



**UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE
CHIMBOTE**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*)
FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* (ATCC®
23235™), TRUJILLO – 2021**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

AUTOR

ACUÑA CUZMA, SEGUNDO PABLO

ORCID: 0000-0002-6023-9086

ASESORA

ANGELES GARCÍA, KAREN MILENA

ORCID: 0000-0002-2441-6882

CHIMBOTE, PERÚ

2023



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE ODONTOLOGÍA

ACTA N° 0108-113-2023 DE SUSTENTACIÓN DEL INFORME DE TESIS

En la Ciudad de **Chimbote** Siendo las **14:00** horas del día **23** de **Agosto** del **2023** y estando lo dispuesto en el Reglamento de Investigación (Versión Vigente) ULADECH-CATÓLICA en su Artículo 34º, los miembros del Jurado de Investigación de tesis de la Escuela Profesional de **ODONTOLOGÍA**, conformado por:

ROJAS BARRIOS JOSE LUIS Presidente
REYES VARGAS AUGUSTO ENRIQUE Miembro
SUAREZ NATIVIDAD DANIEL ALAIN Miembro
Mgtr. ANGELES GARCIA KAREN MILENA Asesor

Se reunieron para evaluar la sustentación del informe de tesis: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE ROMERO (Rosmarinus officinalis) FRENTE A CEPAS DE Staphylococcus aureus (ATCC® 23235™), TRUJILLO - 2021.**

Presentada Por :
(0201214010) **ACUÑA CUZMA SEGUNDO PABLO**

Luego de la presentación del autor(a) y las deliberaciones, el Jurado de Investigación acordó: **APROBAR** por **UNANIMIDAD**, la tesis, con el calificativo de **13**, quedando expedito/a el/la Bachiller para optar el TITULO PROFESIONAL de **Cirujano Dentista**.

Los miembros del Jurado de Investigación firman a continuación dando fe de las conclusiones del acta:

ROJAS BARRIOS JOSE LUIS
Presidente

REYES VARGAS AUGUSTO ENRIQUE
Miembro

SUAREZ NATIVIDAD DANIEL ALAIN
Miembro

Mgtr. ANGELES GARCIA KAREN MILENA
Asesor



CONSTANCIA DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

La responsable de la Unidad de Integridad Científica, ha monitorizado la evaluación de la originalidad de la tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), TRUJILLO - 2021. Del (de la) estudiante ACUÑA CUZMA SEGUNDO PABLO, asesorado por ANGELES GARCIA KAREN MILENA se ha revisado y constató que la investigación tiene un índice de similitud de 07% según el reporte de originalidad del programa Turnitin.

Por lo tanto, dichas coincidencias detectadas no constituyen plagio y la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

Cabe resaltar que el turnitin brinda información referencial sobre el porcentaje de similitud, más no es objeto oficial para determinar copia o plagio, si sucediera toda la responsabilidad recaerá en el estudiante.

Chimbote, 11 de Setiembre del 2023

Mg. Roxana Torres Guzmán
Responsable de Integridad Científica

Dedicatoria

A Dios, en primer lugar y a mi familia nuclear quienes siempre estuvieron a la altura de las expectativas para brindarme su apoyo y vencer los desafíos que se presentaban.

Agradecimiento

A Dios, en primer lugar, porque me da la vida, sus bendiciones y ayuda, en él está la sabiduría y la inteligencia, ya que sin su voluntad nada puede ser posible.

Al recuerdo de mi madre, quien en vida me inculco el estudio y la perseverancia, a mi esposa Nicol Ángel Saavedra y mis dos hijos Ana Lucia y Jhordan, por su comprensión, y porque siempre estuvieron dispuestos para apoyarme a tiempo y fuera de tiempo, a mis familiares, mis docentes por dedicar su valioso tiempo en mi formación profesional, otorgándome sus conocimientos y experiencias profesionales. Y a muchos de mis amigos y amigas de estudios los cuales me brindaron su confianza para seguir perseverando.

Índice General

Carátula-----	I
Jurado-----	II
Dedicatoria-----	III
Agradecimiento-----	IV
Índice general-----	V
Lista de tablas-----	VI
Lista de Figuras-----	VII
Resumen-----	VIII
Abstract-----	IX
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA-----	1
II. MARCO TEÓRICO-----	4
2.1. Antecedentes-----	4
2.2. Bases teóricas-----	8
2.3. Hipótesis-----	14
III. METODOLOGÍA-----	15
3.1. Nivel, Tipo y Diseño de Investigación-----	15
3.2. Población y Muestra-----	16
3.3. Variables. Definición y Operacionalización-----	17
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de información-----	18
3.5. Método de análisis de datos-----	20
3.6 Aspectos Éticos-----	21
IV. RESULTADOS-----	22
4.1. Resultados-----	22
4.2. Discusión-----	25
V. CONCLUSIONES-----	27
VI. RECOMENDACIONES-----	28
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	29
ANEXOS-----	34
Anexo 01. Matriz de consistencia-----	34
Anexo 02. Instrumento de recolección de información-----	35
Anexo 03. Documento de aprobación para la recolección de información-----	37
Anexo 04. Evidencias de ejecución-----	38

Lista de Tablas

Tabla 1: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo – 2023.. 22

Tabla 2: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 50% y Clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021..... 23

Tabla 3: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 70% y Clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021..... 24

Lista de figuras

Figura 1: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo – 2023.. 22

Figura 2: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 50% y Clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021..... 23

Figura 3: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 70% y Clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021..... 24

Resumen

Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021. **Metodología:** El estudio fue de tipo cuantitativo, observacional, prospectivo, transversal y analítico, de nivel explicativo y de diseño experimental, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 23235 y la muestra estuvo conformada por 10 repeticiones por cada grupo de estudio. *Staphylococcus aureus* fue activado y sembrado en un medio de cultivo para luego ser expuesto a un extracto hidroetanólico de romero en una concentración de 50% y 70%. Para medir el efecto antibacteriano se utilizó como instrumento un vernier digital de marca Stanley, con el propósito de medir los halos de inhibición bacteriana. Se utilizó la prueba estadística de Kruskal Wallis. **Resultados:** Se obtuvieron diferencias significativas para los grupos de estudio $p=0,000$. Según la escala de Duraffourd, el extracto al 50% fue muy sensible, obteniendo un halo de inhibición promedio de 14,69 mm, el extracto al 70% fue muy sensible, con un halo de inhibición de 18,24 mm, y el grupo control de clorhexidina al 0,12% fue sumamente sensible con un halo de inhibición de 29,55 mm. **Conclusión:** *Staphylococcus aureus* ATCC 23235 es muy sensible a ambas concentraciones del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 50 y 70%.

Palabras claves; antibacteriano, *Rosmarinus officinalis*, *Staphylococcus aureus*

Abstract

Objective: To determine the antibacterial effect of the hydroethanolic extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) against strains of *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021. **Methodology:** The study was quantitative, observational, prospective, cross-sectional and analytical, with an explanatory level and an experimental design, which was carried out in a population of *Staphylococcus aureus* ATCC 23235 strains and the sample consisted of 10 repetitions per each study group. *Staphylococcus aureus* was activated and seeded in a culture medium and then exposed to a hydroethanolic extract of rosemary at a concentration of 50% and 70%. To measure the antibacterial effect, a Stanley brand digital vernier was used as an instrument, with the purpose of measuring the halos of bacterial inhibition. The Kruskal Wallis statistical test was used. **Results:** Significant differences were obtained for the study groups $p=0.000$. According to the Duraffourd scale, the 50% extract was very sensitive, obtaining an average inhibition halo of 14.69 mm, the 70% extract was very sensitive, with an inhibition halo of 18.24 mm, and the group 0.12% chlorhexidine control was highly sensitive with an inhibition halo of 29.55 mm. **Conclusion:** *Staphylococcus aureus* ATCC 23235 is very sensitive to both concentrations of hydroethanolic extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis*). At 50 and 70%

Keywords; antibacterial, *Rosmarinus officinalis*, *Staphylococcus aureus*.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de problema

La cavidad oral posee una diversidad de microorganismos que están en equilibrio y convivencia con su medio, el desequilibrio o disbiosis provoca en el hospedero las patologías asociadas a factores de virulencia de cada microorganismo.¹ La diversidad de especies y el desequilibrio podrían provocar enfermedades como: Caries dental, enfermedades periodontales, infecciones oportunistas, inflamación de los tejidos que constituyen la cavidad oral, etc. Pudiendo estas patologías repercutir de manera sistémica en el individuo.²

Por lo tanto, la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA), considera al *Staphylococcus aureus* como uno de los microorganismos de mayor importancia en la práctica médica diaria. Dicho microorganismo es causante frecuente de infecciones en la población que posee un alto grado patogénico, y lo denominan autor de una amplia serie de enfermedades como la mucositis oral,³ la cual es una inflamación de la mucosa con sensación de ardor u hormigueo, que se caracteriza por atrofia del epitelio escamoso, daño vascular, infiltración inflamatoria y ulceración, suele producirse en el revestimiento mucoso de la boca, el tracto gastrointestinal o las vías respiratorias debido a irritaciones químicas, quimioterapia o radioterapia.⁴ Es así que, el *S. aureus* en la etiología de la mucositis oral es controvertida debido a la diversidad existente en la microbiota oral residente en la cavidad oral y a la presencia de esa entidad también en el medio ambiente oral de pacientes saludables. Además, se indica que, los síntomas exacerbados en la mucositis oral, como dolor, eritema y supuración pueden estar relacionados con la presencia de dicha bacteria.⁵ La investigación y el tratamiento de la mucositis son un campo que evoluciona rápidamente y que ofrece constantemente nuevas vías de investigación y posibles terapias. Con el avance de la biotecnología, los investigadores buscan nuevos principios activos para el tratamiento de las diversas patologías originadas por microorganismos resistentes a los tratamientos convencionales.⁶

El Perú posee diversidad de flora lo que la hace fuente de investigación con el fin de encontrar nuevos principios activos para el tratamiento de las patologías bucales asociados a microorganismos. La planta del romero (*Rosmarinus officinalis*), ha sido amplia y comúnmente utilizada como conservante de alimentos debido a su potencial antimicrobiano. Actualmente es utilizado en la industria alimentaria como aditivo

natural para la obtención de principios activos y extractos aplicables en la elaboración y conservación de sus productos debido a la demanda de productos naturales libres de aditivos sintéticos sospechosos de ser nocivos para la salud.⁷

1.2. Formulación del problema

Problema general:

¿Existe efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021?

Problemas específicos:

1. ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 50% y clorhexidina al 0,12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021?
2. ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 70% y clorhexidina al 0,12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021?

1.3. Justificación

Desde el punto de vista de teórico este estudio colocó toda la información necesaria sobre el romero en la parte odontológica, resaltado su actividad antibacteriana sobre *S. aureus*, con el propósito de que los investigadores estudiantes y profesionales tengan un mejor conocimiento sobre el uso de esta planta y los componentes quienes se encargan de su mecanismo de acción.

Desde el punto de vista social, con los resultados de este estudio son beneficiados toda la comunidad odontológica debido a que esta planta medicinal sirve como una nueva alternativa para el tratamiento ante patología asociadas a *S. aureus*. Por lo tanto, incentiva a los investigadores a seguir investigando sobre sus efectos nocivos para luego ser procesados en productos de uso odontológico.

Desde el punto de vista metodológico, estos resultados sirven de antecedente para futuras investigaciones.

1.4. Objetivo general

Objetivo general:

Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021.

Objetivos específicos:

1. Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 50% y clorhexidina al 0,12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021
2. Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 70% y clorhexidina al 0,12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Bowbe, et al.⁸ (2023) En su estudio realizado en Arabia Saudita titulado: Actividades antiestafilocócicas de los aceites esenciales de *Rosmarinus officinalis* y *Myrtus communis* a través del estrés oxidativo mediado por ROS. Tuvo como **objetivo**, determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de romero frente a *Staphylococcus aureus*. La **metodología** utilizada indica un estudio experimental. Se realizó en cepas de *Staphylococcus aureus*, los cuales fueron activados y sembrados en un medio de cultivo, luego fueron sumergidos en aceite esencial de romero, en concentraciones de 0,7 y 11,25 mg/mL. Como instrumento se utilizó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). **Concluye** que el aceite esencial de romero tuvo efecto antibacteriano frente a *S. aureus*, ya que el CMI fue 11,25 mm y la CMB fue 36 mm

Hijazeen.⁹ (2022) En su estudio realizado en Jordania titulado: Efecto antibacteriano de *Rosmarinus officinalis* Linn. extracto y aceite esencial de *Origanum syriacum* L. sobre la supervivencia y el crecimiento de bacterias aeróbicas totales y *Staphylococcus aureus* usando carne de pollo cocida. Tuvo como **objetivo** determinar el efecto antibacteriano del extracto de romero frente a *S. aureus*. La **metodología** utilizada indica un estudio experimental, realizado en cepas de *Staphylococcus aureus* los cuales fueron sometidos a extracto de romero. Se **Concluye** que el extracto de romero presentó efecto antibacteriano frente a *S. aureus*, debido a que a las 0 horas de exposición se obtuvo 4,29 CFU/g, a las 2 horas obtuvo 4,61 CFU/g, a las 4 horas obtuvo 4,97 CFU/g, a las 6 horas obtuvo 5,45 CFU/g y a las 8 horas obtuvo 5,70 CFU/g.

Manilal, et al.¹⁰ (2020) En su estudio realizado en Etiopía titulado: Actividad antibacteriana in vitro de plantas medicinales contra *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina que forma biopelículas: eficacia de los extractos de *Moringa stenopetala* y *Rosmarinus officinalis*. Tuvo como **objetivo** determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* frente a cepas de *S. aureus*. La **metodología** utilizada indica un estudio experimental, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *S. aureus*. Para lo cual, se seleccionaron

7 cepas de *S. aureus* resistente a meticilina, los cuales fueron activados y sembrado en un medio de cultivo, para luego ser expuestos a extractos etanólicos de las hojas de *R. officinalis* al 100%. Para medir la actividad antibacteriana, se midieron los halos de inhibición en milímetros. Se **concluye** que el extracto etanólico de *R. officinalis* al 100% presentó efecto antibacteriano frente a diferentes cepas de *S. aureus*, ya que su extracto etanólico exhibió una zona inhibitoria que oscilaba entre $8,4 \pm 1,4$ mm y $23,6 \pm 1,2$ mm

Nakagawa, et al.¹¹ (2020) En su estudio realizado en Estados Unidos titulado: Los extractos de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) que contienen ácido carnósico y carnosol son potentes inhibidores de detección de quórum de la virulencia de *Staphylococcus aureus*. Tuvo como **objetivo** determinar los efectos antibacterianos de los componentes principales del extracto de romero sobre los factores de virulencia del *Staphylococcus aureus*. La **metodología** utilizada indica un estudio cuantitativo, analítico, prospectivo y de diseño experimental, el cual se llevó a cabo en cepas de *S. aureus*, los cuales fueron activados y sembrado en un medio de cultivo para luego ser expuestos al ácido carnósico y carnosol en diferentes concentraciones, obtenidos de extractos de las hojas secas de romero. Se utilizó PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) para determinar si los extractos puros de ácido carnósico y carnosol de romero podían inhibir la expresión del gen RNAPIII y *psmA* inducida por AIP en cepas de *S. aureus*. Se **concluye** que el ácido carnósico y carnosol obtenidos del romero inhiben la expresión del gen RNAPIII y *psmA* inducida por AIP en cepas de *S. aureus*, afectando así el quórum, el cual es el mecanismo por el cual las bacterias detectan, se comunican y responden a su propia densidad celular, ya que el ácido carnósico mostró una inhibición significativa y específica de la expresión de RNAPIII inducida por AIP (péptido autoinductor) tan baja como 10 μ M y el carnosol mostró una inhibición significativa tan baja como 5 μ M.

Cecchini, y col.¹² (2018) En su estudio realizado en Argentina titulado: Evaluación in vitro de las actividades antimicrobiana, antioxidante y protectora del ADN, de un extracto etanólico de romero (*Rosmarinus officinalis* L.). tuvo como **objetivo** evaluar de forma in vitro el potencial terapéutico del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* l. contra la formación de una biopelícula. La **metodología**

utilizada indica un estudio cuantitativo, analítico, prospectivo y diseño experimental. La población estuvo conformada por cepas de *Staphylococcus aureus*, los cuales fueron activados y sembrados en un medio de cultivo, para luego ser expuestos a extractos etanólicos de las hojas de romero. El efecto antibacteriano fue medido mediante el diámetro de los halos de inhibición bacteriana, la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Máxima Inhibitoria (CMB). Se **concluye** que el extracto etanólicos de las hojas de romero presentaron efecto antibacteriano frente a *S. aureus*, ya que el diámetro de los halos de inhibición fue de 10 mm. Se observó una CIM de 312,5 µg/ml y una CBM de 1250 µg/ml.

2.1.1. Antecedente Nacionales

Loarte.¹³ (2019) En su trabajo de investigación realizado en una universidad de Cerro de Pasco titulado: Efecto antibacteriano del *Rosmarinus Officinalis* en la disminución del *Streptococcus mutans*, adolescentes entre los 12 Y 15 años de edad, Cerro de Pasco del 2018. Tuvo como **objetivo** determinar el efecto antibacteriano del colutorio a base de romero al 2% frente a cepas de *Streptococcus mutans* en adolescentes de Cerro de Pasco. La **metodología** utilizada indica un estudio experimental, ejecutado en un total de 36 adolescentes de 12 a 15 años, en los cuales se detectaron cepas de *S. mutans*, además de obtener una prevalencia moderada de caries dental. Se midió las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de los adolescentes, antes y después de aplicarse los colutorios a base de romero al 2%. Se **concluye** que el colutorio a base de romero al 2% presentó efecto antibacteriano frente a cepas de *S. mutans*, debido a que antes de aplicar el colutorio de romero, el 16,7% obtuvo un UFC bajo, el 61,1% obtuvo un UFC moderado y el 22,2% obtuvo un UFC alto. A la semana de aplicar el colutorio, el 38,9% obtuvo un UFC bajo, el 55,6% obtuvo un UFC moderado y el 5,6% obtuvo un UFC alto. A los 15 días de aplicar el colutorio, el 38,9% obtuvo un UFC bajo, el 55,6% obtuvo un UFC moderado y el 0,0% obtuvo un UFC alto.

Rodenas y col.¹⁴ (2018) En su trabajo de investigación realizado por una universidad de Lima titulado: Efecto antibacteriano del extracto etanólico de tallos de *Rosmarinus officinalis. L* (Romero) en cultivos de “*Staphylococcus aureus*” estudio in vitro. Tuvo como **objetivo** determinar el efecto antibacteriano del extracto

etanólico de *R. officinalis* frente a *S. aureus*. La **metodología** utilizada indica un estudio experimental, el cual se llevó a cabo en cepas de *S. aureus*, los cuales fueron activados y sembrados en un medio de cultivo para luego ser expuestos a extractos de los tallos de romero en concentraciones al 25%, 50% y 75% y como grupo control se utilizó amoxicilina. El efecto antibacteriano fue medido mediante el diámetro de los halos de inhibición. Se **concluye** que, los extractos etanólicos de romero presentaron efecto antibacteriano frente a *S. aureus*, debido a que el estudio detectó presencia de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas y alcaloides. El extracto etanólico al 25% obtuvo un halo de inhibición bacteriana de 11,35 mm, al 50% obtuvo 13,6 mm y al 75% obtuvo 15,74 mm y el control obtuvo 47,25 mm.

2.1.2. Antecedentes Locales o regionales

Vigil.¹⁵ (2019) En su trabajo de investigación realizado por una universidad de Trujillo titulado: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico mixto de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2018. Tuvo como **objetivo** determinar el efecto antibacteriano de *Rosmarinus officinalis* frente a cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. La **metodología** utilizada indica un estudio cuantitativo, aplicativo y experimental, el cual se llevó a cabo en una población de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, los cuales fueron activados y sembrados en un medio de cultivo, para luego ser expuestos a extractos hidroetanólicos de las hojas de romero en concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100%, como grupo control se utilizó la clorhexidina al 012%. El efecto antibacteriano fue medido mediante la dimensión de los halos de inhibición bacteriana. Se **concluye** que, el extracto hidroetanólico de las hojas de romero en todas sus concentraciones presenta efecto antibacteriano frente a cepas de *S. mutans* ATCC 25175, el cual se dio debido a que al aplicar la prueba de ANOVA de obtuvo $p=0,000$, la cual indicó que hubo diferencias significativas entre los grupos de estudio. Es así que el extracto hidroetanólico al 25% obtuvo un halo promedio de 10,4 mm, al 50% obtuvo 16,8 mm, al 75% obtuvo 25,3 mm, al 100% obtuvo 33,8 mm y el grupo control obtuvo 25,7 mm.

Aguilar.¹⁶ (2019) En su trabajo de investigación realizado por una universidad de Trujillo titulado: Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) en la desinfección de cepillos dentales. Tuvo como **objetivo** determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de romero. La **metodología** utilizada indica un estudio experimental, el cual se llevó a cabo en 25 placas de agar sangre inoculadas con el extracto etanólico de las hojas de romero al 75% con bacterias extraídas de los cepillos dentales y 25, con la clorhexidina al 0,12%. El efecto antibacteriano fue medido mediante Unidades Formadoras de Colonias (UFC). Se **concluye** que, el extracto etanólico al 75% presentó efecto antibacteriano, debido a que a las 24 horas el extracto etanólico obtuvo un promedio de 2,56 UFC y la clorhexidina 0,0 UFC, a las 48 horas el extracto obtuvo 3,64 UFC y la clorhexidina 0,0 UFC.

Figueroa.¹⁷ (2018) En su trabajo de investigación realizado por una universidad de Trujillo titulado: Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina. Tuvo como **objetivo** determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de Romero frente a *S. aureus*. La **metodología** utilizada indica un estudio experimental, el cual se llevó a cabo en cepas de *S. aureus*, los cuales fueron activados y sembrados en un medio de cultivo para luego ser expuestos al aceite esencial de las hojas de romero en concentraciones al 25%, 50% y 75% y 100%. El efecto antibacteriano fue medido mediante el diámetro de los halos de inhibición, mediante el uso de un vernier. Se **concluye** que, el aceite esencial de las hojas de *Rosmarinus officinalis* tiene poco efecto antibacteriano comparado con los criterios de eficacia del CLSI (> 21 mm), el cual se dio debido a que el aceite esencial al 25% obtuvo un halo de inhibición de 2,8 mm, al 50% obtuvo 6,3 mm, al 75% obtuvo 7,4 mm y al 100% obtuvo 8,2 mm.

2.2. Bases teóricas

En odontología, las sustancias antimicrobianas se utilizan para prevenir y tratar infecciones orales asociadas a bacterias mediante la reducción de la biopelícula oral. Se buscan cada vez más nuevas sustancias debido a las crecientes resistencias primarias y secundarias frente a las sustancias antisépticas y antimicrobianas producidas sintéticamente, por ejemplo, la clorhexidina, es así que varios estudios

muestran que, especialmente en la cavidad bucal, la prevalencia de cepas bacterianas resistentes a los antibióticos va en aumento. Por esta razón, el enfoque está volviendo a las alternativas basadas en plantas, ya que las plantas y sus extractos se han utilizado como medicamentos durante siglos. Hasta la fecha se han descrito más de 300 000 extractos de plantas y aunque muchos de estos tienen una posible aplicación farmacológica, sus efectos antimicrobianos solo se han estudiado en unos pocos casos.¹⁸

Muchas plantas tienen un intrincado sistema de defensa para protegerlas de los ataques de hongos y bacterias. Varios metabolitos antimicrobianos como las fitoanticipinas, que proporcionan una barrera química contra el ataque microbiano, y las fitoalexinas, que son metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, se pueden producir como parte del sistema de defensa de las plantas. Los representantes de las fitoalexinas incluyen flavonoides, glicosteroides, terpenoides o polifenoles. Además, las plantas tienen la capacidad de producir péptidos antimicrobianos endógenos que tienen un amplio espectro de actividad contra los microorganismos y un bajo nivel de resistencia.¹⁹

Rosmarinus officinalis, su nombre deriva del griego “(rhops y myrinos)” con significado de “arbusto marino” ya que se encontraba creciendo en las costas.⁹ Es un vegetal de procedencia europea, específicamente del sur, como de la cuenca mediterránea, el suroeste asiático y el norte africano. Fue adaptada al Perú como hierba aromática. Cultivable en la sierra y costa es decir entre los 0 y 3500 m.s.n.m.^{20,21} Es planta arbustiva perennifolia con tallos de característica en forma de prisma, las hojas son de color verde brillante en forma de espigas, pequeñas, agudas y estrechas, con márgenes revolutos, posee tallos ramificados y leñosos.²¹

Su taxonomía, indica que pertenece a una división *Angiospermae*, de clase *Dicotyledonea*, sub clase *Sympetaleae*, orden *Tubiflorae*, perteneciente a la familia *Lamiaceae*, de género *Rosmarinus* y de la especie *Rosmarinus officinalis* L, asimismo, es conocido con su nombre común de romero.²¹

Estudios farmacológicos y terapéuticos sobre el romero (*Rosmarinus officinalis* L) han demostrado su capacidad: Como aceite esencial, extracto etanólico, acuoso, hidroetanólico, siendo sus diferentes actividades como: antibacteriana, antiviral, antioxidante, antiparasitaria, antiinflamatoria, diurética, como actividades en el sistema nervioso central (Estimulador, mejorador de la memoria liberador de

dopamina, captación de moniaminas, citoprotectores, activación neuronal, inhibición de neurotransmisores), propiedades a nivel celular (Homeóstasis celular, crecimiento celular, regulación de ácidos grasos, aumenta la oxidación microsomal en hígado), reducción de lesión ulcerosa.²¹



Fuente: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/00/Rosmarinus_officinalis_-_K%C3%B6hler%E2%80%93Medizinal-Pflanzen-258.jpg

Los extractos de romero se han estudiado como posibles agentes terapéuticos contra diversas enfermedades. Varios estudios demostraron que *R. officinalis* exhibe efectos hepatoprotectores, antihiper glucémicos, antifúngicos, antitumorales y antiulcerogénicos. Además, se informa que tiene actividades antioxidantes y antimicrobianas. Se cree que estas propiedades se deben al alto contenido de fitoquímicos como el ácido carnósico, el ácido rosmarínico o el ácido clorogénico. En los extractos orgánicos de romero, los derivados de diterpenos, alcanfor, ácido urólico, ácido carnósico, rosmanol y ácido rosmarínico se consideran los principales compuestos fenólicos. Las diferentes composiciones fenólicas son responsables de las propiedades antimicrobianas de los extractos de romero. En el extracto acuoso, dominan el carnosol, el rosmanol, el ácido carnósico, el carnosato de metilo y varios flavonoides.²²

La literatura indica que está compuesto por el ácido carnósico y carnosol obtenidos de las hojas de romero, las cuales inhiben la expresión del gen RNAlII y psm α inducida por AIP en cepas de *S. aureus*, afectando así el quórum, el cual es el

mecanismo por el cual las bacterias detectan, se comunican y responden a su propia densidad celular.⁹

Las hojas del romero tienen presencia de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas y alcaloides, los cuales tienen propiedad antibacteriana frente a bacterias gram positivas y gram negativas.¹²

La actividad antibacteriana y antiviral de una molécula está completamente asociada a los compuestos que matan provincialmente a las bacterias y los virus o ralentizan su ritmo de crecimiento, sin ser ampliamente tóxicos para los tejidos cercanos.²³

Cualquier cosa que destruya las bacterias o suprima su crecimiento o su capacidad de reproducción. El calor, los productos químicos como el cloro y los medicamentos antibióticos tienen propiedades antibacterianas. Actualmente se venden muchos productos antibacterianos para la limpieza y el lavado de manos. Dichos productos no reducen el riesgo de aparición de síntomas de enfermedades infecciosas virales en personas por lo demás sanas. Esto no excluye la posible contribución de los productos antibacterianos a la reducción de los síntomas de las enfermedades bacterianas en el hogar.²⁴

El mecanismo de acción de los extractos de romero actúa afectando la bicapa lipídica de las bacterias y ello, gracias al carvacrol y el timol, los cuales son atraídos químicamente por los fosfolípidos de la membrana citoplásmica bacteriana y esta interacción promueve la pérdida de integridad de la membrana y la pérdida de material celular, como iones, trifosfato de adenosina (ATP) y material genético.²⁵

La boca alberga un exceso de 700 especies bacterianas, que se adaptan a sus nichos ecológicos intrínsecamente distintos. Es así que, más del 50% de estas especies colonizan la bolsa periodontal y los restos se distribuyen por otros sitios de la cavidad oral. En la boca de cualquier persona están presentes aproximadamente 100-200 de estas más de 700 especies, con 50 de ellas alojadas en la bolsa periodontal. Aunque la ecología de la flora oral es muy diversa, tiene el sello de alto equilibrio llamado homeostasis microbiana. Esto es de gran importancia para la salud bucodental, ya que garantiza que se reduzca el número de microbios potencialmente patógenos. Agitaciones sustanciales en el entorno oral, incluidos los cambios de pH, alteran la homeostasis microbiana y promueven condiciones patológicas, como caries dental y periodontitis.²⁶

El *Staphylococcus aureus* es el único miembro del grupo de los estafilococos que causa infecciones cutáneas clínicamente relevantes en individuos inmunocompetentes.^{1,4}

La localización natural de *S. aureus* es la mucosa nasal y la región perianal, mientras que la piel sana sólo se coloniza de forma pasiva. En la población normal, alrededor del 15±20% está permanentemente colonizado por *S. aureus*, el 50±70% está colonizado de forma pasiva y sólo el 15±20% no está colonizado nasalmente. Los diferentes patrones de colonización dependen de una serie de factores individuales, como la edad, el sexo, la raza, los factores genéticos (patrones HLA), las enfermedades subyacentes (diabetes mellitus, eczema crónico, diátesis atópica) u hospitalización. Aunque la colonización no tiene ningún valor de enfermedad primaria, los portadores tienen un riesgo inherente mayor de enfermedades cutáneas estafilocógenas o infecciones de heridas. Entre el 70 y el 90% de los pacientes con dermatitis atópica presentan una colonización de la piel por *Staphylococcus aureus*. Por lo tanto, se ven afectados con mucha más frecuencia que los que no lo son. Los receptores bacterianos para la fibronectina y el fibrinógeno epidérmicos y dérmicos permiten una mayor adhesión de patógenos cuando la función de barrera de los pacientes con eczema está deteriorada. Se han demostrado estructuras fibrilares y amorfas que forman una biopelícula entre las células de *S. aureus* y los corneocitos. *S. aureus* es capaz de penetrar en los espacios intercelulares de la epidermis rodeando los lípidos antibacterianos de la superficie de la piel. Los factores inmunológicos también parecen estar implicados: *S. aureus* coloniza preferentemente las zonas de la piel donde se produce la inflamación mediada por Th2.^{1,4}

Las vías de transmisión se dan por contacto directo (infección por frotis), contacto con superficies y ropa contaminada, autoinoculación (infección endogénica) desde la nasofaringe. Se puede dar transmisiones entre pacientes y personal médico en consultorios, salas de enfermería y hospitales.¹

Así mismo, posee diversos factores de virulencia compuestos por su estructura, las enzimas y toxinas que presenten, repercutiendo en lo que determina su posible resistencia a los antibióticos.

Estructuralmente está compuesto de mureína, ácido teicoico, exopolisacárico, proteína A y coagulasa ligasa. También tiene la presencia de toxinas α , β , γ y δ ,

leucotoxinas, exfoliatina, toxina 1 del síndrome del shock séptico, enterotoxinas, exoenzimas, catalasa, coagulasa libre, fibrinolisisina, hialuronidasa, lipasa y nucleasas. Además, presenta resistencia a los antimicrobianos mediante betalactamasas y la alteración de la PBP.¹

La mucositis estafilocócica oral, es una inflamación de la mucosa con sensación de ardor u hormigueo. se caracteriza por atrofia del epitelio escamoso, daño vascular, infiltración inflamatoria y ulceración. suele producirse en el revestimiento mucoso de la boca, el tracto gastrointestinal o las vías respiratorias debido a irritaciones químicas, quimioterapia o radioterapia.⁵

La mucositis puede aparecer en cualquier mucosa del cuerpo: boca (estomatitis), esófago (esofagitis), intestino (enteritis), recto (proctitis) y mucosa genital. Predispone a la aparición de infecciones secundarias (sobre todo en pacientes con neutropenia) así como dificultad para la alimentación.²⁷

Un evento iniciador (por ejemplo, un traumatismo mecánico o una infección) provoca el daño y la muerte de las células epiteliales basales y la liberación de mediadores endógenos (fase de iniciación) que sustentan la segunda fase del proceso. En la fase de regulación/activación, la activación de la respuesta inmunitaria innata y la regulación al alza de varias vías inflamatorias, como la vía del factor nuclear Kappa-B (NF-kB) inducen la liberación de otras moléculas que agravan o prolongan prolongando la lesión tisular (fase de amplificación de la señal de la señal). Por ejemplo, el factor de necrosis tumoral a sostiene con un bucle de retroalimentación positiva la producción de citoquinas relacionada con el NF-kB. La destrucción progresiva de la mucosa da lugar a la ulceración, que es la fase más importante y clínicamente significativa.²⁸

Las bacterias colonizan las úlceras y estimulan aún más el ambiente inflamatorio local a través de la acción directa e indirecta (por ejemplo, mediada por endotoxinas) de los macrófagos infiltrados, que amplían el daño a la mucosa. Finalmente, la señalización de la matriz extracelular submucosa da lugar a la proliferación, diferenciación y engrosamiento del epitelio con una completa restitutio ad integrum (fase de curación). Los criterios de toxicidad del NCI (National Cancer Institute) influyen en la gravedad de la mucositis oral afectando la calidad de vida de los pacientes:

Grado 0 = No Mucositis

Grado 1 = Eritema, dolor moderado, úlceras no dolorosas

Grado 2 = Eritema con edema y úlceras dolorosas pero que permiten la ingesta oral

Grado 3 = No es posible la ingesta oral

Grado 4 = Requiere nutrición enteral o parenteral.^{5,27,28}

2.3. Hipótesis

Hipótesis de investigación:

El extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) presenta efecto antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021

Hipótesis Estadística:

H0 = El extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) no presenta efecto antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021

Ha = El extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) si presenta efecto antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021

III. METODOLOGÍA

3.1. Nivel, Tipo y Diseño de investigación

Tipo:

Según el enfoque: **Cuantitativo**

Según Hernández.²⁹ El propio investigador en base a datos numéricos recolectó datos para probar las hipótesis de investigación, y mediante el análisis estadístico se darán valides a lo planteado. Todos los datos se recolectaron en hojas de recolección de datos, plasmando datos numéricos de los halos de inhibición.

Según la intervención del investigador: **Experimental**

Según Hernández y Ortiz.^{29,30} Es experimental porque hay intervención del investigador. El investigador y equipo colaborador intervino en el experimento por medio de pautas y protocolos establecidos desde el recojo del espécimen (*Rosmarinus officinalis*) y su procesamiento a extracto hidroetanólico, consiguientemente, el cultivo de las cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™) y el enfrentamiento ante el extracto hidroetanólico, control positivo y negativo.

Según la planificación de la toma de datos: **Prospectivo**

Según Ñaupás.³¹ porque se registrará la información según ocurran los fenómenos. El trabajo de investigación se analizó trascurrido un determinado tiempo, es decir en el futuro, porque el cultivo, el enfrentamiento y los datos que se obtuvieron tomó unos días realizarlo.

Según el número de ocasiones que se mida la variable: **Transversal**

Según Hernández.²⁹ porque la información es tomada en un momento dado del tiempo. La medición se realizó una sola vez, finalizando el experimento se midió los respectivos halos de inhibición.

Según el número de variables de interés: **Analítico**

Según Domínguez J.³² porque el estudio se centra en una relación causa-efecto. Refiere que un estudio analítico es cuando se tiene dos a más variables de estudio a medir.

Nivel:

La presente investigación posee un Nivel Explicativo:

Según Hernández.²⁹ coincide con este nivel debido a que fue elaborado con el fin de explicar las relaciones de causa-efecto. Las hipótesis planteadas se demostraron

mediante la experimentación pura, determinando el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™).

Diseño:

Experimental, experimento puro (experimental verdadero)

Según Hernández R, Fernández C, Baptista M.^{29,30} manifiestan que un estudio fue de diseño experimental cuando se emplean determinadamente una o más variables, vinculadas a las causas, para medir el efecto que tienen en otra variable de interés; diseño con grupo control sólo después (post-test).

3.2. Población y muestra

La población estuvo conformada por cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo – 2021.

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Cajas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus*.

Criterios de exclusión

- Cajas Petri inoculadas con *Staphylococcus aureus* con signos de contaminación o contaminados durante el procedimiento de experimentación.

Muestra: Para determinar el tamaño de la muestra se hizo uso de la siguiente fórmula para el tamaño de muestra comparando medias, dada por:

$$n = \frac{2 \left(Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta} \right)^2 S^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}$$

Dónde:

n = tamaño de muestra necesario para cada grupo.

$Z(\alpha/2) = 1.96$; coeficiente de la distribución normal para un $\alpha = 0.05$

$Z\beta = 0.83$; coeficiente de la distribución normal para un $\beta = 0.20$

$S = 0.80$ ($(X_1 - X_2)$) el cual es un valor asumido por no haber información sobre los valores paramétricos en estudios similares.

Reemplazando obtenemos:

$$n = \frac{2 \left(Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta} \right)^2 S^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}$$

$$n = \frac{2(1.96 + 0.83)^2(0.80) * (\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}$$

$$n = \frac{2(1.96 + 0.83)^2(0.80)^2(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^2}$$

$$n = 2(2.79)^2(0.80)^2$$

$$n = 2 * 7.78 * 0.64$$

$$n = 9.96$$

$$n = 9.96 \approx 10 \text{ repeticiones}$$

Por lo tanto, la muestra estuvo conformada por n = 10 repeticiones por cada grupo.

3.3. Variables. Definición y operacionalización

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERATIVA	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	CATEGORÍAS O VALORACIÓN
Efecto antibacteriano sobre <i>S. aureus</i>	Capacidad de alguna sustancia para disminuir o reducir el crecimiento de <i>S. aureus</i> .	-	Escala de Duraffourd (mm)	Cuantitativa - Razón	1: Nula (<8 mm) 2: Sensible (8 a 14 mm) 3: Muy sensible (14 a 20 mm) 4: Sumamente sensible (>20 mm)
COVARIABLE	DEFINICIÓN OPERATIVA	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	CATEGORÍAS O VALORACIÓN
Extracto hidroetanólico de romero (<i>R. officinalis</i>)	Preparación líquida concentrada obtenida por disolventes adecuados a base de etanol y <i>Rosmarinus officinalis</i> cuyo contenido son diversos principios activos de este espécimen.	-	Concentración del extracto hidroetanólico	Cuantitativa - Razón	1: 50% 2: 70%

3.4 Técnica e instrumentos de recolección de información

Técnica de recolección de datos

Técnica: Observación Microbiológica aplicando método de Kirby Bauer.

Instrumento de medición

El instrumento de medición para este estudio fue un Vernier, el cual es un instrumento calibrado diseñado para medir la unidad de medida de longitud y confiable porque es un instrumento calibrado, certificado con el estándar de calidad ISO 9001, de marca STANLEY modelo Cali per Stanley 4-18-226.

Los halos de inhibición fueron registrados en una ficha de recolección de datos elaborada para el estudio. (Anexo 1).

Protocolos:

Recolección e identificación taxonómica de las hojas de *R. officinalis*

Se realizó una colección de hojas de *R. officinalis*. Procedencia de la localidad centro cuatro distritos Agallpampa provincia de Otuzco, departamento La Libertad, Perú, con coordenadas geográficas habita chacra huerta familiar, suelos negros estercolados de humificación variable. Altitud 3117m.s.n.m. Colector. Acuña Cuzma Segundo Pablo. Las hojas colectadas fueron colocadas en bolsas de polietileno para su traslado y se descartaron las hojas que por acción mecánica hayan sido arrancadas o que presenten daños microbiológicos. Se llevó la muestra al herbario “Herbarium Truxillense” de la Universidad Nacional de Trujillo, para su identificación y verificación taxonómica. Recolección e identificación taxonómica de las hojas de *R. officinalis*.

Preparación de la muestra vegetal

Se lavó 3 kg de las hojas frescas de *R. officinalis* con agua potable y agua destilada y se desinfectó con etanol al 96%. Luego, lo obtenido se cortó y se colocó en una bolsa de papel Kraft. Posteriormente se llevó a secar a una estufa de 50 °C por 4 horas. Una vez seca las muestras de hojas, se procedió a reducir el tamaño de la muestra con la ayuda de un molino eléctrico hasta obtener un polvo grueso y luego se pasó a través de un set de tamices para homogenizar el tamaño de partículas.¹³

Preparación del extracto etanólico de *R. officinalis*

En un envase estéril de vidrio ámbar de boca ancha de 4 litros de capacidad, se colocaron 137 g de polvo aproximadamente. Luego, se añadió 1500 mL del solvente etanol: agua en una relación de (7:3). Se mezcló bien y se tapó el recipiente. Luego

se maceró en ausencia de luz por 7 días, agitándose 10 minutos, dos veces al día. Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el líquido obtenido con gasa y algodón en un embudo con matraz. A continuación, el extracto hidroetanólico se concentró por aire caliente no mayor a 50°C en placas de Petri, llamándose al producto resultante extracto seco.¹³

Preparación de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *R. officinalis*

A partir del extracto seco se prepararon las concentraciones de 125 mg/mL, 250mg/mL y 500 mg/mL peso/volumen, disueltas en agua destilada estéril. Luego, cada concentración del extracto fue esterilizado por filtración con membrana, usando filtros Millipore de 0.4 µm y 0.22 µm. Finalmente, las concentraciones preparadas, del extracto etanólico, se colocaron en viales ámbar de 10 mL y fueron almacenadas a 4°C hasta su posterior utilización.¹³

Evaluación del efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021

Reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 23235

En la presente investigación se empleó un cultivo liofilizado de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 23235. La reactivación se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusión (BHI), luego se incubó a 37°C, por 24 – 48 horas.¹³

Para evaluar pureza se sembró por estría en Agar TSA e incubó a 37°C por 24 –48 horas. Posteriormente se eligió una colonia compatible con *Staphylococcus* para realizar coloración gram. A partir de una colonia se sembró en caldo BHI y en Agar Tripticosa Soya (TSA), y se conservó hasta su posterior empleo.¹³

Para la evaluación del efecto antibacteriano, del extracto hidroetanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 23235, mediante el método de difusión en agar. Se procedió de la siguiente manera:

Estandarización del inóculo de *S. aureus* ATCC 23235.

La cepa de *S. aureus* ATCC 23235 mantenida en Caldo BHI se sembró en Agar TSA, se incubó a 37° C durante 24 horas. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias se diluyó en solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número

0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 ufc/mL).¹³

Inoculación de las placas

Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de la turbidez del inóculo (1.5×10^8 ufc/ml), se tomó una alícuota de 100µl y se colocó en cada una de las placas con Agar Müeller Hinton, con un hisopo estéril sumergido en la suspensión se distribuyó la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para eliminar cualquier exceso de humedad superficial).¹³

Actividad antibacteriana del extracto hidroetanólico

Luego, con un sacabocados estéril se perforó el medio de cultivo buscando obtener un pozo de 6 mm de diámetro, con bordes uniformes y hasta el fondo de la caja de Petri. Se realizaron 4 pozos por placa. En cada pozo se colocaron 50 uL de cada uno del extracto hidroetanólico de romero a concentraciones de 50 y 70% respectivamente.

Se empleó como control positivo Gluconato de clorhexidina al 0.12% y como control negativo Dimetilsulfóxido 1 %.¹³

Incubación:

Se incubaron las placas dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los extractos, a 37°C durante 24 y 48 horas.¹³

Lectura de los resultados

Después del tiempo de incubación de 24 a 48 horas se examinó cada placa, y se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada pozo según el producto a evaluar, para lo cual se utilizó vernier, abarcando el diámetro del halo. Las mediciones de los halos de cada placa fueron registradas en la ficha de recolección de datos.¹³

3.5 Método de análisis de datos

Con el fin de analizar los resultados se empleó tablas de una entrada con valores absolutos, media y desviación estándar y Figuras de barras.

Al determinar si existe una diferencia en el efecto antibacteriano de las concentraciones hidroetanólicos de Romero, tanto al 50% y 70%, pasó por prueba de normalidad con el fin de determinar la aplicación de la prueba estadística Anova o prueba estadística Kruskal Wallis.

Se contó con el apoyo de una hoja de cálculo de Microsoft Excel y el programa Statgraphics Centurión.

3.6 Aspectos éticos

La presente investigación cumplió con el 25% de similitud máxima en el informe final de la tesis que fue presentada para la sustentación.

Asimismo, se respetaron los principios éticos indicados en el Reglamento de Integridad Científica en la Investigación en su versión 001:

- Respeto y protección de los derechos de los intervinientes, su dignidad, privacidad y diversidad cultural.
- Protección a la libertad de elección y respeto de la autonomía de cada participante a través de su manifestación voluntaria, inequívoca e informada de participación.
- Cuidado del medio ambiente, respetando el entorno, protección de especies y preservación de la biodiversidad y naturaleza.
- Libre participación por propia voluntad y a estar informado de los propósitos y finalidades de la investigación en la que participan de tal manera que se exprese de forma inequívoca su voluntad libre y específica.
- Búsqueda de beneficencia, no maleficencia, asegurando el bienestar de los participantes a través de la aplicación de los preceptos de no causar daño, reducir efectos adversos posibles y maximizar los beneficios.
- Difusión responsable de la investigación con veracidad y justicia.
- Respeto y cumplimiento de normativa nacional e internacional.
- Rigor científico e integridad.
- Integridad científica que permita la objetividad, imparcialidad y transparencia durante la investigación y con los hallazgos encontrados.
- Justicia a través de un juicio razonable y ponderable que permita la toma de precauciones y limite los sesgos, así también, el trato equitativo con todos los participantes.³²

IV. RESULTADOS

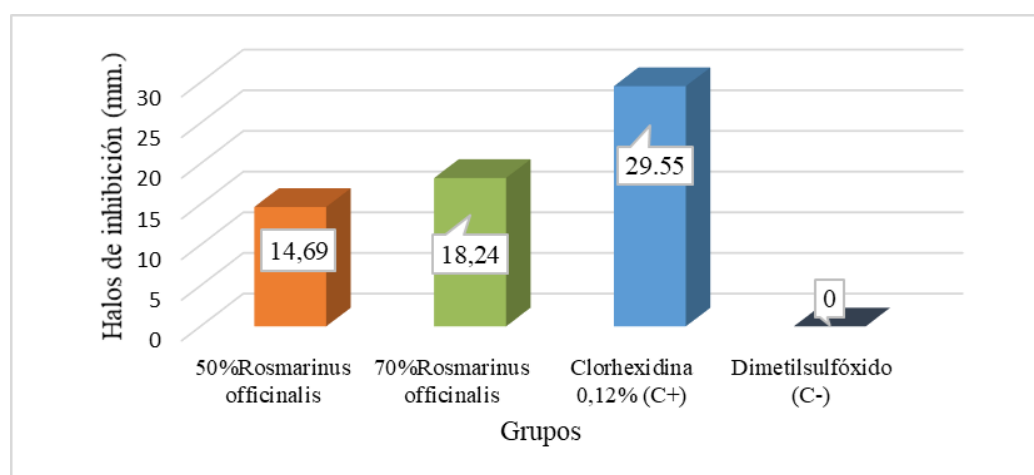
4.1. Resultados

Tabla 1: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021

Concentración de <i>Rosmarinus officinalis</i>	f	Halos de inhibición (mm.)			
		Media	Mínimo	Máximo	Desviación Estándar
50%	10	14,69	13	15,1	0,58
70%	10	18,24	17	20	0,84
Clorhexidina 0,12% C+	10	29,55	28	31	0,89
Dimetilsulfóxido 1% C-	10	0,00	0	0	0,00

Fuente: Datos propios obtenidos de medición.

p*: prueba Kruskal Wallis **p=0,000**



Fuente: Datos obtenidos de la tabla 1

Figura 1: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021.

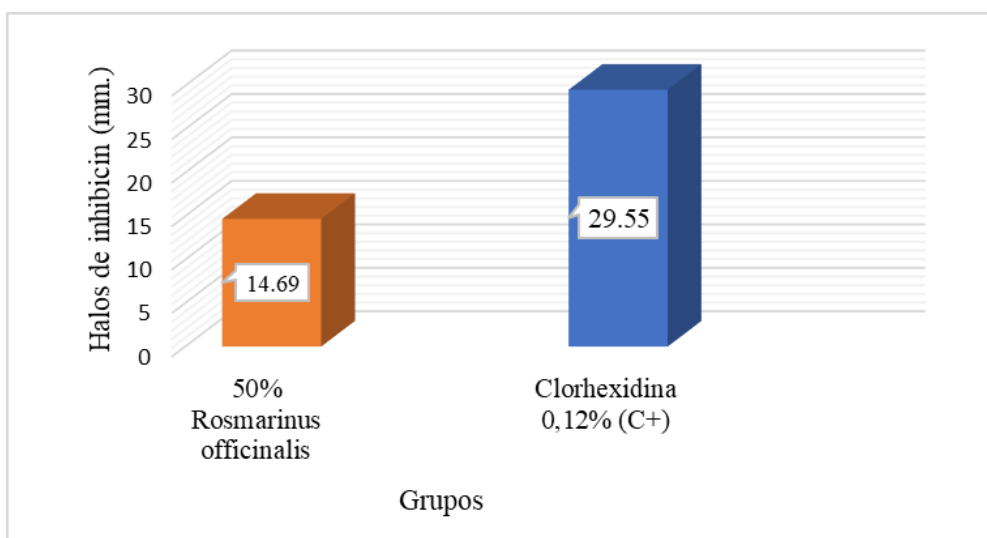
Interpretación: La tabla 1 indicó que, el extracto hidroetanólico de romero al 50% presentó un halo inhibitorio promedio de 14,69 mm, en la concentración al 70% obtuvo un halo inhibitorio de 18,24 mm, asimismo, la clorhexidina al 0,12% obtuvo un halo de 29,55 mm. Además, empleado la prueba no paramétrica Kruskal Wallis, obtuvo un nivel de significancia de $p = 0,000 < 0,05$, lo cual indicó que existe diferencia entre los grupos estudiados.

Tabla 2: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 50% y Clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021

	Grupos	
	<i>Rosmarinus officinalis</i> 50%	Clorhexidina 0,12% C+
Media de formación de halos de inhibición (mm.)	14,69	29,55
D.E.	0,58	0,89

Fuente: Datos propios obtenidos de medición.

p*: prueba Kruskal Wallis **p=0,000**



Fuente: Datos obtenidos de la tabla 2

Figura 2: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 50% y Clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021.

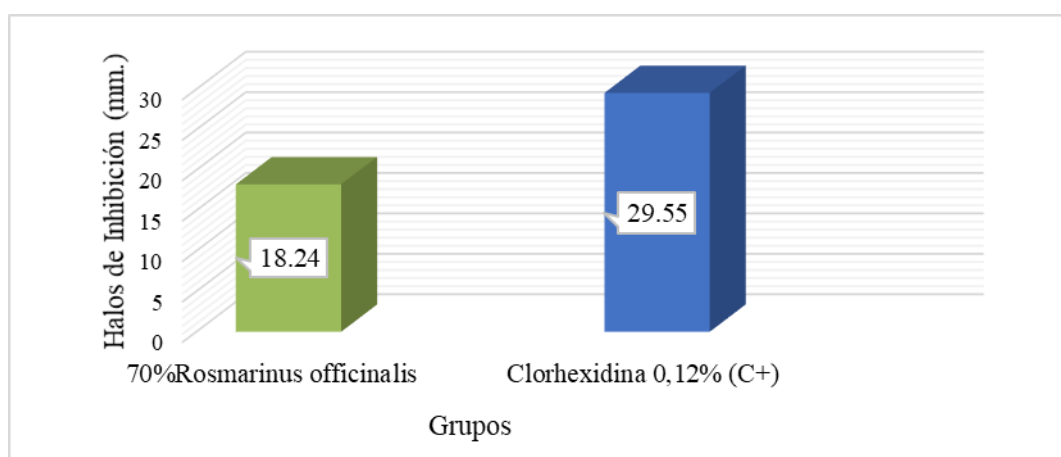
Interpretación: La tabla 2 indicó que, el extracto hidroetanólico de romero al 50% obtuvo un halo promedio de 14,69 mm y la clorhexidina un halo de 29,55 mm. Al aplicar la prueba de Kruskal Wallis se obtuvo un nivel de significancia de $p = 0,000 < 0,05$, la cual indicó que hubo diferencias significativas entre ambas comparaciones.

Tabla 3: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 70% y Clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021

	Grupos	
	<i>Rosmarinus officinalis</i> 70%	Clorhexidina 0,12% C+
Media de formación de halos de inhibición (mm.)	18,24	29,55
D.E.	0,84	0,89

Fuente: Datos propios obtenidos de medición. .

p*: prueba Kruskal Wallis **p=0,00**



Fuente: Datos obtenidos de la tabla 3

Figura 3: Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 70% y Clorhexidina al 0.12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021.

Interpretación: La tabla 3 indicó que, el extracto hidroetanólico de romero al 70% obtuvo un halo promedio de 18,24 mm y la clorhexidina un halo de 29,55 mm. Al aplicar la prueba de Kruskal Wallis se obtuvo un nivel de significancia de $p = 0,000 < 0,05$, la cual indicó que hubo diferencias significativas entre ambas comparaciones.

4.2. Discusión

1. Al determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021, se demostró que ambas concentraciones de extracto hidroetanólico presentaron efecto antibacteriano, y según la escala de Duraffourd, las cepas de *S. aureus* se presentaron muy sensibles al extracto de romero al 50% y 70%. Estos resultados pudieron darse debido a los componentes extraídos de las hojas de romero, tales como el ácido carnósico y carnosol, tal como lo menciona el investigador Nakagawa S, et al.¹¹ (EE. UU, 2020), indicando que el ácido carnósico y carnosol obtenidos de las hojas de romero inhiben la expresión del gen RNAlII y *psmA* inducida por AIP en cepas de *S. aureus*, afectando así el quórum, el cual es el mecanismo por el cual las bacterias detectan, se comunican y responden a su propia densidad celular.⁹ Estos resultados fueron corroborados por los estudios de Bowbe K, et al.⁸ (Arabia Saudita, 2023), donde el aceite esencial de romero presentó efecto antibacteriano frente a *S. aureus*, Hijazeen M.⁹ (Jordania, 2022), indicó que el extracto de romero presentó efecto antibacteriano contra *S. aureus*, y Aguilar C.¹⁶ (Trujillo, 2019), informó que el *S. aureus* extracto el 75% de romero obtuvo efecto antibacteriano en la desinfección de cepillos dentales, el cual pudo darse debido al alto contenido de fitoquímicos como se mencionó anteriormente como el ácido carnósico, el ácido rosmarínico o el ácido clorogénico. Asimismo, en los extractos orgánicos de romero, los derivados de diterpenos, alcanfor, ácido urólico, ácido carnósico, rosmanol y ácido rosmarínico se consideran los principales compuestos fenólicos.²² Por otro lado, según la escala de Duraffourd, estos resultados discrepan de los estudio de Cecchini M, et al.¹² (Argentina, 2018), donde *S. aureus* presentó poca sensibilidad (10 mm) al extracto etanólico de romero, Rodenas D, et al.¹⁴ (Lima, 2018), ya que el *S. aureus* presentó poca sensibilidad (13,6 mm) al extracto etanólico de romero al 50%, y Manilal A, et al.¹⁰ (Etiopia, 2020), que demostró que el *S. aureus* fue sumamente sensible al extracto etanólico al 100% (23,6 mm). Por otro lado, estudios como los de Loarte A.¹³ (Cerro de Pasco, 2019), Vigil Y.¹⁵ (Trujillo, 2019), demostraron que el colutorio a base de romero al 2%, el extracto hidroetanólico al 50% y el aceite esencial de las hojas de romero presentan efecto antibacteriano en bacterias gram positivas como el *S. mutans* y el *E. faecalis*. Estos resultados se pudieron dar debido a que en las hojas del romero hay presencia de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas, taninos,

cumarinas y alcaloides, los cuales tienen propiedad antibacteriana frente a bacterias gram positivas y gram negativas,¹⁴ sin embargo, en algunas presentaciones como el estudio de Figueroa B.¹⁷ (Trujillo, 2018), indicó que el *S. aureus* no presentó sensibilidad al aceite esencial de romero al 25%, 50% y 75%, pero al 100% obtuvo poca sensibilidad (8,2 mm), lo cual pudo darse debido a que en aceites esenciales dichos metabolitos secundarios no expresan su propiedad antibacteriana en su totalidad, lo cual pudo influir en sus resultados.

2. Al comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 50%, 70% y la clorhexidina al 0,12% frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021, se observó que *S. aureus* se presentó sumamente sensible a la clorhexidina al 0,12% con un halo de inhibición promedio de 29,55 mm, mientras que al extracto hidroetanólico de romero al 50% y 70% se presentaron muy sensibles, demostrando así una mayor sensibilidad en la clorhexidina, lo cual pudo darse debido a que éste une fuertemente a la membrana celular bacteriana, lo que a bajas concentraciones produce un aumento de la permeabilidad con filtración de los componentes intracelulares incluido el potasio, y en concentraciones más altas produce la precipitación del citoplasma bacteriano y muerte celular.³¹ Sin embargo, los extractos de romero han demostrado grandes efectos antibacterianos similares a la clorhexidina al 0,12% en bacterias gram positivas, como en los estudios de Vigil Y.¹⁵ (Trujillo, 2019) donde el extracto hidroetanólico de romero al 75% y el aceite esencial al 75% se presentaron sumamente sensibles frente a *S. mutans* (25,3 mm) y *E. faecalis* (20,45 mm), lo cual pudo darse debido a que el mecanismo de acción de los extractos de romero actúan afectando la bicapa lipídica de las bacterias y ello, gracias al carvacrol y el timol, los cuales son atraídos químicamente por los fosfolípidos de la membrana citoplásmica bacteriana y esta interacción promueve la pérdida de integridad de la membrana y la pérdida de material celular, como iones, trifosfato de adenosina (ATP) y material genético.²⁴

V. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 50% y 70% presentaron efecto antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021
2. La clorhexidina al 0,12% presentó mayor efecto antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo – 2021 en comparación del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 50%.
3. La clorhexidina al 0,12% presentó mayor efecto antibacteriano frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo – 2021 en comparación del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) al 70%.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda, realizar un estudio similar, pero en diferentes bacterias responsables de las enfermedades periodontales con el propósito de verificar la sensibilidad del extracto hidroetanólico de romero.
- Se recomienda, evaluar el efecto del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) en diferentes concentraciones o presentaciones de uso odontológico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Liebana J. Microbiología Oral. Segunda Ed. McGraw-Hill - Interamericana de España, editor. España; 2014. 710 p.
2. Diaz M, Gueorguivera M, Marquez R. Enfermedades bucales con repercusión sistémica. Odontol Sanmarquina. [Internet]. 2004 [Citado el 15 de febrero 2022]; 8(13). Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/3381/5877>
3. Alvares I, Jorge P. *Staphylococcus aureus*, evolución de un viejo patógeno. Rev. Cub. Pediatr. [Internet]. 2012 [Citado el 15 de febrero 2022]; 84(4): 383–91. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312012000400007
4. Deutschen D, Gesellschaft D, Dermatologische È, Adi I, Reimann H, Shah P, et al. Staphylokokken-Infektionen der Haut È ute und Schleimha. aktueller Stand. [Internet]. 2011 [Citado el 15 de febrero 2022]: 726–34. Disponible en: https://dgpi.de/wp-content/uploads/2013/04/013-0381_S2k_Staphyococcus_aureus_2011-09.pdf
5. Pereira H, Lima A, Dos Santos J, Costa K. Papel de los *Staphylococcus spp.* en la mucositis oral: revisión de la literatura. Act. Odontol. Venez. [Internet]. 2011 [Citado el 15 de febrero 2022]; 49(3): 1–6. Disponible en: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_aov/article/view/9551/9346
6. Bowen J, Al-Dasooqi N, Bossi P, Wardill H, Van Sebille Y, Al-Azri A, et al. The pathogenesis of mucositis: updated perspectives and emerging targets. Support Care Cancer. [Internet]. 2019 [Citado el 15 de febrero 2022]; 27(10): 4023–33. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00520-019-04893-z>
7. Khin M, Knowles SL, Crandall WJ, Jones DD, Oberlies NH, Cech NB, et al. Capturing the antimicrobial profile of *Rosmarinus officinalis* against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with bioassay-guided fractionation and bioinformatics. J. Pharm. Biomed. Anal. [Internet] 2021 [Citado el 15 de febrero 2022]; 197: 113965. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708521000777>
8. Bowbe K, Salah K, Moumni S, Ashkan MF, Merghni A. Anti-Staphylococcal Activities of *Rosmarinus officinalis* and *Myrtus communis* Essential Oils through

- ROS-Mediated Oxidative Stress. Antibiotics. [Internet] 2023 [Citado el 25 de mayo 2023]; 12 (2): 266. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/2/266>
9. Hijazeen M. Anti-bacterial effect of *Rosmarinus officinalis* Linn. extract and *Origanum syriacum* L. essential oil on survival and growth of total aerobic bacteria and *Staphylococcus aureus* using cooked chicken meat. Food. Sci. Technol. [Internet] 2022 [Citado el 25 de mayo 2023]; 42 (1). Disponible en: <https://www.scielo.br/j/cta/a/89NT5t3c79FSYgWwdLjPxn/?lang=en#>
 10. Manilal A, Sabu K, Shewangisaw M, Aklilu A, Seid M, Merdekios B, Tsegaye B. In vitro antibacterial activity of medicinal plants against biofilm-forming methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: efficacy of *Moringa stenopetala* and *Rosmarinus officinalis* extracts. Rev. Heliyon. [Internet] 2020 [Citado el 15 de febrero 2022]; 6(1). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844020301481>
 11. Nakagawa S, Hillebrand GG, Nunez G. *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) Extracts Containing Carnosic Acid and Carnosol are Potent Quorum Sensing Inhibitors of *Staphylococcus aureus* Virulence. Antibiotics (Basel). [Internet] 2020 [Citado el 15 de febrero 2022]; 9(4): 149. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7235817/>
 12. Cecchini M, Roma D, Pussetto L, Iglesias D, Basualdo M, Aiassa D, et al. Evaluación in vitro de las actividades antimicrobiana, antioxidante y protectora del ADN, de un extracto etanólico de romero (*Rosmarinus officinalis* L.). Rev. Analec. Vet. [Internet] 2018 [Citado el 15 de febrero 2022]; 38 (2): 1-9. Disponible en: <https://revistas.unlp.edu.ar/analecta/article/view/4974/5148>
 13. Loarte A. Efecto antibacteriano del *Rosmarinus Officinalis* en la disminución del *Streptococcus mutans*, adolescentes entre los 12 y 15 años de edad, Cerro de Pasco del 2018 [Tesis]. Perú: Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión. Facultad de Odontología; 2019. Disponible en: http://repositorio.undac.edu.pe/bitstream/undac/1803/1/T026_71563804_T.pdf
 14. Rodenas D, Rodríguez A. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de tallos de *Rosmarinus officinalis*. L (Romero) en cultivos de “*Staphylococcus aureus*” estudio in vitro [Tesis]. Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2018. Disponible en: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2632/TESIS_DIANA

- %20CAROLINA_%26_AIDELY%20RODRIGUEZ.pdf?sequence=3&isAllowed=y
15. Vigil Y. Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico mixto de *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Trujillo-2018 [Tesis]. Perú: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Facultad de Odontología; 2019. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/15677/ANTIBACTERIANO_MUTANS_VIGIL_CONTRERAS_YVIS_PAMELA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 16. Aguilar C. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) en la desinfección de cepillos dentales [tesis]. Perú: Universidad Privada Antenor Orrego. Facultad de Estomatología; 2019. Disponible en: https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/20.500.12759/5774/1/RE_ESTO_CYNTHIA.AGUILAR_EFECTO.ANTIBACTERIANO_DATOS.pdf
 17. Figueroa B. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina [Tesis]. Perú: Universidad Cesar Vallejo. Facultad de Ciencias Médicas; 2018. Disponible en: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25402/figueroa_db.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 18. Günther M, Karygianni L, Argyropoulou A, Anderson AC, Hellwig E, Skaltsounis AL, Wittmer A, Vach K, Al-Ahmad A. The antimicrobial effect of *Rosmarinus officinalis* extracts on oral initial adhesion ex vivo. Clin. Oral. Investig. [Internet] 2022 [Citado el 23 de julio 2023]; 26 (6): 4369-4380. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9203371/#:~:text=officinalis%20extract%20has%20demonstrated%20a,such%20as%20caries%20and%20periodontitis>
 19. Karygianni L, Cecere M, Argyropoulou A, Hellwig E, Skaltsounis AL, Wittmer A, Tchorz JP, Al-Ahmad A. Compounds from *Olea europaea* and *Pistacia lentiscus* inhibit oral microbial growth. BMC. Complement. Altern. Med. [Internet] 2019 [Citado el 23 de julio 2023]; 19 (1): 51. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6390541/>

20. Muñoz M. Plantas medicinales españolas. Stud. Bot. [Internet]. 2002 [Citado el 15 de junio 2022]; 21 (1): 105–18. Disponible en: <http://revistas.usal.es/index.php/0211-9714/article/view/6111/6131>
21. Avila R, Navarro A, Vera O, Davila RM, Melgoza N, Meza R. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revisión de sus usos no culinarios. Cienc y Mar. [Internet]. 2011; 15(43): 23–36. Disponible en: <https://biblat.unam.mx/hevila/Cienciaymar/2011/no43/3.pdf>
22. Oliveira JR, Camargo SEA, de Oliveira LD. *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. J. Biomed. Sci. [Internet] 2019 [Citado el 23 de julio 2023]; 26 (1): 5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6325740/>
23. Singh K, Mishra A, Sharma D, Singh K. Antiviral and Antimicrobial Potentiality of Nano Drugs [Internet]. Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems. Elsevier Inc. [Internet]. 2019. 343–356 p. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-814029-1.00013-2>
24. Medical Definition of Antibacterial [Internet]. 2021 [citado el 7 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://www.medicinenet.com/antibacterial/definition.htm>
25. Oliveira J, Camargo S, Oliveira L. *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. Jour. Biomed. Sci. [internet] 2019 [Citado el 18 de febrero 2022]; 26 (5). Disponible en: <https://jbiomedsci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12929-019-0499-8>
26. Donkor ES, Kotey FC. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the Oral Cavity: Implications for Antibiotic Prophylaxis and Surveillance. Infect. Dis. (Auckl). [Internet] 2020 [Citado el 23 de julio 2023]; 13: 1178633720976581. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7739134/>
27. Cereda E, Caraccia M, Caccialanza R. Probiotics and mucositis. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. [Internet]. 2018 [citado el 19 de septiembre de 2021]; 21(5): 399–404. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29916923/>
28. Toxicidad de los tratamientos oncológicos - SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica. [Internet]. 2019 [citado el 19 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://seom.org/guia-actualizada-de-tratamientos/toxicidad-de-los-tratamientos-oncologicos?showall=1>

29. Hernández R, Fernández C, Baptista Lucio M del P. Metodología de la Investigación. 6ta Edición. Mexico: McGraw-Hill Interamericana Editores; 2014. 600 p.
30. Ortiz F. Diccionario de Metodología de la Investigación Científica. Mexico: Limusa; 2003. p. 174.
31. Ñaupas H, Mejía E, Novoa E, Villagómez A. Metodología de la investigación cuantitativa, cualitativa y redacción de la tesis. 2014. 538 p.
32. Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Reglamento de Integridad Científica en la Investigación. V 001. Aprobado por Consejo Universitario con Resolución N° 0304-2023-CU-ULADECH Católica. 2023.

ANEXOS

Anexo 01 Matriz de consistencia

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
<p>Problema general: ¿Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroetanólico de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021?</p> <p>Problemas específicos: 1. ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) al 50% y clorhexidina al 0,12% frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021? 2. ¿Cuál es el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) al 70% y clorhexidina al 0,12% frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021?</p>	<p>Objetivo general: Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021</p> <p>Objetivos específicos: 1. Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) al 50% y clorhexidina al 0,12% frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021 2. Comparar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) al 70% y clorhexidina al 0,12% frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021</p>	<p>Hipótesis de investigación: El extracto hidroetanólico de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) presenta efecto antibacteriano frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021</p> <p>Hipótesis Estadística: H0 = El extracto hidroetanólico de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) no presenta efecto antibacteriano frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021 Ha = El extracto hidroetanólico de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>) si presenta efecto antibacteriano frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021</p>	<p>Variable 1: Efecto antibacteriano sobre <i>S. aureus</i>.</p> <p>Covariable: Extracto hidroetanólico</p>	<p>Tipo de Inv: Cuantitativo, prospectivo, transversal, analítico y experimental.</p> <p>Nivel de Inv: Aplicativo.</p> <p>Diseño de Inv: Experimental.</p> <p>Población y muestra: La población estuvo conformada por cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021. La muestra estubo conformada por 10 repeticiones por grupo de estudio.</p> <p>Técnica e instrumento: La técnica fue la observación microbiológica y el instrumento fue un Vernier milimetrado.</p>

Anexo 02 Instrumento de recolección de información

“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANOLICO DE ROMERO (<i>Rosmarinus officinalis</i>) FRENTE A CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021, TRUJILLO 2021”				
EFECTO ANTIBACTERIANO EN MM (HALOS DE INHIBICIÓN)				
ENSAYO	Extracto hidroetanólico de romero (<i>Rosmarinus officinalis</i>)		CONTROL +	CONTROL –
	Concentración = 50% (mm)	Concentración = 70% (mm)	Clorhexidina al 0.12%	Dimetilsulfóxido al 1% (mm)
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				
11.				
12.				
13.				
14.				
15.				

Fuente: Elaborado por el propio autor; Acuña Cuzma, Segundo Pablo

(ORCID ID: 0000-0002-6023-9086)

ANÁLISIS DE NORMALIDAD

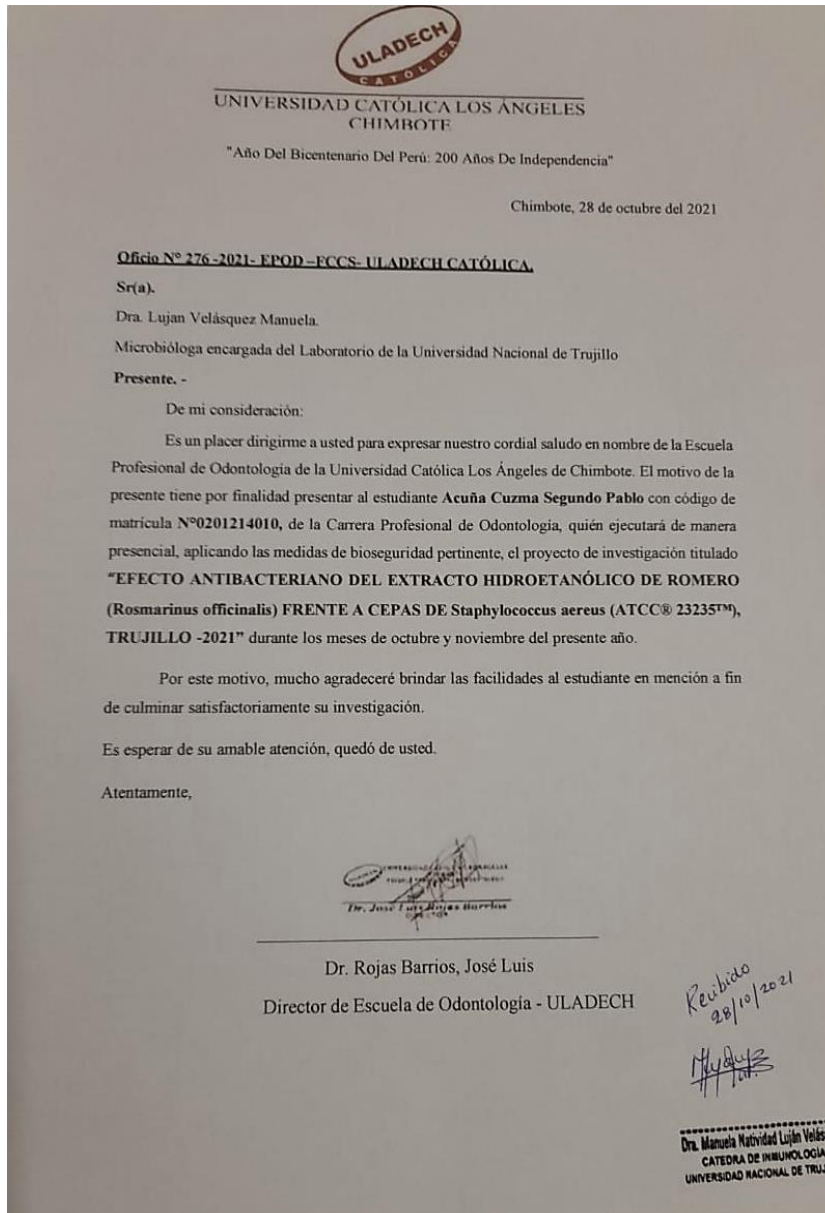
Prueba de Normalidad, Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), Trujillo - 2021

Ensayos	Concentración			
	50%	70%	C+	C-
1	14.8	20	28	0
2	15	18	30	0
3	15	18	29,5	0
4	14	18	31	0
5	15	18	29	0
6	15.1	18	28	0
7	15	17.8	29.2	0
8	14.7	18.5	29	0
9	13	18	30	0
10	14	19	29.7	0
11	15	20	28.9	0
12	15	17	30	0
13	14.8	17.3	31	0
14	15	18	30	0
15	15	18	29.9	0
Promedio	14.69	18.24	29.55	0.00
p (sig.)	0.000	0.005	0.316	*
Prueba de Normalidad (Shapiro-Wilk)	No normalidad	No normalidad	Normalidad	*

Interpretación: Al tener menos de 50 datos por cada grupo, es recomendable usar la prueba de normalidad del Shapiro- Wilk, para evaluar la distribución normal de los datos, de donde se puede observar la existencia de grupos de datos con una significancia menor a 0.05 ($p < 0.05$), lo cual indica que los datos tienen una distribución no normal.

Con lo cual podemos concluir, en general los datos no presentan una distribución normal, y se hará uso de pruebas no paramétricas.

Anexo 03 Documento de aprobación para la recolección de la información



Anexo 04 Evidencias de ejecución

Declaración jurada

DECLARACIÓN JURADA

Yo, ACUÑA CUZMA SEGUNDO PABLO, identificado con DNI 09738281, con domicilio

URB. EL PARAISO MZ H – LT. 9 MOCHE, Distrito TRUJILLO, Provincia TRUJILLO,

Departamento LA LIBERTAD.

DECLARO BAJO JURAMENTO.

En mi condición de (estudiante bachiller) BACHILLER con código de estudiante 0201214010 de la

Escuela Profesional de ODONTOLOGIA Facultad de CIENCIAS DE LA SALUD de la Universidad

Católica los Ángeles de Chimbote, semestre académico 2023-1:

1. Que los datos consignados en la tesis titulada "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL

EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) FRENTE

A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), TRUJILLO – 2021"

Doy fe que esta declaración corresponde a la verdad



Firma del estudiante /bachiller

viernes 14 julio del 2023



Huella digital

Lugar de la especie



Fig.2. Las hojas colectadas serán colocadas en bolsas de polietileno para su traslado



Fig.3. Taxonomía de la planta en el Herbarium de la Universidad Nacional de Trujillo





UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
UNT

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)
FLORA PERUANA**



**HERBARIUM TRUXILLENSE
HUT
1941**

Familia: Lamiaceae
Nombre Científico: *Rosmarinus officinalis* L.
N. Vulgar: "romero"
Hábito: Subarbusto de ca. 1m de alto, flores lilas.
Procedencia: Localidad: Ciento Cuatro, Distrito: Agallpanpa.
Prov.: Otuzco
Hábitat: Chacra-huerta familiar, suelos negros estercolados de humificación variable.
Altitud: 3117 m.s.n.m.
Colector: Acuña Cuzma Segundo Pablo

Det. por: Herbario HUT
Dpto./Región: La Libertad
Fecha: 28/09/2021
Nº: s.n.

Institución: Escuela Odontología, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Católica los Angeles de Chimbote (ULADECH).
Tesis: "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO HIDROETANOLICO DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*) FRENTE A CEPAS DE *Staphylococcus aureus* (ATCC® 23235™), TRUJILLO 2021."

Preparación del extracto hidroetanólico de romero químico farmacéutico



Preparación de la muestra vegetal

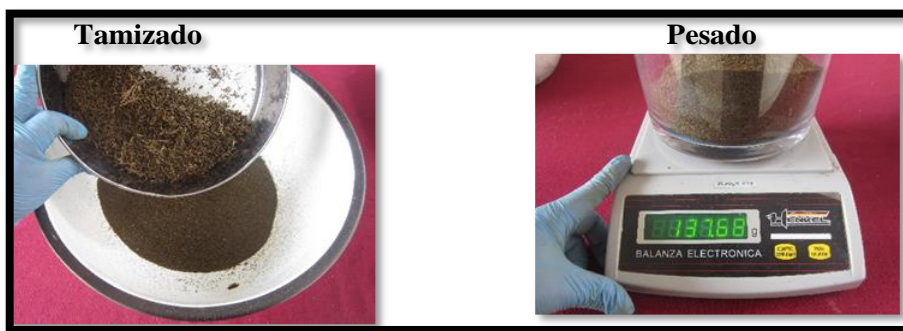


Fig.6. Preparación del extracto etanólico de *R. officinalis*



Fig.7. Preparación de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *R. officinalis*



Ejecución del proyecto de investigación.

Fig.8. La reactivación de la bacteria, se realizó sembrando el cultivo liofilizado en tubo con 5 mL de Caldo Brain Heart Infusión (BHI), luego se incubará a 37°C, por 24 – 48 horas.



Fig.9. Luego de 24 horas de 3 a 4 colonias se diluirá en solución salina fisiológica estéril hasta obtener una turbidez semejante al tubo número 0.5 del Nefelómetro de Mac Farland (1.5×10^8 ufc/mL).



Fig.10. INOCULACIÓN: Con un hisopo estéril se distribuirá la suspensión bacteriana en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo en la placa. Se dejará secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos para eliminar cualquier exceso de humedad superficial).

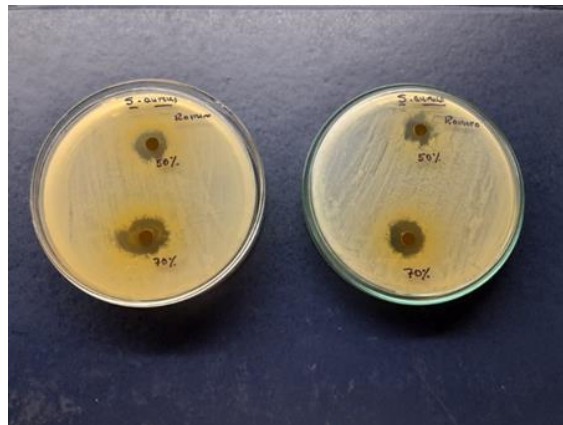
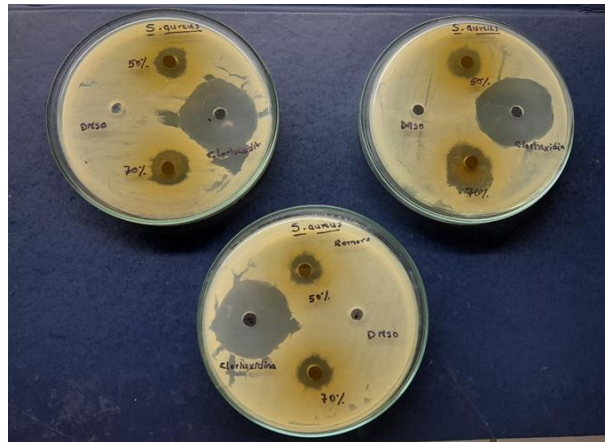


Fig.11. se perforará el medio de cultivo buscando obtener un pozo de 6mm de diámetro, En cada pozo se colocarán 50 uL de cada uno de las concentraciones.



Extracto hidroetanólico de romero al 70%

Extracto hidroetanólico de romero al 50%

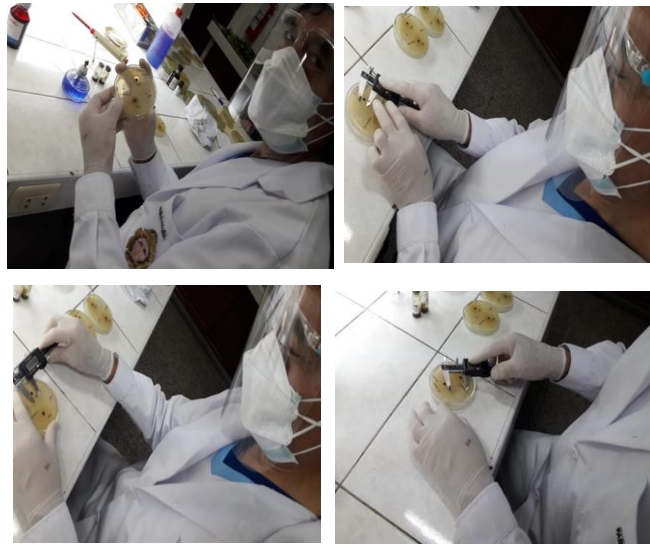


Gluconato de clorhexidina al 0.12%



Fig.13. Se incubarán las placas dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los extractos, a 37°C durante 24 y 48 horas.

Fig.14. se examinará cada placa, y se medirán los diámetros (mm) de los halos de inhibición del crecimiento alrededor de cada pozo según el producto a evaluar, para lo cual se utilizará vernier, abarcando el diámetro del halo. Las mediciones de los halos de cada placa serán registradas en la ficha de recolección de datos



Placas Petri con Halos de Inhibición

