de la planta en estudio	54
Anexo 6. Certificado de Análisis de la cepa	56
Anexo 7. Evidencias del trabajo	58

RESUMEN

Objetivo: Demostrar el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Melissa officinalis* “toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Escherichia coli*

Metodología: La investigación es de tipo analítico, transversal, prospectiva con diseño experimental y grupos control, la población de estudio fue *Melissa officinalis* “Toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” del cual se obtuvo el aceite esencial por medio de la técnica de arrastre con vapor, el efecto antibacteriano fue demostrado mediante la técnica de difusión en pozo y analizada mediante pruebas estadísticas con un nivel de confianza del 95%.

Resultados: El aceite de Toronjil al 50% sobre *Escherichia coli* produjo halo de inhibición promedio de $10,36 \pm 0,30$ mm y para el 100% fue de $12,05 \pm 0,31$; así mismo, el aceite de orégano al 50% y 100% obtuvieron halos de inhibición de $11,68 \pm 0,29$ mm y $15,28 \pm 0,36$ mm respectivamente; el control negativo (DMS) obtuvo halo de inhibición de $6,17 \pm 0,20$ mm y el control positivo (ciprofloxacino) obtuvo halo de inhibición de $30,35 \pm 0,32$ mm

Conclusión: Se demostró mediante la técnica de difusión en pozo que los aceites de toronjil y orégano presentan efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*.

Palabras clave: *Escherichia coli*, *Melissa officinalis*, *Origanum vulgare*, toronjil, orégano.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the antibacterial effect of the essential oils of *Melissa officinalis* "lemon balm" and *Origanum vulgare* "oregano" against *Escherichia coli*.

Methodology: The research is analytical, cross-sectional, prospective with experimental design and control groups, the study population was *Melissa officinalis* "Melissa" and *Origanum vulgare* "oregano" from which the essential oil was obtained by means of the drag technique with steam, the antibacterial effect was demonstrated by means of the well diffusion technique and analyzed by statistical tests with a confidence level of 95%.

Results: The 50% lemon balm oil on *Escherichia coli* produced an average inhibition halo of 10.36 ± 0.30 mm and for 100% it was 12.05 ± 0.31 ; Likewise, oregano oil at 50% and 100% obtained inhibition halos of 11.68 ± 0.29 mm and 15.28 ± 0.36 mm respectively; the negative control (DMS) obtained an inhibition halo of 6.17 ± 0.20 mm and the positive control (ciprofloxacin) obtained an inhibition halo of 30.35 ± 0.32 mm

Conclusion: It was demonstrated by means of the well diffusion technique that lemon balm and oregano oils have an antibacterial effect on *Escherichia coli*.

Key words: *Escherichia coli*, *Melissa officinalis*, *Origanum vulgare*, lemon balm, oregano.

I. INTRODUCCIÓN

Las bacterias son microorganismos unicelulares de diferentes tipos, habitan en todos los lugares del mundo, incluso se ha descubierto algunas que pueden vivir en desechos radioactivos. Las bacterias que habitan en los humanos sin causarles daño se les conoce como flora saprófita, pero algunos tipos bacteria son perjudiciales para las personas cuando estas superan en número o se vuelven patógenas como *Escherichia coli*¹

Uno los principales problemas en salud pública son las infecciones por *Escherichia coli* que presentan resistencia por producir una rápida resistencia al tratamiento farmacológico además de ser considerado parte del microbiota normal del ser humano. En los últimos años la industria farmacéutica se ha dedicado a la investigación de antibióticos más potentes para combatir la resistencia bacteriana, pero esto ha logrado a la vez que estos microorganismos produzcan mecanismos de defensa y se hagan más resistentes, aumentando las tasas de mortalidad, permanencia hospitalaria y los costos de tratamiento de los pacientes en todo el mundo^{2,3}.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), indica que la resistencia bacteriana va en aumento en todo el mundo a niveles peligrosos, trayendo como consecuencia una incapacidad para el tratamiento de infecciones comunes, como: tuberculosis, gonorrea, enfermedades de transmisión alimentaria. Haciendo mucho más difícil o imposible la eficacia de los tratamientos ya que los antibióticos van perdiendo su eficacia⁴.

El comunicado de la OMS estima que a nivel mundial 1 de cada 10 personas contraen una infección al ingerir alimentos contaminados y 420,000 mueren a consecuencia de la misma⁵. En Estados Unidos las bacterias resistentes a los antibióticos causan 2 millones de infecciones y 23000 defunciones, con un gasto en salud para el estado de 35 millones⁶.

En América 77 millones de personas se infectan anualmente al ingerir alimentos contaminados y mueren cerca de 9,000 personas por año, siendo *Escherichia coli* una de las bacterias responsables⁵.

En el Perú un estudio de cohorte prospectivo demostró evidencia de resistencia bacteriana en niños que viven en zonas rurales o periurbanas de Moyobamba y Urubamba. Siendo en estos casos *Escherichia coli* una bacteria multidrogoresistente a ácido nalidixico-ampicilina-cotrimoxazol⁷.

En Lambayeque las cifras de infecciones bacterianas son altas, siendo las principales responsables bacterias Gram negativas de la familia Enterobacteriaceae, en primer lugar, *Escherichia coli*, seguida por *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*. Siendo los fármacos más usados para su tratamiento: Ampicilina, Cefalosporinas de primera generación y Trimetoprim – Sulfametoxazol, pero existen varios estudios que indican la resistencia de los patógenos a estos fármacos⁸.

Es evidente que la farmacoresistencia se ha convertido en un problema de salud pública, enfrentando el fracaso de los tratamientos farmacológicos. Ante esta problemática el presente estudio busca brindar alternativas para el tratamiento, haciendo uso del aceite esencial de *Melissa officinalis* “toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” los cuales han demostrado en estudios cierta actividad antibacteriana, aportando de esta manera un conocimiento científico que podrá ser usado además para posteriores investigaciones, en el tratamiento farmacológico complementario para combatir las infecciones por *Escherichia coli*.

En ese sentido, se presentan los antecedentes a nivel nacionales que se relacionan con nuestro estudio; Curo M. y Gonzales M. (2021), en su estudio titulado “Comparación de la actividad anti *Escherichia coli* ATCC 25922 de los aceites esenciales de *Melissa officinalis* L. (toronjil) y *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) para el desarrollo de una formulación de emulsión bebible”, realizado en la ciudad de Lima – Perú, cuyo objetivo fue demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Melissa officinalis* L. y *Syzygium aromaticum* L., ambos aceites se obtuvieron por hidrodestilación y se prepararon concentraciones de 50, 75 y 100%, la actividad anti *E. coli* se determinó por el método de Kirby-Bauer; el control positivo fue ciprofloxacino. Los resultados indicaron mayores halos de inhibición en los aceites al 100%. El estudio concluyó que ambos aceites de las especies mencionadas presentan actividad anti *E. coli*., sin embargo, el que destacó más por su efecto fue *S. aromaticum*.⁹

Así mismo, Navarro Y. y Salazar B. (2017), con su investigación de nombre “Extracción y fraccionamiento del aceite esencial de toronjil (*Melissa officinalis*) para la obtención de los destilados de composición diferenciada”, realizado en la ciudad del Callao – Perú. El objetivo de la presente investigación fue la obtención del aceite esencial de toronjil mediante extracción por arrastre de vapor acoplado con una columna de rectificación para obtener destilados de composición diferenciada, tomando como material de extracción hojas de toronjil (*Melissa Officinalis*) previamente acondicionada para esta operación y considerando como parámetros de extracción la humedad de la muestra, tiempo de extracción y altura de la columna de relleno. Posteriormente se realizaron los análisis fisicoquímicos a los destilados obtenidos, para identificar a que parámetros de operación se obtiene mayor cantidad de aceite con el componente activo. Los resultados obtenidos en los experimentos, son tratados estadísticamente, y mediante una gráfica de superficie de respuesta se concluye que, con la muestra fresca, con una altura relleno de 100 mm y un tiempo de extracción de 3 horas, se obtiene mayor cantidad de aceite esencial enriquecido en su componente activo es decir el eugenol y el cariofileno.¹¹

Contreras S. (2017), presentó un estudio titulado “Efecto sinérgico in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) con ciprofloxacino frente a *E. coli* ampicilino-resistente”. Se planteó el siguiente objetivo, determinar el efecto sinérgico in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* “oregano” con ciprofloxacino contra *Escherichia coli* ampicilino-resistente, evaluar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite y determinar la susceptibilidad en concentraciones de 50% y 75% del aceite en sinergia con ciprofloxacino. Para su metodología se extrajo el aceite esencial de orégano de las hojas secas por arrastre de vapor y se prepararon varias concentraciones de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 50% y 75%. Para la prueba de susceptibilidad se usó la técnica de Kirby- Bauer y los discos embebidos con aceite esencial a diferentes concentraciones fueron inoculados a los cultivos de *E. coli*, las placas se llegaron a incubar a 27°C. Los resultados mostraron diferencias relevantes entre los diámetros de inhibición del aceite esencial de orégano frente a *E. coli* ampicilino resistente. Se concluyó que el efecto sinérgico del aceite esencial de orégano *Origanum vulgare* y ciprofloxacino si está presente y su CMI del aceite esencial es al 5% formando un halo de inhibición de 11.7 mm⁹.

A nivel internacional, contamos con la investigación de Behbahani B. y Shahidi F. (2019), en su estudio “Aceite esencial de *Melissa officinalis*: composiciones químicas, potencial antioxidante, contenido fenólico total y actividad antimicrobiana”, realizado en la ciudad de Mashhad – Iran. Evaluaron la actividad antimicrobiana del aceite *M. officinalis* sobre el crecimiento de cepas clínicas y ATCC. En su metodología la composición química se analizó por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS); el poder antioxidante a través del método DPPH; el contenido de fenoles por el método de Folin-Ciocalteu y la actividad antimicrobiana por el método de difusión. Los resultados indicaron la presencia de geranilo, citral, Z-citral, citronelal y citronelol; el contenido fenólico total y el potencial antioxidante fueron $51 \pm 0,50$ mg GAE / y $98 \pm 0,45$ μ g / ml, respectivamente. Se concluyó que el aceite de *M. officinalis* presenta mayor efecto inhibitorio sobre cepas bacterianas ATCC, además, tiene mayor efecto sobre bacterias grampositivas.¹²

Por otro lado, Basurto M., Quintero A. (2019), en su estudio titulado “Extracción de aceite esencial de *Origanum vulgare* y determinación del efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*”. Como objetivo extraer aceite esencial de *Origanum vulgare* y determinar su efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* in vitro. Para su metodología se utilizaron tres técnicas de extracción para obtener el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), que fueron: destilación por arrastre de vapor, hidrodestilación y maceración alcohólica, para inhibir el crecimiento bacteriano se determinó por el método difusión en disco, donde se recubrieron los discos con el aceite esencial de *Origanum vulgare*; como control positivo se usó la gentamicina y estreptomina, se llevó a incubación 37°C. Los resultados en cuanto al mayor rendimiento de aceite esencial, fue con la técnica de maceración alcohólica, con un porcentaje de 0.52% frente a 0.0783% de hidrodestilación y 0.0087% por arrastre de vapor, a la vez también presento el mayor halo de inhibición con un promedio de 2.37 cm. Se concluyó que el mejor método de extracción de aceite esencial para *Origanum vulgare* fue por maceración alcohólica, tanto en cantidad como en concentración. Así también se comprobó el efecto antibacteriano que tienen las hojas de *Origanum vulgare* frente a cepas de *Escherichia coli*.¹⁰

Araujo C. (2019). “Efecto antimicrobiano de aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) Y TOMILLO (*Thymus vulgare*) individuales y en combinación contra *Salmonella typhimurium*”. El objetivo marcado fue determinar la actividad antimicrobiana de los aceites

esenciales de *Origanum vulgare* “orégano” y *Thymus vulgare* “tomillo” y el sinergismo que existe entre ellos sobre *Salmonella typhimurium*. Para su metodología los aceites esenciales de cada especie fueron preparados con dimetildisulfoxido (DMSO) y se obtuvieron concentraciones de 0.03%, 0.06% y 0.12% para cada aceite, después mediante el método de macro dilución en caldo se trabajó con la mezcla de los dos aceites esenciales al 0.6% de concentración. Los resultados que se obtuvieron individualmente fueron a una concentración con 0.06% y 0.12% para los aceites esenciales, mostrando un porcentaje de inhibición mayor al 90% y en cuanto a la combinación de ambos presento su efecto a las 24 horas. Se concluyo que los aceites esenciales de *Origanum vulgare* “orégano” y *Thymus vulgare* “tomillo” presentan efecto antibacteriano sobre *Salmonella typhimurium* y al combinar los dos aceites esenciales también mostro su efecto antibacteriano sobre la misma cepa.¹¹

Por otro lado, las bases teóricas que se consideraron en el estudio se muestran a continuación, con respecto a *Melissa officinalis L.* es una planta perenne, tipo arbusto que crece en forma de ramillete pudiendo alcanzar los 40 y 70 cm de altura. Los bordes de sus hojas son dentadas y emana un penetrante olor a limón. Pertenece a la familia Lamiaceae, que destacan por la importante producción de aceites esenciales con actividad antibacteriana y actividad antioxidante de los alimentos.¹²

El género *Melissa. spp* es muy utilizado en un sin número de preparaciones aromáticas gracias a sus efectos carminativos, calmantes, sedante, estimulante del tracto gastrointestinal, antiespasmódico. Sus hojas presentan actividad antibacteriana y antiviral.

La caracterización química del aceite esencial de *Melissa officinalis* revela que contiene compuestos monoterpenos (β -mirceno, β -pineno, citronelal, citronelol, neral o citral B, trans-geraniol, geraniol o citral A, acetato de geranilo), sesquiterpenos (β -cariofileno) y otros compuestos como 3-undecino. Los compuestos predominantes fueron citronelal, isogeraniol, acetato de geraniol, acetato de nerol, cariofileno y óxido de cariofileno.

Las hojas de *Melissa officinalis* contienen flavonoides (quercitina, ramnocitina, luteolina), compuestos polifenólicos (ácido rosmarínico, ácido cafeico y ácido protocatecuico), aldehído monoterpenoide, glucósidos monoterpénicos, triterpenos (ácidos ursólico y oleanólico), sesquiterpenos y taninos esenciales.

Por otro lado, *Origanum vulgare L.*, es una especie vegetal aromática conocido comúnmente como orégano, utilizado en la preparación de alimentos, en la industria cosmética y farmacéutica. Pertenece a la familia: Lamiaceae. Botánicamente es una especie herbácea perenne, fuerte, con una longitud aproximadamente 60cm, sus hojas emanan su aroma característico, son pequeñas y miden de 20 a 35mm de largo, de forma aovadas, opuestas, enteras, con una punta angosta, presenta glándulas ciliadas las cuales contienen aceites esenciales. Su tallo es erguido, de color rojo, con una longitud de hasta 1 metro de altura y con muchas ramificaciones.¹³

Dentro de sus propiedades terapéuticas el orégano se utiliza como: antioxidante, antibacteriano, antimicótico, antiséptico, tónico, digestivo, anticancerígeno, antiinflamatorio, emenagogo, antiespasmódico, expectorante, diurético, emoliente, vulnerario.^{10,13,14}

La composición química de la planta de orégano destaca por presentar aceite esencial (0,1 a 1%), cuya composición es timol, beta-bisaboleno, cariofileno, p-cimeno, borneol, linalol, acetato de linafilo, alfa y beta-pinenos, alfa-terpineno, ácidos fenolcarboxílicos: caféico, clorogénico y rosmarínico, flavonoides: derivan del apigenol, luteolol, kenferol, diosmetol, taninos, triterpenos (derivados del ácido ursólico y oleanólico). Siendo los metabolitos principales encontrados en el aceite esencial: carvacrol, timol, cimeno y el terpineno.^{13,15,16}

Los componentes carvacrol y timol son responsable de los efectos antimicrobianos de la planta, además, el carvacrol, es el fenol más activo con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 100 ppm.^{16,17}

Con respecto al efecto antibacteriano, está definido como aquella sustancia capaz de inhibir el crecimiento de una determinada bacteria. Dentro de estas sustancias podemos mencionar a las plantas medicinales por las propiedades de sus metabolitos secundarios, para poder aprovechar los efectos de estas plantas se recurre a la extracción de sus componentes por diversos métodos como: extracción por maceración, extracción por arrastre de vapor, por hidrodestilación, por presión, entre otros. La extracción por arrastre de vapor es utilizada para obtener aceites esenciales de las plantas.

Escherichia coli es una bacteria patógena aislada por primera vez por un médico pediatra alemán Escherich en 1985, quien descubrió que esta bacteria habita de manera habitual en el intestino de los humanos. *E. coli* pertenece a la familia *Enterobacteriaceas*, es un bacilo Gram negativo, no esporula, su temperatura optima de desarrollo es entre 35 a 43°C.¹⁸

E. coli tiene la capacidad de producir una toxina Shiga que causa enfermedades intestinales muy graves en las personas cuando la ingieren y en algunas personas puede desencadenar el síndrome urémico hemolítico (SUH), que es una enfermedad que destruye los glóbulos rojos y causa insuficiencia renal y es muy común en niños menores de 5 años.¹⁹

Otro punto importante son las pruebas de rutina para la identificación microbiológica para *Escherichia coli* que son realizadas mediante el antibiograma o prueba de sensibilidad, el antibiograma es uno de los métodos in vitro más importantes en microbiología, para la identificación de sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos. La sensibilidad se puede medir por diferentes técnicas, siendo la Técnica de Difusión o llamada también Kirby-Bauer uno de los métodos recomendados por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).²⁰

El método Kirby-Bauer modificado en pozo se utiliza para evaluar la sensibilidad de un microorganismo in vitro frente a una concentración determinada de una sustancia antimicrobiana que será inoculada en el agar mediante la formación de un pozo de aproximadamente 6mm de diámetro y de acuerdo al tamaño del halo de inhibición que se forme alrededor del pozo se interpretará según la escala de Durafort, si el microorganismo frente a un antibiótico es²¹:

- Sensible (S): indicando que la dosis del antimicrobiano puede frenar la infección producida por la cepa en estudio.
- Intermedio (I): se refiere a que las cepas presentan inhibición elevando las concentraciones del antibiótico.
- Resistente (R): las cepas no pueden ser inhibidas por el antimicrobiano.

Luego de lo presentado, nos formulamos el siguiente problema ¿Presentará efecto antibacteriano los aceites esenciales de *Melissa officinalis* “toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” frente a

Escherichia coli? del mismo modo, los problemas específicos son ¿Presentará efecto antibacteriano el aceite esencial de *Melissa officinalis* “toronjil” al 100% y 50% frente a *Escherichia coli*?, ¿Presentará efecto antibacteriano el aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” al 100% y 50% frente a *Escherichia coli*? y ¿Cuál de los aceites esenciales de *Melissa officinalis* “toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” presentará mayor efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli*?

Los resultados del estudio, permitirán ser fuente de información actualizada que servirá de soporte para futuras investigaciones, además de reducir los índices de resistencia bacteriana al emplearse como tratamiento asociado a los antibióticos, y reducir los costos de estos tratamientos al contar con productos naturales, además de abrirse campo en la preparación de fórmulas magistrales para el tratamiento de enfermedades que ayuden a mejorar la condición de vida el paciente.

Por otro lado, el objetivo general formulado es, demostrar el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Melissa officinalis* “toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Escherichia coli*, y los *objetivos* específicos planteados son determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Melissa officinalis* “toronjil” al 50% y 100% frente a *Escherichia coli*. Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” al 50% y 100% frente a *Escherichia coli*. Determinar cuál de los aceites esenciales de *Melissa officinalis* “toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” presentará mayor efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli*.

Del mismo modo, se plantea la hipótesis del estudio, los aceites esenciales de *Melissa officinalis* “toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” presentan efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli*.

II. MÉTODO

2.1. Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo de investigación^{22,23}

El estudio es de tipo analítico, porque compara la asociación de las variables del grupo de estudio y control. Es transversal, debido a que las mediciones se realizan en un solo periodo de tiempo y prospectivo, porque los resultados serán obtenidos posterior al planteamiento del estudio.

2.1.2. Diseño de investigación

El diseño corresponde al experimental, ya que el investigador influye de manera deliberada en las variables de estudio, se puede representar de la siguiente manera:

G1	X1	O1
G2	X2	O2
G3	...	O3

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

X1, X2: Tratamiento con aceites esenciales

O1, O2 y O3: Efecto observado.

... Control negativo, sin tratamiento.

2.2. Operacionalización de variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Aceite de <i>Melissa officinalis</i> “Toronjil”	Sustancia oleosa extraída de la planta, la cual contiene metabolitos secundarios	Concentración	100%	Porcentaje
			50%	
Aceite de <i>Origanum vulgare</i> “orégano”		Concentración	100%	Porcentaje
			50%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia coli</i>	Efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano	Diámetro del halo de inhibición	< 8 8 – 14 15 – 20 > 20	mm

2.3. Población, muestra y muestreo

2.3.1. Población: Es el conjunto de objetos que participan en el fenómeno que fue delimitado en el análisis del problema planteado.²⁴ Está conformada por *Melissa officinalis* “Toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” obtenido del distrito de Incahuasi, provincia de Ferreñafe, departamento de Lambayeque.

2.3.2. Muestra: Corresponde a la fracción o parte representativa de la población de estudio que será sometida a estudio y experimentación.

Muestra vegetal

- Aceite esencial de *Melissa officinalis* “Toronjil”.
- Aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano”.

Criterios de inclusión

- Muestras identificadas mediante clasificación taxonómica
- Muestras vegetales frescas y en buen estado
- Muestra no contaminada, sin uso de pesticidas

Criterios de exclusión

- Muestras contaminadas o con plaguicidas
- Muestras que no correspondan a la especie de estudio

2.3.3. Muestreo: Técnica que se emplea para obtener una muestra representativa bajo criterios probabilísticos.

El tipo de muestreo corresponde al no probabilístico por conveniencia. Esto, fundamentado en la conveniente accesibilidad y proximidad de las muestras de análisis para el investigador.²⁵

2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

2.4.1. Técnicas

Arrastre de vapor²⁶

Técnica empleada para la obtención de aceites esenciales mediante la acción del vapor del agua sobre la muestra vegetal, este actúa liberando los aceites contenidos en la planta para ser arrastrados con el vapor de agua a un refrigerante, donde se condensan y son recolectados en una pera de decantación para su separación posterior.

Difusión en pozo²⁷

Técnica empleada para determinar generalmente el efecto antibacteriano mediante pocitos en agar, los que son cubiertos con la sustancia bactericida, el tamaño del halo de la inhibición que producen alrededor de estos pozos permite evaluar el efecto antibacteriano.

2.4.2. Instrumentos de recolección de datos

Ficha de recolección de datos: Elaborado por los investigadores, donde se recopilará los datos de medidas de los halos de inhibición del control y del aceite esencial.

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

2.5. Procedimiento

Recolección y preparación de la muestra vegetal

Una vez recolectadas las muestras vegetales se seleccionaron de acuerdo a su tamaño y cuidando que estas sean frescas y no presenten descomposición. Se escogieron las muestras más representativas de cada grupo y lavaron con abundante agua de potable, para luego ser lavadas nuevamente con agua destilada.

Luego se procedió a secarlas a temperatura ambiente por 24 horas, se pesó y llevó a estufa a 45°C por 5 horas. Luego se trituró en un molino de mano y pasó por un tamíz para uniformizar los tamaños de las partículas

Obtención del aceite esencial: ^{27,28}

Se instaló el equipo de destilación con arrastre por vapor asegurando las líneas de agua del refrigerante y se colocó 500 gr. de las hojas secas y trituradas. Se encendió el equipo y observó el momento en que la temperatura llegue a 100°C, desde ese momento se contó 3 horas. Se recolectó el destilado a la salida del refrigerante en una pera de bromo. Una vez observada la formación de 2 capas, se decantó el aceite.

Reactivación de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922²⁸:

La reactivación de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 se realizó según los procedimientos establecidos en la guía técnica del proveedor, para lo cual, se dejó reposar la ampolla que contiene a la cepa liofilizada en el laboratorio a temperatura ambiente por 2 horas, luego se rompió la ampolla que contiene el disolvente y mezcló con las cepas liofilizadas.

Sembrado en placa de cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922⁸:

Se extrajo con un hisopo estéril las cepas disueltas en la ampolla y colocó en un tubo de ensayo al que se le agregó 9 ml de solución salina fisiológica (SSF). Se comparó con el patrón estándar de Mc Farland (0.5) para que se realicen diluciones con SSF hasta llegar a tal concentración. Asimismo, se realizó la siembra *E. coli* sobre el agar soya triptasa (TSA) en forma de estrías y se llevó a incubación por 24 horas a 37°C para posteriormente realizar el efecto antibacteriano en placa.

Evaluación del efecto antibacteriano²⁹

Se preparó 8 pocitos de un diámetro de 6 mm en el agar TSA en placas Petri grandes. Se colocó 50 ul de los aceites a diferentes concentraciones en cada pocito y de control negativo, se empleó como control negativo dimetilsulfoxido (DMS). Las muestras se incubaron por

24 horas a 37°C luego de esto se procedió a tomar las medidas directas de los halos de inhibición formados.

2.6. Método de Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron analizados para determinar sus parámetros mediante estadísticos de tendencia central y dispersión, así como se aplicó pruebas estadísticas inferenciales para determinar la normalidad, homocedasticidad y la relación entre los grupos de datos con la prueba de ANOVA y Tukey tendrán un nivel de significancia de 0.05.

2.7. Aspectos éticos

Para realizar el proyecto se tuvieron en cuenta normas éticas y principios deontológicos, con el fin de no causar daños a personas o al medio ambiente. Razón por la cual durante la manipulación de la bacteria *Escherichia coli* se mantuvieron altos niveles de bioseguridad.

III. RESULTADOS

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

Diametro del halo de inhibición (mm)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
Aceite de Toronjil - 50%	15	10,36	0,30	0,08	10,20	10,52	9,80	10,80
Aceite de Toronjil - 100%	15	12,05	0,31	0,08	11,88	12,23	11,50	12,60
Aceite de Orégano - 50%	15	11,68	0,29	0,08	11,52	11,84	11,30	12,20
Aceite de Orégano - 100%	15	15,28	0,36	0,09	15,08	15,48	14,70	15,90
Control negativo (DMS)	15	6,17	0,20	0,05	6,06	6,28	5,90	6,50
Control positivo (ciprofloxacino)	15	30,35	0,32	0,08	30,18	30,53	29,60	30,80

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 1 se observa la media de los datos de los halos de inhibición obtenidos, así mismo, se describe sus parámetros de precisión y variables como la desviación estándar y los límites de confianza entre otros, el aceite de Toronjil al 50% sobre *Escherichia coli*, produjo halo de inhibición promedio de $10,36 \pm 0,30$ mm y para el 100% fue de $12,05 \pm 0,31$; así mismo, el aceite de orégano al 50% y 100% obtuvieron halos de inhibición de $11,68 \pm 0,29$ mm y $15,28 \pm 0,36$ mm respectivamente; el control negativo (DMS) obtuvo halo de inhibición de $6,17 \pm 0,20$ mm y el control positivo (ciprofloxacino) obtuvo halo de inhibición de $30,35 \pm 0,32$ mm.

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



Fuente: SPSS ver. 26

La figura 1 se muestra el promedio de los halos de inhibición con respecto a los grupos experimentales y control, se observa que el aceite de orégano obtuvo los halos de inhibición de mayor tamaño con respecto al aceite toronjil; del mismo modo, ambos aceites presentaron un menor efecto antibacteriano que el control positivo (ciprofloxacino); sin embargo, se observa un aparente efecto antibacteriano al comparar los halos formados con el control negativo.

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

Grupos de trabajo	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Aceite de Toronjil - 50%	0,154	15	0,200*	0,949	15	0,511
Aceite de Toronjil - 100%	0,174	15	0,200*	0,958	15	0,652
Aceite de Orégano - 50%	0,207	15	0,082	0,924	15	0,221
Aceite de Orégano - 100%	0,098	15	0,200*	0,971	15	0,878
Control negativo (DMS)	0,220	15	0,059	0,895	15	0,080
Control positivo (ciprofloxacino)	0,183	15	0,190	0,933	15	0,304

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

a. Lilliefors Significance Correction

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 2 se muestra el análisis realizado por la prueba de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk para verificar la distribución normal de los datos, comparando el nivel de significancia obtenido en las pruebas con el nivel de significancia establecido en el estudio ($\alpha=0,05$) se confirma que los datos de todos los grupos de experimental y control tienen distribución normal.

Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

		Levene			
		Statistic	df1	df2	p-valor
Diámetro del halo de inhibición	Based on Mean	1,028	5	84	0,406
	Based on Median	0,946	5	84	0,456
	Based on Median and with adjusted df	0,946	5	78,941	0,456
	Based on trimmed mean	0,993	5	84	0,427

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 3, se observa el análisis realizado a los datos de cada grupo experimental y control mediante la prueba de Levene para la determinación de la homogeneidad de varianzas con respecto a la media de los grupos analizados; del mismo modo, al comparar los valores del p-valor con el nivel de significancia $\alpha = 0,05$; se confirma que los datos presentan varianzas homogéneas.

Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición						
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.	
Entre grupos	5282,197	5	1056,439	11694,901	0,000	
Dentro de los grupos	7,588	84	0,090			
Total	5289,785	89				

Fuente: SPSS ver. 26

Posterior al análisis de la distribución normal y homogeneidad de las varianzas de los datos de cada grupo analizados, se aplicó la prueba de ANOVA o análisis de las varianzas, la que se muestra en la tabla 4, esta prueba nos permite determinar si los grupos de datos analizados presentan diferencias estadísticamente significativas al comparar sus medias, en tal sentido,

luego del análisis realizado se obtuvo un valor $p=0,00$; por lo tanto, se confirma que los grupos de datos presentan al menos un grupo con diferencia estadísticamente significativa en su media comparada con los demás grupos.

Tabla 5. Prueba Post Hoc para comparaciones múltiples

		Multiple Comparisons				
		Dependent Variable: Diametro del halo de inhibición (mm)				
		Tukey HSD				
(I) Grupos de trabajo		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Aceite de Toronjil - 50%	Aceite de Toronjil - 100%	-1,69333 [*]	0,10975	0,000	-2,0134	-1,3733
	Aceite de Orégano - 50%	-1,32000 [*]	0,10975	0,000	-1,6401	-0,9999
	Aceite de Orégano - 100%	-4,92000 [*]	0,10975	0,000	-5,2401	-4,5999
	Control negativo (DMS)	4,18667 [*]	0,10975	0,000	3,8666	4,5067
	Control positivo (ciprofloxacino)	-19,99333 [*]	0,10975	0,000	-20,3134	-19,6733
Aceite de Toronjil - 100%	Aceite de Toronjil - 50%	1,69333 [*]	0,10975	0,000	1,3733	2,0134
	Aceite de Orégano - 50%	,37333 [*]	0,10975	0,013	0,0533	0,6934
	Aceite de Orégano - 100%	-3,22667 [*]	0,10975	0,000	-3,5467	-2,9066
	Control negativo (DMS)	5,88000 [*]	0,10975	0,000	5,5599	6,2001
	Control positivo (ciprofloxacino)	-18,30000 [*]	0,10975	0,000	-18,6201	-17,9799
Aceite de Orégano - 50%	Aceite de Toronjil - 50%	1,32000 [*]	0,10975	0,000	0,9999	1,6401
	Aceite de Toronjil - 100%	-,37333 [*]	0,10975	0,013	-0,6934	-0,0533
	Aceite de Orégano - 100%	-3,60000 [*]	0,10975	0,000	-3,9201	-3,2799
	Control negativo (DMS)	5,50667 [*]	0,10975	0,000	5,1866	5,8267
	Control positivo (ciprofloxacino)	-18,67333 [*]	0,10975	0,000	-18,9934	-18,3533
	Aceite de Toronjil - 50%	4,92000 [*]	0,10975	0,000	4,5999	5,2401

Aceite de Orégano - 100%	Aceite de Toronjil - 100%	3,22667*	0,10975	0,000	2,9066	3,5467
	Aceite de Orégano - 50%	3,60000*	0,10975	0,000	3,2799	3,9201
	Control negativo (DMS)	9,10667*	0,10975	0,000	8,7866	9,4267
	Control positivo (ciprofloxacino)	-15,07333*	0,10975	0,000	-15,3934	-14,7533
Control negativo (DMS)	Aceite de Toronjil - 50%	-4,18667*	0,10975	0,000	-4,5067	-3,8666
	Aceite de Toronjil - 100%	-5,88000*	0,10975	0,000	-6,2001	-5,5599
	Aceite de Orégano - 50%	-5,50667*	0,10975	0,000	-5,8267	-5,1866
	Aceite de Orégano - 100%	-9,10667*	0,10975	0,000	-9,4267	-8,7866
	Control positivo (ciprofloxacino)	-24,18000*	0,10975	0,000	-24,5001	-23,8599
Control positivo (ciprofloxacino)	Aceite de Toronjil - 50%	19,99333*	0,10975	0,000	19,6733	20,3134
	Aceite de Toronjil - 100%	18,30000*	0,10975	0,000	17,9799	18,6201
	Aceite de Orégano - 50%	18,67333*	0,10975	0,000	18,3533	18,9934
	Aceite de Orégano - 100%	15,07333*	0,10975	0,000	14,7533	15,3934
	Control negativo (DMS)	24,18000*	0,10975	0,000	23,8599	24,5001

La tabla 5 muestra el análisis realizado a los grupos de datos comparados en pares entre sí mediante la prueba Post Hoc de comparaciones múltiples se logra observar que existe diferencia significativa entre los grupos tanto experimentales como control al comparar la significancia estadística obtenida en la tabla con el nivel de significancia alfa de 0,05.

Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey
Diámetro del halo de inhibición (mm)

Tukey HSD^a

Grupos de trabajo	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Control negativo (DMS)	15	6,17					
Aceite de Toronjil - 50%	15		10,36				
Aceite de Orégano - 50%	15			11,68			
Aceite de Toronjil - 100%	15				12,05		
Aceite de Orégano - 100%	15					15,28	
Control positivo (ciprofloxacino)	15						30,35
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 6, muestra el análisis de datos realizado por la prueba de Tukey mediante sub grupos homogéneos, donde se observa diferencias significativas en todos los grupos de datos analizados, se observa que el aceite de toronjil presenta menos efecto antibacteriano que el aceite de orégano, de igual modo, ningún aceite presenta similar efecto y se confirma la superioridad antibacteriana del control positivos sobre los aceites.

Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula	Sensible	Muy sensible	Sumamente sensible
	≤ 8 mm	8–14 mm	15-20 mm	> 20 mm
Control negativo (DMS)	6,17			
Aceite de Toronjil - 50%		10,36		
Aceite de Orégano - 50%		11,68		
Aceite de Toronjil - 100%		12,05		
Aceite de Orégano - 100%			15,28	
Control positivo (ciprofloxacino)				30,35

En la tabla 7, se muestra la escala de Duraffourd donde se relaciona la sensibilidad de la bacteria en función del tamaño de los halos de inhibición formados en milímetros, de la tabla de infiere que *Escherichia coli* es sumamente sensible al ciprofloxacino, es muy sensible al aceite de orégano al 100%; así mismo, es sensible al aceite de toronjil al 50% y 100% y al aceite de orégano al 50% y presenta sensibilidad nula para el control negativo de DMS.

IV. DISCUSIÓN

Melissa officinalis “toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” han sido objeto de estudio de varias investigaciones; estas plantas poseen metabolitos tanto en sus extractos como aceites que les confieren propiedades medicinales; en ese sentido, la presente investigación busca demostrar su efectividad antibacteriana para combatir *Escherichia coli*, los resultados obtenidos se discuten a continuación.

En cuanto a la metodología de extracción de los aceites esenciales se empleó la técnica de arrastre por vapor, la cual es empleada para la obtención de aceites esenciales y brinda ventajas sobre las otras, la metodología fue válida con el estudio realizado por Navarro Y. y Salazar B. (2017), con su investigación “Extracción y fraccionamiento del aceite esencial de toronjil (*Melissa officinalis*) para la obtención de los destilados de composición diferenciada”.

Con respecto al primer objetivo del estudio, se obtuvo halos de inhibición promedio para el aceite esencial de *Melissa officinalis* “toronjil” al 50% y 100% frente a *Escherichia coli*, fue de $10,36 \pm 0,30$ mm y de $12,05 \pm 0,31$ respectivamente, el análisis estadístico realizado confirmó diferencia significativa con el control negativo confirmando su efecto antibacteriano sobre esta bacteria; estos resultados se validan con los encontrados por Curo M. y Gonzales M. (2021) en su estudio “Comparación de la actividad anti *Escherichia coli* ATCC 25922 de los aceites esenciales de *Melissa officinalis* L. (toronjil) y *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) para el desarrollo de una formulación de emulsión bebible”, donde luego de obtenido el aceite de toronjil por hidrodestilación se prepararon concentraciones de 50, 75 y 100% del aceite y se determinó la actividad anti *E. coli*, el estudio confirma el efecto antibacteriano de esta planta contra la bacteria en mención.

Por otro lado, estudios que comparan el poder antimicrobiano del aceite de toronjil con sus metabolitos se muestra en la investigación realizada por Behbahani B. y Shahidi F. (2019), titulada “Aceite esencial de *Melissa officinalis*: composiciones químicas, potencial antioxidante, contenido fenólico total y actividad antimicrobiana”, donde encuentra mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS), presencia de geranilo, citral, Z-citral, citronelal

y citronelol; contenido fenólico total y poder antioxidante, indicando que estos principios mostrarían efecto contra cepas bacterianas ATCC especialmente grampositivas.

Con respecto al segundo objetivo se obtuvo halos de inhibición promedio del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” al 50% y 100% frente a *Escherichia coli* de $11,68 \pm 0,29$ mm y $15,28 \pm 0,36$ mm respectivamente; del mismo modo, se demostró diferencia estadísticamente significativa con el control negativo confirmando su efecto antibacteriano; el estudio realizado por Contreras S. (2017), titulado “Efecto sinérgico in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) con ciprofloxacino frente a *Escherichia. coli* ampicilino-resistente” nos confirma al igual que nuestro estudio el poder antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a *Escherichia. Coli*, así mismo, el estudio profundiza su investigación demostrando el efecto sinérgico entre el aceite de orégano y ciprofloxacino contra esta bacteria.

Los resultados encontrados se validan con el estudio realizado por Basurto M., Quintero A. (2019), titulado “Extracción de aceite esencial de *Origanum vulgare* y determinación del efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*” donde luego de la obtención del aceite evaluó el efecto antibacteriano por medio del método de difusión en disco, obteniendo un halo de inhibición fuera del disco (6mm) de 2,37mm, en tal sentido, las diferencias encontradas se deben a diferencias en la técnicas aplicada como el disco y el método de extracción del aceite. Del mismo modo, el estudio realizado por Araujo C. (2019). “Efecto antimicrobiano de aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) Y TOMILLO (*Thymus vulgare*) individuales y en combinación contra *Salmonella typhymurium*” encontró efecto antimicrobiano y sinérgico de esta planta con tomillo, al combinar los dos aceites esenciales.

Con respecto al tercer objetivo específico se comparó el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Melissa officinalis* “toronjil” y *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Escherichia coli*, luego del análisis estadístico aplicando las pruebas inferenciales de contratación ANOVA y Tukey se concluye que los aceites presentan diferente efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* siendo mayor el efecto del aceite de orégano con un nivel de confianza del 95%.

En el estudio también se evaluó la sensibilidad antibacteriana de *Escherichia coli* a los grupos control y experimentales observando que esta presenta sensibilidad nula al control negativo empleado (DMS), es sensible al aceite de Toronjil al 50% y 100%; así mismo, al aceite de

orégano al 50%, es muy sensible al aceite de orégano al 100% y sumamente sensible al control positivo (ciprofloxacino).

Del análisis de los resultados y antecedentes se demuestra que existe evidencia suficiente que confirma el poder antimicrobiano sobre *Escherichia coli* por parte de los aceites esenciales de *Melissa officinalis* “toronjil” y *Origanum vulgare*.

V. CONCLUSIONES

1. El efecto antibacteriano del aceite esencial de *Melissa officinalis* “toronjil” al 50% y 100% frente a *Escherichia coli* presentó halos de inhibición de $10,36 \pm 0,30$ mm y $12,05 \pm 0,31$ respectivamente.
2. El efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” al 50% y 100% frente a *Escherichia coli*. presentó halos de inhibición de $11,68 \pm 0,29$ mm y $15,28 \pm 0,36$ mm respectivamente.
3. Se determinar que el aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” presentará mayor efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* comparado con el aceite esencial de *Melissa officinalis* “toronjil”

VI. RECOMENDACIONES

- A los futuros tesisistas realizar investigaciones sobre el efecto sinérgico de estas dos plantas, así como también, la investigación de los efectos antibacterianos y antifúngicos de estas plantas en formulaciones farmacéuticas.
- A las instituciones de salud realicen investigaciones sobre las propiedades antimicrobianas y nutritivas de estas dos especies vegetales y se indique como tratamiento alternativo al farmacológico o de apoyo.
- A la comunidad, promover el uso de plantas medicinales en el tratamiento de enfermedades leves que ayuden a disminuir los índices de resistencia bacteriana, efectos colaterales de los medicamentos y economía familiar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rojas N, Chaves E, García F. Bacteriología diagnóstica. Universidad de Costa Rica. Costa Rica: Facultad de Microbiología; 2015.
2. Reyes S. Escherichia coli, Universidad Veracruzana. 2011;14. Disponible en: <https://www.uv.mx/personal/sbonilla/files/2011/06/Escherichia-coli-I.pdf>
3. Carbapenemasas en bacterias Gram negativas no fermentadoras aisladas en servicios críticos del Hospital Regional Lambayeque, diciembre 2014 - julio 2015. Vol. 33, Acta Médica Peruana. 2016. p. 183-8.
4. Bruni P. Contaminación por las fábricas de medicamentos y aparición de superbacterias. Changing Markets [Internet]. 2018 [citado 28 de junio de 2021]; Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos>
5. Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria [Internet]. [citado 28 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>
6. Rocha C, Reynolds ND, Simons MP. Resistencia emergente a los antibióticos: Una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. Acta Medica Peruana. 2017;139-45.
7. Alzamora MC, Echevarría AC, Ferraro VM, Riveros MD, Zambruni M, Ochoa TJ. Resistencia antimicrobiana de cepas comensales de Escherichia coli en niños de dos comunidades rurales peruanas. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 23 de septiembre de 2019 [citado 5 de junio de 2020];36(3):459. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/4366>
8. Davila Bellodas KF, Cruz Silva RA, Moreno Mantilla MC, Amarildo F. Etiología, susceptibilidad antibiótica y detección de betalactamasas en bacterias aisladas de ITU en pacientes atendidos en el Centro Médico Salud y Vida, Chiclayo. Rev Exp en Med del Hosp Reg Lambayeque. 2018;4(2):61-6.
9. R. C. “EFECTO SINERGICO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE Origanum vulgare (ORÉGANO) CON CIPROFLOXACIONO FRENTE A E. coli AMPICILINO-RESISTENTE”. UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO; 2017.
10. Basurto M., Quintero A. et al. Extracción de aceite esencial de Origanum vulgare y determinación del efecto antibacteriano sobre Escherichia coli. Mundo Recursivo. 2019;2(9):15.
11. C. A. Efecto antimicrobiano de aceites esenciales de orégano (Origanum vulgare) y tomillo (Thymus vulgare) individuales y en combinación contra Salmonella

- Typhimurium [Internet]. 2019. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6483/1/AGI-2019-T004.pdf>
12. Nieto G. Biological Activities of Three Essential Oils of the Lamiaceae Family. *Medicines*. 2017;4(4):63.
 13. Fonnegra R. y Jimenez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia [Internet]. Google Libros; 2007 [citado 28 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=K8eI-7ZeFpsC&pg=PA76&dq=Cinnamomum+zeylanicum&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKewjmxffZw-XqAhVgK7kGHfvuCBE4ChDoATAEegQIBBAC#v=onepage&q=Cinnamomum zeylanicum&f=false>
 14. Han X. y Parker T. Anti-inflammatory, tissue remodeling, immunomodulatory, and anticancer activities of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil in a human skin disease model. *Biochim Open* [Internet]. 2017;4:73-7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopen.2017.02.005>
 15. Tellez L, Nolazco D. Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp.) de Tacna Lena. *Ing Ind* [Internet]. 2017;35:195-205. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3374/337453922010.pdf>
 16. Bedoya C. et al. Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (*Origanum vulgare*) essential oil: in vitro study and application in Minas Padrão cheese. *Brazilian J Microbiol* [Internet]. 1 de octubre de 2018 [citado 4 de enero de 2021];49(4):929-35. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.05.004>
 17. Colpa M. Efecto inhibitor del aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano) y *Mentha piperita* (menta) frente a cepas de *Cándida albicans*. Estudio in vitro. Lima 2016. Universidad Privada Norbert Wiener. 2016.
 18. Canet J. *Escherichia Coli*: características, patogenicidad y prevención [Internet]. Betelgeux. 2016 [citado 26 de julio de 2021]. Disponible en: <http://www.betelgeux.es/blog/2016/01/19/escherichia-coli-caracteristicas-patogenicidad-y-prevencion-i/>
 19. Massachusetts A. E. coli. *Bost Public Heal Comm* [Internet]. 2019;2. Disponible en: <https://www.bphc.org/whatwedo/infectious-diseases/Infectious-Diseases-A-to-Z/Documents/Fact Sheet Languages/E.coli/Spanish.pdf>
 20. Malbrán C. Metodo de Determinacion de Sensibilidad Antimicrobiana por Difusion. *Serv Antimicrob* [Internet]. 2017;9-12. Disponible en: http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf%0Ahttp://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/02-METODO_DE_DETERMINACION_DE_SENSIBILIDAD_ANTIMICROBIANA_PO R_DIFUS

21. Taroco R. Seija V. Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. En: *Temas de Bacterología y Virología Médica* [Internet]. 2017. p. 663-71. Disponible en: <http://higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>
22. Guevara G, Verdesoto A, Castro N. Metodologías de investigación educativa (descriptivas, experimentales, participativas, y de investigación-acción). *Rev Cient Mundo la Investig y el Conoc* [Internet]. 2020;4(3):163-73. Disponible en: <https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/860/1363>
23. Sampieri R. y Mendoza C. Metodología de la Investigación: Las rutas de la investigación [Internet]. *Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta*. 2018. 387-410 p. Disponible en: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/65000949/METODOLOGIA_DE_LA_INVESTIGACION_LAS_RUTA.pdf?1606024201=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DMETODOLOGIA_DE_LA_INVESTIGACION_LAS_RUTA.pdf&Expires=1627241110&Signature=cZf8Cub7MseIHT2gfuMMLqXSShr
24. Díaz V. *Metodología de la investigación científica y bioestadística*. 2da ed. RIL®, editor. Chile: Universidad Finis Terrae; 2010. 561 p.
25. Hernández C. y Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. *Rev Científica del Inst Nac Salud «Alerta»* [Internet]. 2019;2(1):75-9. Disponible en: <https://doi.org/10.5377/alerta.v2i1.7535%0D>
26. Gonzales A. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas [Internet]. Universidad Nacional de Colombia; 2017 [citado 20 de enero de 2021]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/1173/1/angelaandreagonzalezvilla.2004.pdf>
27. Corbett JV, Banks AD. *Laboratory tests and diagnostic procedures: with nursing diagnoses*. Pearson; 2013. 726 p.
28. Castro Y. Eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de *Mentha piperita* “menta” Y *Rosmarinus officinalis* “romero”, sobre *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro [Internet]. Universidad César Vallejo; 2016. Disponible en: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/553>
29. Espadero M., Avilés H., Armijos L., Ávila L., Idrovo L. IM y OC. Evaluación microbiológica y composición química de extractos orgánicos de *Euphorbia aff. viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss sobre *Staphylococcus Aureus*, *Klebsiella Pneumoniae* y *Escherichia Coli*. *La Granja Rev Ciencias la Vida* [Internet]. 2019;29(1):114-24. Disponible en: <https://revistas.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/29.2019.10>

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Autor (es): María Ursula Yerren Pantaleón / Rosmery Salazar Chavesta

Tema: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Melissa officinalis* (TORONJIL) Y *Origanum vulgare* (OREGANO) FRENTE A CEPAS DE *Escherichia coli*

Problema general	Objetivo general	Hipótesis General	Variabes y dimensiones	Metodología
¿Presentará efecto antibacteriano los aceites esenciales de <i>Melissa officinalis</i> “toronjil” y <i>Origanum vulgare</i> “orégano” frente a <i>Escherichia coli</i> ?	Demostrar el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de <i>Melissa officinalis</i> “toronjil” y <i>Origanum vulgare</i> “orégano” frente a <i>Escherichia coli</i>	Los aceites esenciales de <i>Melissa officinalis</i> “toronjil” y <i>Origanum vulgare</i> “orégano” presentan efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli</i> .	Variable Independiente (x) X1: Aceite de <i>Melissa officinalis</i> “toronjil” X2: Aceite de <i>Origanum vulgare</i> “orégano”	Alcance de la investigación: Analítico Método de la investigación: Transversal y prospectivo
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específicas	Dimensiones: Concentración Variable Dependiente (y) Y1: Efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli</i>	Diseño de la investigación: Experimental Población: <i>Melissa officinalis</i> “toronjil” y <i>Origanum vulgare</i> “orégano”
¿Presentará efecto antibacteriano el aceite esencial de <i>Melissa officinalis</i> “toronjil” al 100% y 50% frente a <i>Escherichia coli</i> ?, ¿Presentará efecto antibacteriano el aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” al 100% y 50% frente a <i>Escherichia coli</i> ? y ¿Cuál de los aceites esenciales de <i>Melissa</i>	determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Melissa officinalis</i> “toronjil” al 50% y 100% frente a <i>Escherichia coli</i> . Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” al 50% y 100% frente a <i>Escherichia coli</i> . Determinar cuál de los aceites esenciales de <i>Melissa officinalis</i>			

<p><i>officinalis</i> “toronjil” y <i>Origanum vulgare</i> “orégano” presentará mayor efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli</i>?</p>	<p>“toronjil” y <i>Origanum vulgare</i> “orégano” presentará mayor efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli</i></p>		<p>Dimensión: Tamaño del halo de inhibición</p>	<p>Muestra: Aceite de <i>Melissa officinalis</i> “toronjil” y <i>Origanum vulgare</i> “orégano”</p> <p>Técnicas de recopilación de información:</p> <p>Arrastre con vapor Difusión en pozo</p> <p>Técnicas de procesamiento de información:</p> <p>Estadísticos de tendencia central y dispersión, ANOVA y Tukey mediante SPSS 26</p>
---	---	--	---	--

Anexo 2. Operacionalización de las variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Aceite de <i>Melissa officinalis</i> “toronjil”	Sustancia oleosa extraída de la planta, la cual contiene metabolitos secundarios	Concentración	100%	Porcentaje
			50%	
Aceite de <i>Origanum vulgare</i> “orégano”		Concentración	100%	Porcentaje
			50%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia coli</i>	Efecto inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano	Halo de inhibición	Diámetro del halo de inhibición	Presencia / ausencia

Anexo 3. Ficha de recolección de datos

Placa	Control Positivo (Ciprofloxacino)	Aceite de <i>Melissa officinalis</i> (TORONJIL)		Aceite de <i>Origanum vulgare</i> (ORÉGANO)		Control Negativo (Dimetilsulfóxido)
		50%	100%	50%	100%	
1	29,9	10,5	12,1	11,6	14,7	6,2
2	30,6	10,4	12,6	11,3	14,7	5,9
3	30,3	10,2	12,4	12,1	15,2	5,9
4	30,5	10,4	12,4	11,3	15,4	6,2
5	30,7	10,0	11,9	11,6	15,4	6,3
6	30,5	10,8	12,0	11,6	15,2	6,2
7	30,4	10,6	12,1	11,5	15,6	6,1
8	29,6	10,5	12,5	12,2	15,5	6,2
9	30,5	10,8	11,7	12,0	14,9	6,3
10	30,2	10,1	11,9	12,0	15,0	6,4
11	30,7	10,5	11,9	11,8	15,3	6,2
12	30,2	10,6	11,5	11,8	15,9	6,5
13	30,2	9,8	12,1	11,6	15,7	5,9
14	30,2	10,1	11,7	11,3	15,6	6,4
15	30,8	10,1	12,0	11,5	15,1	5,9

Anexo 4. Validación del instrumento – Juicio de expertos



FORMATO: A

VALIDEZ DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN POR JUICIO DE EXPERTO

Indicación: Señor calificador se le pide su colaboración para que luego de un riguroso análisis de los ítems de la ficha de recolección respecto, al trabajo. Agradeciendo marcar con un aspa el casillero que crea conveniente, de acuerdo con su experiencia y criterio, denotando si el instrumento cuenta con los requisitos mínimos para una investigación, al que le mostramos, agradeciendo.

Investigadores: **María Ursula Yerren Pantaleón / Rosmery Salazar Chavesta**

EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Melissa officinalis* (TORONJIL) Y *Origanum vulgare* (OREGANO) FRENTE A CEPAS DE *Escherichia coli*

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
---------------------	---------------	------------	----------	--------------

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS tamaños del halo de inhibición sobre *Escherichia coli*

Dimensión: Concentración	1	2	3	4	5
INDICADOR: Concentración 100%					
Porcentaje del aceite esencial de <i>Melissa officinalis</i> "toronjil"				X	
Porcentaje del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano"				X	
Control negativo: Dimetilsulfoxido				X	
Control positivo: Ciprofloxacino				X	
INDICADOR: Concentración 50% dimetilsulfoxido					
Porcentaje del aceite esencial de <i>Melissa officinalis</i> "toronjil"				X	
Porcentaje del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano"				X	
Control negativo: Dimetilsulfoxido				X	
Control positivo: Nistatina				X	

Dimensión: Diámetro de halos inhibición	1	2	3	4	5
INDICADOR: <8mm					
Aceite esencial de <i>Melissa officinalis</i> "toronjil" (100%)				X	
Aceite esencial de <i>Melissa officinalis</i> "toronjil" (50%)				X	
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" (100%)				X	
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" (50%)				X	
Control positivo: Ciprofloxacino				X	
Control negativo: Dimetilsulfoxido				X	

INDICADOR: 8mm - 15mm					
Aceite esencial de <i>Melissa officinalis</i> "toronjil" (100%)				X	
Aceite esencial de <i>Melissa officinalis</i> "toronjil" (50%)				X	
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" (100%)				X	
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" (50%)				X	
Control positivo: Ciprofloxacino				X	
Control negativo: Dimetilsulfoxido				X	

INDICADOR: 15 - 20mm					
Aceite esencial de <i>Melissa officinalis</i> "toronjil" (100%)				X	
Aceite esencial de <i>Melissa officinalis</i> "toronjil" (50%)				X	
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" (100%)				X	
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" (50%)				X	
Control positivo: Ciprofloxacino				X	
Control negativo: Dimetilsulfoxido				X	

RECOMENDACIONES:

.....

PROMEDIO DE VALORACIÓN

4

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

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

Nombres y Apellidos : Aracely Janett Maravi Cabrera
DNI N° : 20035640 Teléfono/Celular : 95627004
Dirección domiciliaria : Jr. Cuzco N° 870 Huancayo
Título Profesional : Químico Farmacéutico
Grado Académico : Magister en Docencia
Mención : Docencia y Gestión Educativa



Firma

Lugar y fecha: Huancayo 14 de octubre de 2021

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

1.1. Título de la : EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE
Investigación ESENCIAL DE *Melissa officinalis* (TORONJIL) Y
Origanum vulgare (OREGANO) FRENTE A
CEPAS DE *Escherichia coli*

1.2. Nombre del instrumento Ficha de recolección de datos

II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

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

PROMEDIO DE VALORACIÓN

85

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

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

Nombres y Apellidos : Aracely Janett Maravi Cabrera
DNI N° : 20035640 Teléfono /Celular : 956027004
Dirección domiciliaria : Jr. Cuzco N° 870 Huancayo
Título Profesional : Químico Farmacéutico
Grado Académico : Magister en Docencia
Mención : Docencia y Gestión Educativa



Aracely Janett Maravi Cabrera
C.I. 20035640

Firma

Lugar y fecha: Huancayo 14 de octubre de 2021

PROMEDIO DE VALORACIÓN

95

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

a) Deficiente b) Baja c) Regular d) Buena e) ~~Muy buena~~

Nombres y Apellidos : **IVAR JINES LAVADO MORALES**
DNI N° : **20655225** Teléfono /Celular : **9900189724**
Dirección domiciliaria : **JR. MIGUEL GRAU N° 921 - CHUPACA**
Título Profesional : **QUIMICO FARMACEUTICO**
Grado Académico : **MAESTRIA**
Mención : **SALUD PUBLICA**



Firma

Lugar y fecha: Huancayo, 10 de octubre del 2021

PROMEDIO DE VALORACIÓN

95

OPINIÓN DE APLICABILIDAD

f) Deficiente g) Baja h) Regular i) Buena **(j) Muy buena**

Nombres y Apellidos : Martha Raquel Valderrama Sueldo
DNI N° : 22101412 Teléfono/Celular : 988440250
Dirección domiciliaria : Pje. Salazar Bondy 343 El Tambo
Título Profesional : Químico Farmacéutico
Grado Académico : Magister
Mención : Seguridad y Medio ambiente




Firma

Lugar y fecha: Huancayo, 14 de octubre del 2021

Anexo 5. Identificación taxonómica de la planta en estudio

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

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "TORONJIL" proporcionado por los Bachilleres, YERREN PANTALÉON MARÍA URSULA y SALAZAR CHAVESTA ROSMERY, Tesistas de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Melissa officinalis* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: PLANTAE
División: MAGNOLIOPHYTA
Clase: MAGNOLIOPSIDA
Subclase: ASTERIDAE
Orden: LAMIALES
Familia: LAMIACEAE
Género: Melissa
Especie: Melissa officinalis L.

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

Lima, 25 octubre 2021


Blgo. Hamilton Beltrán

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

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

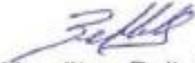
CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "ORÉGANO" proporcionado por los Bachilleres, YERREN PANTALÉON MARÍA URSULA y SALAZAR CHAVESTA ROSMERY, Tesistas de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Origanum vulgare L.* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: PLANTAE
División: MAGNOLIOPHYTA
Clase: MAGNOLIOPSIDA
Subclase: ASTERIDAE
Orden: LAMIALES
Familia: LAMIACEAE
Género: *Origanum*
Especie: *Origanum vulgare L.*

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

Lima, 25 octubre 2021


Blgo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilner Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico -
C.B.P. 2719

Anexo 6. Certificado de Análisis de la cepa



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

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

Performance	
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 Microscopic Features: Gram negative straight rod	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	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 - 28 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

**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 catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It 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 Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which 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 K LH

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 7. Evidencias del trabajo



Figura 2. Recolección de la muestra



Figura 3. Tratamiento de las muestras



Figura 4. Extracción de los aceites esenciales



Figura 5. Reactivación de la cepa bacteriana

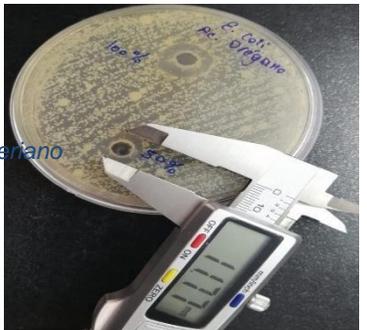
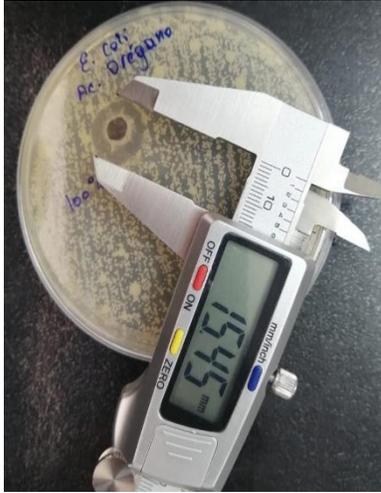


Figura 6: Determinación del efecto antibacteriano