

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



EFFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE *Rosmarinus officinalis* L. (Romero)
COMPARADO CON PENICILINA SOBRE CEPAS DE *Streptococcus*
***pyogenes*. UPAO. Agosto - Noviembre 2015.**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE MÉDICO CIRUJANO

AUTOR: SAÚL ANDRÉS CHILÓN QUISPE

ASESOR: DR. MARCO ANTONIO ZÁRATE ARCE

Trujillo – Perú

2016

MIEMBROS DEL JURADO

PRESIDENTE:

Dr(a). ROMERO ESPINOZA EDGARD

SECRETARIO:

Dr(a). ARQUIÑO HUERTA MARTHA

VOCAL:

Dr(a). MANAY BARRERA JULIO

ASESOR

Dr. Marco Antonio Zárate Arce

.

DEDICATORIA

A Dios por mostrarme día a día que con la humildad, paciencia y sabiduría todo es posible.

A mis padres por ser ejemplos a seguir, por estar siempre pendientes de mi bienestar, por amarme y brindarme, su apoyo y comprensión incondicional. Sus consejos que me alentaban a seguir y cumplir mis metas, por mostrarme el sacrificio que en algún momento todos debemos hacer para seguir en el camino correcto. A mis hermanos por el apoyo que me brindan día a día.

Dedicada a la persona mas importante de mi vida, Katherine L.

AGRADECIMIENTO

A mis padres por su amor y apoyo moral que siempre me han transmitido, el cual me permite lograr mis objetivos en mi carrera profesional, que la mejor herencia para mí.

A mi asesor, Dr. Marco Zárate Arce por su apoyo incondicional y por guiarme en la realización de este proyecto.

A mis abuelos por su constantes consejos que me ayudaron a no rendirme a lo largo de mi carrera.

A mis tíos y tías por su ayuda.

A mis maestros universitarios por brindarme enseñanzas y conocimientos, que me ayudaran a desarrollarme como profesional.

ÍNDICE

	pág.
RESUMEN	07
ABSTRACT	08
I. INTRODUCCIÓN	09
II. MATERIAL Y MÉTODOS	16
III. RESULTADOS	27
IV. DISCUSIÓN	32
V. CONCLUSIONES	35
VI. RECOMENDACIONES	36
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	43

RESUMEN

Objetivos: Determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus Officinalis L.* comparado con Penicilina sobre Cepas *Streptococcus pyogenes*. **Material y métodos:** Se realizó un estudio experimental comparativo, las muestras estuvieron constituidas de 40 cultivos de *Streptococcus pyogenes*.

Resultados: En el Grupo 1 con halo inhibitorio de R.O al 50% se obtiene un diámetro promedio de 12.10 mm y una desviación estándar de 3.60 mm, mientras que en el Grupo 2 una media y una desviación estándar de 15.60 mm. El Grupo Control positivo de penicilina 10 ug con valores de 31.30 y 8.43 mm se detecta una diferencia sustantiva entre los Grupos experimentales respecto al Grupo Control.

Conclusiones: El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* “Romero” en las concentraciones 50% y 75% si presentan efecto inhibitorio in vitro sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* clinicas y ATCC® 12384, existiendo diferencia significativa entre las diferentes concentraciones utilizadas. La concentración máxima 75% utilizada en *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384, donde se evidencia que existe diferencia significativa.

Palabras claves: *Rosmarinus officinalis L.*, *Streptococcus pyogenes*, halo inhibitorio, Penicilina

ABSTRACT

Objectives: To determinate the in vitro inhibitory effect of ethanol extract of *Rosmarinus Officinalis L.* compared with penicillin on *Streptococcus pyogenes*. **Materials and methods:** A comparative experimental study was performed, the samples consisted of 40 cultures of *Streptococcus pyogenes*.

Results: In Group 1 with 50% R.O inhibitory halo an average diameter of 12.10 mm and a standard deviation of 3.60 mm is obtained, while in Group 2 a mean and a standard deviation of 15.60 mm. The Positive Control Group of penicillin 10 ug with values of 31.30 and 8.43 mm detected a substantive difference between the experimental Groups and the Control Group.

Conclusions: The ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis L.* "Romero" in concentrations 50% and 75% if they present inhibitory effect in vitro on strains of *Streptococcus pyogenes* clinicas and ATCC® 12384, there being a significant difference between the different concentrations used. The maximum concentration 75% used in *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384, where it is evidenced that there is significant difference.

Key words: *Rosmarinus officinalis L.*, *Streptococcus pyogenes*, halo inhibitor, Penicillin.

I. INTRODUCCIÓN:

La salud infantil es uno de los Objetivos del Desarrollo del Milenio (ODM)⁵ y tema fundamental para el seguimiento por parte de los gobiernos. Según la resolución ministerial N° 5970-2007 DGS/MINSA establece que la salud de los niños es fundamental para definir la política pública en salud¹.

En el Perú, la principal causa de mortalidad es el grupo etario 0 a 4 años, en enfermedades infectocontagiosas, teniendo como grupo de morbilidad más frecuente a las “Infecciones Respiratorias Agudas” (IRAs), con 2'774,790 de atenciones y en segundo lugar a “Infecciones del aparato gastrointestinal”, con 860,847 atenciones. El tercer lugar se debió a “Patologías de la piel y del tejido subcutáneo”, con 306,023 atenciones. Las IRAs más frecuentes fueron aquellas que afectaron las vías respiratorias altas (Faringitis aguda y amigdalitis aguda y otras infecciones agudas de las vías respiratorias superiores)².

En el Departamento de Ancash de Julio 2011 , la primera causa de morbilidad fue el grupo de “Infecciones respiratorias agudas de vías aéreas superiores” (grupos diagnósticos: Faringitis aguda y amigdalitis aguda), seguido de “Infecciones del aparato gastrointestinal” (grupos diagnósticos: Otras helmintiasis/Otras enfermedades infecciosas intestinales)².

Streptococcus pyogenes es responsable de infecciones no invasoras como amigdalitis, escarlatina y afecciones de la piel y de infecciones invasoras graves como bacteriemia, fascitis necrotizante y shock séptico^{3,4}. Adicionalmente, *S. pyogenes* infecciones no supurativas, siendo las más importantes la fiebre reumática y la glomerulonefritis post-infecciosa. Pertenece a las bacterias Gram positivas, β-hemolítica del grupo A de Lancefield^{5,6}.

Estreptococo beta-hemolítico del grupo A (EbhGA) es responsable del 5 al 15% de las consultas por dolor de garganta en los adultos y del 20 al 30% en los niños^{7,8,9}. Es más frecuente en invierno y comienzo de la

primavera y se estima que es la causa del 15-30% de casos de Faringitis Aguda (FA) en niños de edad escolar entre 5 y 15 años (rango 3-18 años)^{10,11,5}. Por lo que es necesario un diagnóstico y tratamiento oportuno para prevenir complicaciones mortales como la fiebre reumática aguda y glomerulonefritis^{12,13}.

La fiebre reumática (FR) es una enfermedad inflamatoria, sistémica caracterizada por la existencia de lesiones que afectan al corazón, articulaciones, sistema nervioso central, piel y tejido celular subcutáneo, como secuela de una infección faríngea por EbhGA^{14,15}. La FR es un problema sanitario importante en Asia, Oriente Medio, África y Sudamérica, todo ello indica que es una enfermedad social, en la que las malas condiciones de vivienda y el hacinamiento favorecen el desarrollo de la misma¹⁴.

Entre los estudios de susceptibilidad in vitro realizados en Chile en pacientes con amigdalitis aguda, se ha observado que Streptococcus grupo A presenta una susceptibilidad del 100% a penicilina, amoxicilina, amoxicilina-sulbactam y cefuroxima; 7,8% de resistencia a eritromicina; 0% a 5,2% de resistencia a azitromicina y 0% a 5,9% de resistencia a claritromicina^{9,10}.

En el caso de macrólidos y lincosamidas se ha descrito que Streptococcus pyogenes produciría como principal mecanismo de resistencia una alteración en el sitio blanco del antibiótico que se encuentra en la subunidad 50s del ribosoma, a través de la producción de metiltransferasas codificadas por el gen ERM de origen plasmidial o cromosomal que transformarían dicho sitio de acción^{9,11-14}.

En los últimos años las plantas medicinales han adquirido gran importancia en terapias alternativas o complementarias en varias regiones

del mundo^{16,17}. Las plantas con acción medicinal o funcional tienen la característica común de poseer un elevado contenido en sustancias o principios activos, con propiedades químicas, bioquímicas u organolépticas muy específicas, que permiten su utilización con fines terapéuticos (plantas medicinales), aromáticos (plantas aromáticas o esencias) y dietéticos o gastronómicos (plantas empleadas como condimentos)^{18,19}.

Rosmarinus Officinalis L. (Romero) contiene aceite esencial cuya composición varía según la procedencia geográfica. Así se han diferenciado tres quimiotipos diferentes: cineoliferum (alto porcentaje de 1,8-cineol), camforiferum (con más de un 20% en alcanfor) y verbenoniferum (con más de un 15% en verbenona)^{20,21,22}. En el área mediterránea el aceite esencial de plantas procedentes de Marruecos y Túnez posee un elevado contenido en 1,8-cineol, mientras que el procedente de España posee un contenido menor^{23,24,25}.

Los componentes principales del aceite esencial de *Rosmarinus Officinalis L.* (Romero) en el Perú son: 20% de alcanfor, 2% de 1,8-cineol, 4% a-pineno y otros monoterpenos como borneol, b-pineno, limoneno y p-cimeno. También encontramos lactonas sesquiterpénicas (carnosol, rosmanol, epirosmanol, isorosmanol, 7-metoxirosmanol, rosmadial); ácidos triterpénicos (ácido ursólico, ácido betulínico); alcoholes triterpénicos (a y b-amirina, betulina); ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, rosmarínico); 15 - 20% de flavonoides (luteolina, apigenina, genkwanina, diosmetina, hispidulina, 5-hidroxi-7, 4'-dimetoxi-flavona, cirsimaritina) y los correspondientes heterósidos^{20,21,25}.

Muchos compuestos presentes en aceites esenciales obtenidos de diferentes plantas, tales como: fenoles, flavonoides y otros polifenoles actúan contra reconocidas bacterias patógenas, mohos y levaduras presentes en alimentos^{26,27}. En el trabajo de Shan et al., determinaron en más de 10 aceites esenciales la relación existente entre el contenido de

compuestos fenólicos y la capacidad de inhibición de bacterias Gram positivas y Gram negativas^{28,29,30}.

Justificación:

Debido a la necesidad de conocer las propiedades medicinales de las plantas y teniendo la información sobre los efectos antimicrobianos que presenta la planta *Rosmarinus Officinalis L.* (Romero) sobre los microorganismos como: *Streptococcus pyogenes*, microorganismo que constituye la causa mas frecuente de infección de la vía área superior (faringoamigdalitis aguda). Si bien sus complicaciones son excepcionales, pueden existir dos tipos: complicaciones supurativas locales (1-2%): otitis media, sinusitis aguda, absceso periamigdalino, mastoiditis, y excepcionalmente: absceso retrofaríngeo, síndrome de shock tóxico estreptocócico, etc., y no supurativas, que son raras en países desarrollados, como la Fiebre Reumática (FR), glomerulonefritis postestreptocócica y artritis reactiva. Teniendo en cuenta que nuestro país esta en vía de desarrollo, en estas últimas décadas existe alarma en la población por falta de antibióticos para tratar infecciones estreptococicas, consideramos importante la realización de esta investigación, con la finalidad de comprobar si existe efecto inhibitorio de *Rosmarinus Officinalis L.* (Romero) sobre *S. pyogenes*. De probar la hipótesis, comunicáramos el hecho a la comunidad científica, para que se tenga en cuenta los beneficios del estudio y se divulgue la información, a fin de encontrar nuevas alternativas terapéuticas contra dicho patógeno.

Rodríguez Y. Espinoza et al,³¹ Demostraron que el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* (Romero) no tiene efecto inhibitorio sobre las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (PF1, PF2, PF3) y la cepa SY1 de *Staphylococcus aureus*; sin embargo tuvo efecto inhibitorio sobre las cepas RE1, RE2, RE3 de *Streptococcus pyogenes* obteniéndose halos de inhibición de 8.67mm. (cepa RE1) a concentración de 5 mg/ml y de 12.33mm. (cepa RE3) a concentración de 35 mg/ml. ; y el efecto en las cepas SY2 y SY3 de *Staphylococcus aureus* produjo halos de inhibición de 7 mm. (cepa SY3) a concentración de 5mg/ml. y de 10 mm. (cepa SY2) a concentración de 25 mg/ml.

Nair R., Kalariya T., Chanda S.³² Los resultados de su estudio fueron que todos los extractos de las hojas de *Rosmarinus officinalis L.* mostraron diversos efectos inhibitorios (7-16 mm/20 µl de la zona de inhibición), excepto el extracto de acetona contra *Yersinia enterocolitica*.

Castaño Hader, Ciro Gelmy.³³ El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis L.* exhibió un amplio espectro de acción antimicrobiana tanto para bacterias Gram positivas como Gram negativas con CIM entre 512 – 4096 ppm. El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* mostró actividad antimicrobiana contra las bacterias *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes* con CIM de 1024 ppm. La nisina, utilizada como control positivo, ocasionó una inhibición del crecimiento de todas las bacterias evaluadas con CIMs entre 2 y 1024 ppm, mientras que los conservantes usados comúnmente en la industria de alimentos presentaron una actividad antimicrobiana menor que la encontrada con el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis L.*

Mostacero Irsa , Bustamante Olinda del Pilar.³⁴ Obtuvieron como resultado que para el *Streptococcus mutans*, la infusión de *Rosmarinus officinalis L.* al 40% presentó mayor eficacia con una media de 20530000,00 UFC/ml y una diferencia significativa de 0.0028 a los dos tiempos de exposición (1 y 5 minutos); mientras que al 20% se obtuvo una media de 2016666,67 UFC/ml y tanto a 1 minuto como a los 5 minutos mostró una diferencia significativa de 0,0002 respecto al ensayo control. Concluyendo que a mayor concentración y tiempo de exposición de la infusión de *Rosmarinus officinalis L.*, mayor es el efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans*.

PLAN TE INVESTIGACIÓN

Formulación del problema científico:

¿Cuál es el efecto inhibitorio in vitro de *Rosmarinus officinalis L.* comparado con Penicilina sobre Cepas de *Streptococcus pyogenes*. UPAO. Agosto - Noviembre 2015?

Hipótesis:

Hipótesis nula (H₀):

H₀: No existe efecto inhibitorio in vitro de *Rosmarinus Officinalis L.* comparado con Penicilina sobre Cepas de *Streptococcus pyogenes*. UPAO. Agosto - Noviembre 2015.

Hipótesis alternativa (H₁):

H₁: Existe efecto inhibitorio in vitro de *Rosmarinus Officinalis L.* comparado con Penicilina sobre Cepas de *Streptococcus pyogenes*. UPAO. Agosto - Noviembre 2015.

Objetivos:

Objetivo general:

Determinar el efecto inhibitorio in vitro de *Rosmarinus Officinalis L.* comparado con Penicilina sobre Cepas de *Streptococcus pyogenes*. UPAO. Agosto - Noviembre 2015.

Objetivos específicos:

Determinar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* a concentraciones del 50% y 75% sobre *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384 y Cepas de *Streptococcus pyogenes* clínicas.

Determinar el efecto inhibitorio in vitro de Penicilina sobre *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384 y Cepas de *Streptococcus pyogenes* clínicas.

Comparar el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* y penicilina sobre *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384 y Cepas de *Streptococcus pyogenes* clínicas.

II. MATERIAL Y MÉTODOS:

5.1. Poblaciones:

5.1.1. Población Diana o Universo:

Cultivos de Cepas *Streptococcus pyogenes* aislados y cepa de *Streptococcus Pyogenes* ATCC® 12384.

5.1.2. Población de Estudio:

Los cultivos de *Streptococcus pyogenes* aislados de pacientes con faringoamigdalitis supurativa.

Criterios de inclusión:

- Cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384.
- Cepas aisladas de pacientes que presentaron signos y síntomas de faringoamigdalitis supurativa e hipertrofia de amígdalas.

Criterios de exclusión:

- Pacientes que recibieron antibioticoterapia en los últimos 72 horas antes de realizarse la toma de la muestra.
- Pacientes que fueron internados por procesos infecciosos en el último mes, con diagnóstico de asma, bronquitis crónica, EPOC.
- Contaminación de la muestra

5.1.3. Muestra:

Unidad de análisis:

La unidad de análisis la constituirán cada una de las placas petris con cultivos de *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384 y Cepas de *Streptococcus pyogenes* clínicas., sometidas al extracto etanólico de *Rosmarinus Officinalis L.* y penicilina.

Unidad de muestreo

La unidad de análisis la constituirán cada una de las placas petris con cultivos de *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384, sometidas al extracto etanólico de *Rosmarinus Officinalis L.* y penicilina.

Tamaño muestral

Siendo un trabajo experimental el tamaño de la muestra estará constituida por 10 unidades experimentales, que corresponden a 1 tipo de extracto, 2 concentraciones, 1 cepa bacteriana *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384 y cepas bacterianas procedente de muestra clínica. Con 1 repetición en el experimento totaliza 40.

DISEÑO DE ESTUDIO

1. Tipo de estudio:

Experimental, comparativo.

2. Diseño Específico:

NR1 G1: O1

NR2 G2: O2

NR1: Sensibilidad del *Streptococcus pyogenes* a las concentraciones 50% y 75% del extracto etanólico de *Rosmarinus Officinalis L.*

O1: Medida de la halos

G1: Medida de sensibilidad del extracto etanólico de *Rosmarinus Officinalis L.* sobre *Streptococcus pyogenes*.

NR2: Sensibilidad del *Streptococcus pyogenes* a las concentración de 100% de penicilina.

O1: Medida de la halos

G1: Medida de sensibilidad de penicilina sobre *Streptococcus pyogenes*.

6.3. Descripción de variables y escalas de medición:

VARIABLE	UNIDAD DE MEDIDA	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDIDA
Independiente Extracto etanólico de <i>Rosmarinus Officinalis L.</i>	Concentraciones al 50%, 75% del extracto etanólico.	Cualitativa	Ordinal
Penicilina	Carga del disco (10 ug) 100%	Cualitativa	Ordinal
Dependiente Efecto inhibitorio <i>in vitro</i> sobre <i>Streptococcus pyogenes</i>	Diámetro del halo de inhibición	Cualitativa	Nominal – dicotómica

1.1. Variable independiente:

- **Extracto etanólico de *Rosmarinus Officinalis L.*:** Extracto con olor característico, obtenido a partir de la hojas de la planta *Rosmarinus Officinalis L.* (romero), por maceración en contacto con etanol, seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico; contiene los principios activos.
- **Penicilina:** Antibiótico del grupo de los betalactámicos empleado profusamente en el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias sensibles y derivado del ácido 6-aminopenicilánico, la concentración en el disco de 10 ug para trabajos experimentales.

1.2. Variable Dependiente:

➤ Efecto inhibitorio *in vitro*:

Capacidad para evitar la reproducción, crecimiento o producir la muerte de un microorganismo en condiciones experimentales, fuera de un organismo vivo.

➤ Halo de Inhibición:

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

➤ Escala de Duraffourd: Escala utilizada para determinar cualitativamente el efecto inhibitorio *in vitro*, según diámetro de inhibición³⁵.

- o Nula (-) para un diámetro inferior a 8 mm.
- o Sensibilidad límite (sensible = +) para un diámetro mayor de 8 mm a 14 mm
- o Medio (muy sensible = ++) para un diámetro entre 15 mm a 20 mm.
- o Sumamente sensible (+++) para un diámetro superior a 20 mm.

2. PROCEDIMIENTO:

Recolección de la muestra:

Se recolectó 5 kg de las hojas de *Rosmarinus officinalis* (Romero), de Granja Porcón (Latitud 07° 02' 15" S, Longitud 78° 38' 00" W, altura 2980 msnm), a una hora de la Ciudad de Cajamarca por la carretera a Bambamarca, del Distrito de Cajamarca, Provincia de Cajamarca y Región de Cajamarca.

La recolección de la especie se realizó por el método convencional o clásico de herborización.

Identificación y determinación taxonómica de la especie:

Un ejemplar completo de la planta se llevó al Herbario Antenor Orrego (HAO) del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego para su identificación y determinación taxonómica.

Preparación de la muestra:

Selección de la muestra: El material vegetal recolectado fue transportado al laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, donde se eliminó las sustancias extrañas (polvo, microorganismos vivos) presentes en el material vegetal.

Lavado de la droga: Luego se procedió al lavado del material vegetal con agua destilada, seguido de una desinfección, utilizando hipoclorito de sodio al 0.5 %. Posteriormente se realizó enjuague con agua destilada estéril, esto es para retirar los residuos de hipoclorito.

Secado: Una vez lavado las hojas se procedió a adecuar la droga en papeles Kraft, y se secó a temperatura ambiente.

Pulverización y tamización: Se procedió a pulverizar las hojas con ayuda de un molino hasta obtener polvo y luego se pasó a través de un set de tamices para homogenizar el tamaño de partículas.

Almacenamiento: El polvo obtenido, se guardó en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha⁴¹.

Preparación del extracto etanólico de las hojas de romero

Método maceración

En un envase estéril de vidrio ámbar de boca ancha de 4 litros de capacidad, se colocaron 500 g de polvo de hojas previamente pulverizadas y tamizadas. Luego, se añadió etanol al 70 % cantidad suficiente hasta cubrir la muestra por sobre 2 cm de altura. Se mezcló bien, teniendo en cuenta que la mezcla debe ocupar como máximo las $\frac{3}{4}$ partes del recipiente. Se tapó el recipiente y se maceró en ausencia de luz por 7 días, agitándose 10 minutos, dos veces al día⁴¹.

Transcurrido el tiempo de maceración, se filtró el líquido al vacío, con papel de filtro Whatman N° 1. Al líquido filtrado se le denominó extracto etanólico. A continuación, el extracto etanólico se concentró en un rotavapor (Heidolph WB 2000) a presión reducida y temperatura controlada, no mayor a 40°C. Finalmente, el extracto se colocó en cápsulas de porcelana y se llevó a secar a la estufa a 40 °C. Al producto resultante se le denominó extracto seco. A partir de este extracto seco se prepararon las concentraciones de 50% y 75% disueltas en etanol al 70%. Luego cada concentración del extracto fueron esterilizadas por filtración con membrana, usando filtros Millipore de 0.4 µm y 0.22 µm. Finalmente, las concentraciones preparadas, del extracto etanólico, se colocó en viales ámbar de 10 mL y fueron almacenadas a 4°C hasta su posterior utilización⁴¹.

Obtención de cepa:

Cepa Bacteriana

La cepa de *Streptococcus pyogenes* fueron aislada de pacientes con faringoamigdalitis supurativa y una cepa certificada ATCC® 12384 de control. La muestra fue sembrada en agar sangre y tioglicolato luego incubada a T° 37 °C por 24 horas. De las colonias beta-hemolíticas se realizaron coloración Gram y la prueba de la bacitracina como prueba de confirmación. Una vez aisladas la cepa, se conservaron en medio Agar TSA hasta la realización del trabajo experimental.

Preparación del inóculo de *Streptococcus pyogenes*.

Método de suspensión directa de colonias

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

(1) Preparamos el inóculo empleando un caldo directo o suspensión salina de las colonias aisladas seleccionadas de una placa de agar después de 18 a 24 horas de incubación (utilizamos un medio enriquecido como el agar soya tripticasa).

(2) Ajustamos la turbidez de la suspensión hasta que sea equivalente al tubo estándar 0.5 de la escala de McFarland. Obteniendo una suspensión de 1.5×10^8 unidades formadores de colonias (UFC)/ml para *Streptococcus pyogenes*. Para realizar este paso con exactitud, se debió utilizar un equipo fotométrico o realizamos visualmente, una luz adecuada para comparar el tubo del inóculo con el estándar 0.5 de McFarland frente a una tarjeta de fondo blanco y líneas negras^{36, 37}.

Prueba Inhibitoria in vitro: Mediante la técnica de Kirby y Bauer

Inoculación de las placas⁴²

(1) Dentro de los 15 minutos después de haber ajustado la turbidez de la suspensión del inóculo, sumergimos un hisopo de algodón estéril en la

suspensión ajustada. Rotaremos el hisopo varias veces y presionaremos firmemente por las paredes internas del tubo por encima del nivel del líquido. Este procedimiento eliminó el exceso de líquido del hisopo.

(2) Inoculamos en la superficie seca de una placa de agar Mueller-Hinton estriando con el hisopo toda la superficie del agar estéril. Repetimos este procedimiento estriando dos veces más el hisopo, rotando la placa aproximadamente 60° cada vez para asegurar una distribución homogénea del inóculo. Como paso final, pasamos el hisopo por el borde del agar.

(3) Mantuvimos la placa entreabierta durante tres a cinco minutos, que favoreció la eliminación del exceso de humedad de la superficie para luego poder aplicar los discos impregnados con el antibiótico^{38, 39}.

Determinación del efecto inhibitorio (prueba de susceptibilidad)

Mediante el método de difusión de discos de Kirby y Bauer, el cual consistía en preparar discos de papel de filtro estériles, los cuales serán sumergidos dentro de cada concentración del extracto etanólico de *Rosmarinus Officinalis L.*: 50% y 75% por el periodo no menor de 1 hora, luego con una aguja estéril, éstos se colocaron sobre los cultivos de *Streptococcus pyogenes* en las placas petri previamente preparadas; las placas se mantuvieron en la misma posición por un periodo de 5 minutos.

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

Se realizó la comparación de halos de inhibición que se produce con *Rosmarinus officinalis L.* sobre la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384.

La lectura de los resultados, se llevó a cabo después de las 24 horas, mediante la inspección visual de cada placa. Se efectuó tomando el registro

en milímetro de los halos de inhibición del crecimiento de *Streptococcus pyogenes*.

8. RECOLECCION Y ANALISIS DE DATOS:

El procesamiento de la información fue automático y se utilizó una computadora Pentium IV con Windows 8 y el Software estadístico SPSS versión 22.

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

Estadística analítica: Para determinar el efecto *in vitro* del extracto etanólico de *Rosmarinus Officinalis L.* sobre *Streptococcus pyogenes*, se utilizó un análisis de varianza de un diseño completamente aleatorizado para el efecto bactericida analizado por el halo de inhibición, luego se utilizó una prueba de comparaciones múltiples: Prueba Duncan⁴³, ambas con un nivel de significancia del 5%.

Todos estos datos fueron procesados de manera automatizada con el soporte del software estadístico SPSS versión 22.

CONSIDERACIONES ÉTICAS:

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

Al realizar la investigación se tuvo en cuenta principios de bioseguridad, prestando atención adecuada a los factores que puedan dañar el medio ambiente. Declaración de Helsinki II⁴⁰.

III. RESULTADOS:

A continuación se presentan los resultados obtenidos in vitro que muestran el efecto de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* clínica y ATCC® 12384.

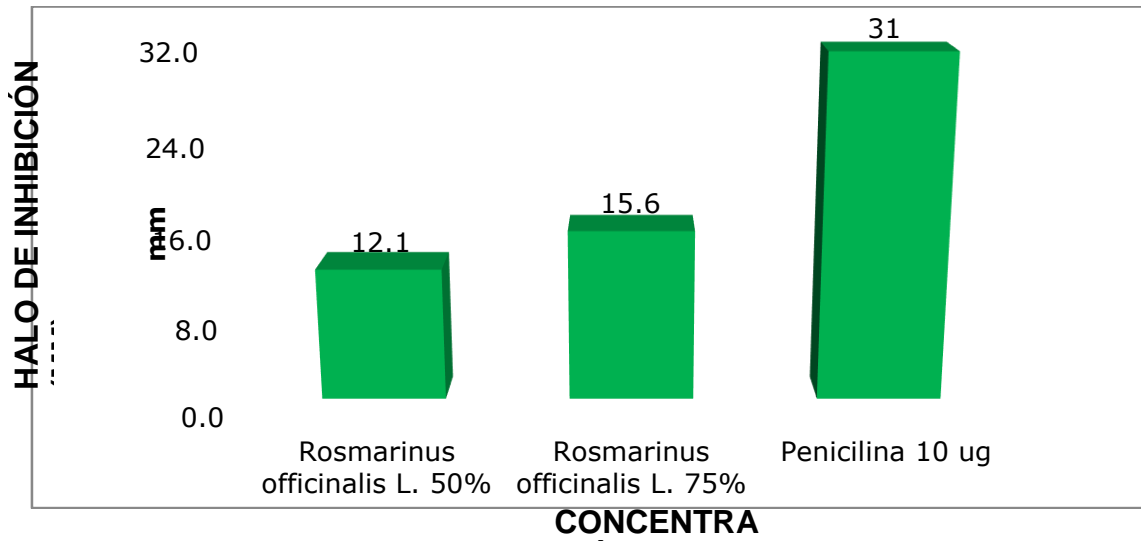
Tabla 1

Diámetro de halo como efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* a concentraciones del 50%, 75% y de Penicilina sobre *Streptococcus pyogenes* cepas clínicas.

Indicador	Grupo de estudio:		
	<i>Rosmarinus officinalis L.</i> al 50% Grupo 1	<i>Rosmarinus officinalis L.</i> al 75% Grupo 2	Disco Penicilina 10 ug Grupo 3
Media (mm)	12.10	15.60	31.30
Desviación estándar (mm)	3.60	3.57	8.43
Prueba para medias	F = 32.40 p < 0.05		
Comparación entre grupos+	b	b	a

+ : Grupos con la misma letra no difieren estadísticamente según prueba de Duncan.

Figura 1. Diámetro de halo como efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. a concentraciones del 50% y 75% y de Penicilina 10 ug sobre *Streptococcus pyogenes* cepas clínicas.



En la **tabla 1**, se determina y compara el diámetro del halo de inhibición según grupo de estudio sobre *Streptococcus pyogenes* cepa clínica. En el Grupo 1 con halo inhibitorio de R.O al 50% se obtiene un diámetro promedio de 12.10 mm y una desviación estándar de 3.60 mm, mientras que en el Grupo 2 una media y una desviación estándar de 15.60 mm. El Grupo Control positivo de penicilina 10 ug con valores de 31.30 y 8.43 mm se detecta una diferencia sustantiva entre los Grupos experimentales respecto al Grupo Control.

La Prueba F del análisis de varianza que compara la igualdad de los efectos medios de los tres grupos corrobora esta situación y declara una diferencia estadística altamente significativa ($p < 0.05$), lo que permite señalar que las medias no son iguales y que al menos uno de los grupos tiene una media diferente de la longitud del diámetro del halo como una medida del efecto inhibitorio.

La Prueba Pos anova de Duncan complementa el análisis y realiza las comparaciones por pareja de Grupos. El Grupo 1 y el Grupo 2, como tienen una letra en común (a), no difieren estadísticamente ($p>0.05$), sin embargo el efecto medio del Grupo 3 difiere estadísticamente del Grupo 1 y también del Grupo 2 ($p<0.05$)

Tabla 1A

Escala de Durafford como efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. a concentraciones del 50%, 75% , y de Penicilina 10 ug sobre *Streptococcus pyogenes* cepas clínicas.

Escala Durafford	Grupo de estudio					
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.50%		<i>Rosmarinus officinalis</i> L.75%		Penicilina 10 ug	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Nula (-)	1	10.0	0	0.0	0	0
Sensible (+)	6	60.0	3	30.0	0	0.0
Muy sensible(++)	3	30.0	7	70.0	2	20.0
Sumamente sensible(+++)	0	00.0	0	00.0	8	80.0
<i>Total</i>	10	100.0	10	100.0	10	100.0

Cuando determinamos la clasificación de efecto inhibitorio según Escala de Durafford, se puede distinguir que el grupo 2 reporta un 70% de casos con resultado muy sensibles, que puede dar señales de efectos satisfactorios sobre *Streptococcus pyogenes* cepa clínica, mientras que el Grupo control reporta el 80% de los casos como muy satisfactorios. El

Grupo 1 presenta resultados que están en su mayoría por debajo de los niveles deseables de inhibición sobre esta cepa.

Tabla 2

Diámetro de halo como efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* a concentraciones del 50%, 75% y de Penicilina 10 ug sobre *Streptococcus pyogenes* cepa ATCC® 12384.

Indicador	Grupo de estudio: Ingesta		
	<i>Rosmarinus officinalis L.</i> al 50%	<i>Rosmarinus officinalis L.</i> al 75%	Penicilina 10 ug
Media (mm)	20.70	23.40	32.90
Desviación estándar (mm)	2.58	3.50	4.15
Prueba para medias	F = 34.07 p < 0.05		
Comparación entre grupos+	b	b	a

+ : Grupos con la misma letra no difieren estadísticamente según prueba de Duncan.

Figura 2. Diámetro de halo como efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* a concentraciones del 50%, 75% y de Penicilina sobre *Streptococcus pyogenes* cepa ATCC® 12384.

Inhibición (mm)

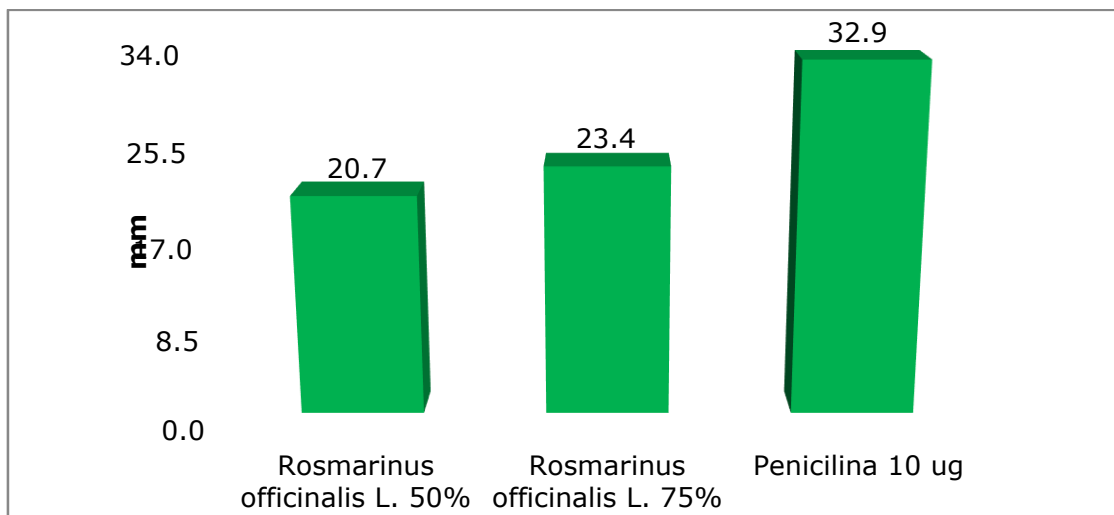


Tabla 2A

Escala de Durafford como efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de **Rosmarinus officinalis L.** a concentraciones del 50%, 75% , y de Penicilina 10 ug sobre *Streptococcus pyogenes* cepa ATCC® 12384.

Escala Duraffourd	Grupo de estudio					
	<i>Rosmarinus officinalis L.50%</i>		<i>Rosmarinus officinalis L.75%</i>		Penicilina 10 ug	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Nula (-)	0	0.0	0	0.0	0	0
Sensible (+)	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Muy sensible(++)	5	50.0	2	20.0	0	0.0
Sumamente sensible(+++)	5	50.0	8	80.0	10	100.0
<i>Total</i>	10	100.0	10	100.0	10	100.0

IV. DISCUSIÓN:

Desde hace unos años, el empleo de plantas medicinales y de productos derivados de las mismas está aumentando de manera importante. Esto se debe a una serie de factores, entre los cuales cabe destacar el conocimiento preciso de su composición química y el hecho de que en la actualidad dicha utilización se fundamenta en numerosos ensayos farmacológicos in vivo como in vitro, así como en ensayos químicos. De esta forma, el uso de las especies vegetales medicinales que se ha venido haciendo en forma empírica y basada en la tradición tiene hoy una base científica.

En el presente estudio de tipo experimental, demostramos el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) dos diferentes concentraciones 50% y 75% frente a cepas de *Streptococcus pyogenes* clínicas y ATCC® 12384, presentando un halo de inhibición mínimo al 50% en Cepa Clínica de *Streptococcus pyogenes* y una máxima en la concentración del 75% sobre Cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384, en cambio los halos de inhibición frente a penicilina 10 ug fueron altamente sensibles. Estos resultados son similares con los estudios obtenidos por **Rodríguez Y. Espinoza et al**,³¹ quienes demostraron que presentó efecto inhibitorio sobre las cepas RE1, RE2, RE3 de *Streptococcus pyogenes* obteniéndose halos de inhibición de 8.67mm. (cepa RE1) a concentración de 5 mg/ml y de 12.33mm. (cepa RE3) a concentración de 35 mg/ml.

Con respecto al halo de inhibición, se logró obtener una media de 12.10 mm en una concentración de 50%, 15.60 mm al 75%, y penicilina 10 ug 31.30 mm, obteniendo al medir según escala de Durafford una sensibilidad límite con la concentración al 50%, una sensibilidad media al 75% y altamente sensibles con penicilina 10 ug, resultados sobre *Streptococcus pyogenes* cepas clínicas, como se puede observar dicha sensibilidad se obtiene de forma ascendente según las concentraciones investigadas. Estos resultados varían con los obtenidos por **Nair R.**,

Kalariya T., Chanda S.³² Los resultados de su estudio fueron que todos los extractos de las hojas de *Rosmarinus officinalis L.* mostraron diversos efectos inhibitorios (7-16 mm/20 µl de la zona de inhibición).

Castaño H., Ciro G.³³ El aceite esencial de *Rosmarinus officinalis L.* exhibió un amplio espectro de acción antimicrobiana tanto para bacterias Gram positivas como Gram negativas con CIM entre 512 – 4096 ppm. El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* mostró actividad antimicrobiana contra las bacterias *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes* con CIM de 1024 ppm.

Shan et al., determinaron en más de 10 aceites esenciales la relación existente entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad de inhibición de bacterias Gram positivas y Gram negativas; según los resultados obtenidos, el contenido de fenoles produce un efecto importante en la capacidad inhibitoria de los extractos; para el caso de *Rosmarinus officinalis* la concentración de fenoles fue más baja que la de otros aceites esenciales como por ejemplo *Eugenia caryophyllata* y *Oreganum vulgare*, razón por la cual su capacidad inhibitoria de varios microorganismos diferentes a *Clostridium perfringens* fue menor^{32,33,34}.

El extracto de hoja de *Rosmarinus Officinalis L.* tiene acción en la membrana celular de las bacterias, la actividad citotóxica afecta directamente a la fase mitótica de las bacterias Gram positivas y Gram negativas. Por destacar, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* y *S. aureus*, estos microorganismos son susceptibles a los componentes del extracto de romero, en cuyo extracto prevalecen el ácido caféico, ácido rosmarínico, carnosol, ácido carnosólico y flavonoides^{16,17}.

La pared celular de las bacterias, presenta uno de los componentes primarios de la pared celular bacteriana es peptidoglycan, una macromolécula estructural con una composición reticular que proporciona

rigidez y el soporte a la pared celular exterior. Para formar la pared celular, un único encadenamiento peptidoglycan se reticula a otros encadenamientos peptidoglycan con la acción de la DD-transpeptidasa de la enzima (también llamada una penicilina proteína-PBP obligatoria). En un ciclo vital bacteriano, la pared celular (y así las reticulaciones peptidoglycan) se remodela continuo para acomodar para los ciclos relanzados del incremento y de la réplica de la célula²⁰.

Las Penicilinas y otros antibióticos de la familia beta-lactamasa contienen un anillo cuatro-membrado característico de la beta-lactamasa. La Penicilina actúa a nivel de al unión del anillo de la beta-lactamasa a la DD-transpeptidasa, la inhibición de su actividad de la interconexión y la prevención de la nueva formación de la pared celular. Sin una pared celular, una célula bacteriana es vulnerable al agua exterior y a las presiones moleculares, y muere. Puesto que las células humanas no contienen una pared celular, los resultados de tratamiento de la penicilina en muerte celular bacteriana sin afectar a las células humanas²¹.

Los resultados obtenidos con el presente trabajo de investigación indican el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanolico de *Rosmarinus officinalis L.* frente a cepas de *Streptococcus pyogenes*, es así que el presente estudio abre nuevas posibilidades en el campo de la investigación clínica como farmacológica, constituyendo así una alternativa natural, eficiente y de bajo costo para el tratamiento de las enfermedades estreptococicas.

V. CONCLUSIONES:

1. El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. "Romero" tiene efecto inhibitorio in vitro sobre *Streptococcus pyogenes* cepas clínicas.
2. El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. "Romero" tiene efecto inhibitorio in vitro sobre *Streptococcus pyogenes* cepa ATCC® 12384.
3. El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. "Romero" en las concentraciones 50% y 75% si presentan efecto inhibitorio in vitro sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* clínicas y ATCC® 12384, existiendo diferencia significativa entre las diferentes concentraciones utilizadas.
4. La concentración máxima del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. "Romero" de 75% utilizada en *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384, donde se evidencia que existe diferencia significativa.

VI. RECOMENDACIONES:

- Se recomienda realizar otros estudios para ampliar el espectro de actividad del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* en concentración del 100%.
- Se recomienda aislar los principios activos que confieren la actividad antimicrobiana.
- Se recomienda realizar pruebas in vivo para valorar la efectividad y la toxicidad que tendrían los principios activos del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.*
- Se recomienda realizar estudios sobre la forma de administración del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* con el fin de preservar la concentración de los principios activos en el organismo.
- Realizar pruebas in vitro usando diferentes diluciones del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis L.* para demostrar la concentración inhibitoria mínima a la cual actúa componente activo del extracto, la cual es una prueba más específica.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Dirección General de Salud de las Personas. Dirección de Calidad en Salud. Lima, Perú, 2009.
2. Ministerio de Salud, Seguro integral de salud. Dr. Huarachi Quintanilla, Luis. Estudio Epidemiológico de Distribución y Frecuencia de Atenciones Preventivas y de Morbilidad. Perú 2010.
3. Naciones Unidas. Objetivos de desarrollo del milenio. 2014. <http://www.un.org/es/millenniumgoals/pdf/mdg-report-2014-spanish.pdf>
4. Restrepo L., Mary A., Múnera J., María I. Infección y colonización faríngea asintomática de niños por *Streptococcus pyogenes*. Iatreia Vol. 25 (3): 203-209, julio-septiembre 2012.
5. Pickering L. Report of the Committee on Infectious Disease, Group A Streptococcal Infections. American Academy of Pediatrics, 2012:668–80.
6. Rodríguez C., Rojas P., Wozniak A., Kalergis A., Cerón I., Riedel I. et al . Análisis de los fenotipos y genotipos de resistencia a eritromicina y clindamicina en cepas de *Streptococcus pyogenes* aisladas en Chile en un período de 10 años. Rev. méd. Chile [revista en la Internet]. 2011 Sep [citado 2015 Abr 13]; 139(9): 1143-1149.
7. Hustedt JW, Vazquez M. The changing face of pediatric respiratory tract infections: how human metapneumovirus and human bocavirus fit into the overall etiology of respiratory tract infections in young children. Yale J Biol Med 2010; 83:193–200.

8. Michael R. Wessels, M.D. Streptococcal Pharyngitis. *N. Engl J. Med* 2011; 364:648-55.
9. Chow AW, Benninger MS, Brook I, et al. IDSA clinical practice guideline for acute bacterial rhinosinusitis in children and adults. *Clin Infect Dis* 2012;54:e72-112.
10. R. Kumar, H. Vohra, A. Chakraborty, Y. P. Sharma. Epidemiology of group a streptococcal pharyngitis & impetigo: a cross-sectional & follow up study in a rural community of northern India. *Indian J Med Res* 130, December 2009, pp 765-771.
11. Guilherme L, Kalil J. Rheumatic fever and rheumatic heart disease: cellular mechanisms leading autoimmune reactivity and disease. *J Clin Immunol.* 2010;30:17–23.
12. Stanford T. Shulman, Alan L. Bisno, Herbert W. Clegg, Michael A. Gerber, Edward L. Kaplan, Grace Lee, Judith M. Martin, and Chris Van Beneden. Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of Group A Streptococcal Pharyngitis: 2012 Update by the Infectious Diseases Society of America. *CID* 2012:55 (15 November).
13. Ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière. Situation épidémiologique du rhumatisme articulaire aigu en Algérie 2004. <http://www.sante.dz/insp/raa-sommaire.htm>. August 20, 2010.
14. Ros J. Fiebre reumática y artritis postestreptocócica. *Protoc. Diagn. Ter. pediatr.* 2014;1:165-75.
15. Michael D.. Tracey R. The worldwide epidemiology of acute rheumatic fever

and rheumatic heart disease. *Clinical Epidemiology* 2011;3 67–84.

16. Avila R., Navarro A., Romero (Rosmarinus officinalis L.): una revisión de sus usos no culinarios. Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. *Ciencia y Mar* 2011, XV (43): 23-36.
17. Abe, F., F. Yamauchi, T. Nagao, J. Finjo & H. Okabe. Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 25(1):1485-1487.
18. Al-Sereiti, M.R., K.M. Abu-Amer & P. Sen. Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian Journal of Experimental Biology*, 37(2):124-30.
19. Almela, L., B. Sánchez-Muñoz, J.A. Fernández-López, M.J. Roca & V. Rabe. Liquid chromatographic- mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *Journal of Chromatography*, 1120(2): 221-229.
20. Muñoz Centeno, Luz María. Plantas medicinales españolas. *Rosmarinus Officianlis L.* (LAMIACEAE) (ROMERO) Spanish medicinal plants. *Rosmarinus officinalis L.* (Lamiaceae) (rosemary). *BIBLID* [0211-9714 (2002) 21, 105-118].
21. Cañigüeral, S. Plantas medicinales y drogas vegetales. Romero. *Offarm*, vol. 6 (8):
22. Coste, H. Flore Descriptive et Illustrée de la France. Librairie Scientifique et Technique. Paris, vols. 2-3.
23. D'Andrea, L. La coltivazione del rosmarino. *Erboristeria Domani*, Vol. 7-8:

24. Dias, P., M. Foglio, P. Possenti & J. De Carvalho. Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 69 (1): 57-62.
25. ESCOP European Scientific Cooperative on Phytotherapy. *Monographs on the medicinal uses of plant drugs*, vol. 3. University of Exeter.
26. Martha I. Ardila Q. Andrés F. Vargas A. Ensayo preliminar de la actividad antibacteriana de extractos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* Y *Thymus vulgaris* FRENTE A *Clostridium perfringens*. Biosalud, Volumen 8, enero - diciembre, 2009. págs. 47–57.
27. Euroresidentes. Romero (*Rosmarinus officinalis*); 2007. Disponible en: <http://www.euroresidentes.com/Alimentos/hierbas/romero.htm>. Consultado Abril 12 de 2007.
28. Aziza Kamal GENENA, Haiko HENSE, Artur SMÂNIA JUNIOR, Simone Machado de SOUZA. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) – a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 28(2): 463-469, abr.-jun. 2008.
29. Nevas, M. Antibacterial efficiency of finnish Spice Essentials oils against pathogenic and spoilage bacteria. *Journal of Food protection* 2004;67:199-202.
30. Shan, B; Zhong C, Y; Brooks, J.D; Corke, H. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology* 2007;117:112-119.
31. Rodríguez Y, Espinoza S, Vergara M, Efecto inhibitorio in vitro del extracto

etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. “Romero” sobre el crecimiento *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Rev. Salud & Vida Sipanense. Vol. 1/Nº2. ISSN 2313-0369/2014.

32. Nair R1, Kalariya T, Chanda S. Antibacterial activity of some plant extracts used in folk medicine. J Herb Pharmacother. 2007;7(3-4):191-201.

33. Hader I, Castaño P., Gelmy Ciro G., José E. Zapata M., Silvia L. Jiménez R. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus Officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. VITAE, REVISTA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA FARMACÉUTICA ISSN 0121-4004 / ISSNe 2145-2660. Volumen 17 número 2, año 2010.

34. Mostacero, I. Bustamante, O. Ruiz, M. Efecto inhibitorio in vitro de *rosmarinus officinalis* sobre *streptococcus mutans*. Rev. Tzhoecoen 9: XX-XX, ISSN: 1997-3985/2013.

35. Duraffourd C, D’hervocourt L, Lapraz JC. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1ª edición. Barcelona, España: Edit.Masson S.A. 1986.

36. Sonnenwith L, Jareltt. Métodos y Diagnóstico de Laboratorio Clínico. Tomo II. 8va ed. Buenos Aires: Panamericana; 1983.

37. National Committee on Clinical Laboratory Standars. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. Approved Standard ASM-2 Villanova, P a . 1975.

38. Koneman W, Allen S, Dowel V, Jarda W, Sonden H, WinnW. Diagnóstico Microbiológico. 3ra ed. Argentina: Panamerica; 1988.

39. Cantón R, García JE, Gómez L, Martínez L, Rodríguez C, Vila, J, et al. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Editor Picazo J J. España: 2000.
40. Helsinki A. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Adoptada por la 18 Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, junio de 1964 y enmendada por la 29 Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, octubre de 1975, la 35 Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, octubre de 1983 y la 41 Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, septiembre de 2011.
41. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad Habana de Cuba. 2002.
42. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 1966,45: 493.
43. García Leal, J. & Lara Porras, A.M. (1998). "Diseño Estadístico de Experimentos. Análisis de la Varianza." Grupo Editorial Universitario.

ANEXOS

ANEXO Nº 01

Nº1 FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFEECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE *Streptococcus pyogenes*. 2015

SUSCEPTIBILIDAD DE <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC® 12384 FRENTE A <i>Rosmarinus Officinalis</i> L. y Penicilina			
Diámetro de halo (mm)	Cocentración de Penicilina	Concentración de Extracto etanólico de <i>Rosmarinus Officinalis</i> L.	
	100%	50%	75%
Halo 1	30 (S)	17 (I)	15 (I)
Halo 2	35 (S)	22 (S)	25 (S)
Halo 3	40 (S)	25 (S)	27 (S)
Halo 4	35 (S)	22 (S)	24 (S)
Halo 5	35 (S)	22 (S)	24 (S)
Halo 6	33 (S)	20 (S)	25 (S)
Halo 7	35 (S)	23 (S)	26 (S)
Halo 8	25 (S)	17 (I)	20 (S)
Halo 9	32 (S)	19 (I)	25 (S)
Halo 10	29 (S)	20 (S)	23 (S)
Fecha	26/11/2015	26/11/2015	

	MIC (µg/mL)	Zone Diameter (mm)
Susceptible	≤4	≥20
Intermediate	8–16	15–19
Resistant	≥32	≤14

ANEXO Nº 02

Nº2 FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

EFEECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE *Streptococcus pyogenes*. 2015

SUSCEPTIBILIDAD DE <i>Streptococcus pyogenes</i> cepa clínica FRENTE A <i>Rosmarinus Officinalis</i> L. y Penicilina			
Diámetro de halo (mm)	Cocentración de Penicilina	Concentración de Extracto etanólico de <i>Rosmarinus Officinalis</i> L.	
	100%	50%	75%
Halo 1	40 (S)	10 (R)	15 (I)
Halo 2	35 (S)	15 (I)	12 (R)
Halo 3	40 (S)	13 (R)	12 (R)
Halo 4	43 (S)	18 (I)	20 (S)
Halo 5	28 (S)	10 (R)	18 (I)
Halo 6	20 (S)	10 (R)	15 (I)
Halo 7	35 (S)	7 (R)	10 (R)
Halo 8	20 (S)	17 (I)	15 (I)
Halo 9	25 (S)	9 (R)	20 (S)
Halo 10	27 (S)	12 (R)	19 (I)
Fecha	30/11/2015	30/11/2015	

	MIC (µg/mL)	Zone Diameter (mm)
Susceptible	≤ 4	≥ 20
Intermediate	8–16	15–19
Resistant	≥ 32	≤ 14



UPAO

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTEJOR ORREGO

SOLICITA APROBACIÓN E INSCRIPCIÓN DE PROYECTO DE TESIS Y ASESOR

Señor Ms.

JORGE LUIS JARA MORILLO

Presidente del Comité de Investigación de Facultad de Medicina Humana.

Yo, **SAÚL ANDRÉS CHILÓN QUISPE**, identificado con ID 000067350, alumno de la Escuela Profesional de Medicina Humana, con el debido respeto me presento y expongo.

Que, siendo requisito indispensable para poder optar el Título Profesional de Médico Cirujano, recurro a su digno despacho a fin de que se apruebe e inscriba mi proyecto de tesis titulado, "**EFFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE CEPAS DE *Streptococcus pyogenes*. UPAO. Agosto - Noviembre 2015**".

Así mismo informo que el docente, **DR. MARCO ANTONIO ZÁRATE ARCE**, será mi asesor, por lo que solicito se sirva a tomar conocimiento para los fines pertinentes.

Por lo expuesto es justicia que espero alcanzar.

Trujillo,.....

Saúl Andrés Chilón Quispe
ID 000067350

Adjunto: derecho de trámite



UPAO

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTEÑOR ORREGO

CONSTANCIA DE ASESORÍA

El que suscribe, **MARCO ANTONIO ZÁRATE ARCE**, docente de la Escuela Profesional de Medicina Humana hace constar que me comprometo a brindar el asesoramiento correspondiente para el desarrollo del proyecto de tesis titulado, **“EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE CEPAS DE *Streptococcus pyogenes*. UPAO. Agosto - Noviembre 2015”** del bachiller **SAÚL ANDRÉS CHILÓN QUISPE**, de la Escuela Profesional de Medicina Humana.

Se expide el presente para los fines que estime convenientes.

Trujillo,.....

Dr. Marco Antonio Zárate Arce



UPAO

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTEOR ORREGO

SOLICITA DESIGNACIÓN DE JURADO EVALUADOR PARA SUSTENTACIÓN DE TESIS

Dr. Juan Eduardo Leiva Goicochea
Director de la Escuela Profesional de Medicina Humana
Universidad Privada Antenor Orrego
S.D

Yo, **SAÚL ANDRÉS CHILÓN QUISPE**, alumno de la Escuela Profesional de Medicina Humana, identificado con **I.D. 000067350**; ante usted me presento y expongo:

Que, siendo exigencia indispensable para optar el título profesional de Médico Cirujano, la presentación y sustentación del informe final de mi tesis titulada: **“EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE CEPAS DE *Streptococcus pyogenes*. UPAO. Agosto - Noviembre 2015”**; solicito a su digno despacho tenga a bien disponer a quienes correspondan el **NOMBRAMIENTO DE JURADO EVALUADOR**, de acuerdo a las normas establecidas.

Por lo expuesto:

Pido a Ud., acceder a mi petición por ser justo.

Trujillo,

Saúl Andrés Chilón Quispe

ID 000067350



UPAO

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

INFORME FINAL DEL ASESOR

Título: “EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE CEPAS DE *Streptococcus pyogenes*. UPAO. Agosto - Noviembre 2015.”

Autor: Saúl Andrés Chilón Quispe

Asesor: Dr. Marco Antonio Zárate Arce

La presente Tesis reúne la calidad académica, la extensión conveniente del tema y relevancia social porque al encontrar que el Extracto etanólico de *Rosmarinus Officinalis* L. tiene efecto inhibitorio sobre Cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384 y Cepas *Streptococcus pyogenes* clínicas, la bibliografía fue tomada de fuente confiable como las páginas de pubmed, Scielo, donde diariamente se publican artículos de investigación de gran confiabilidad, por lo cual autorizo la transcripción en limpio de la tesis.

Se expide el presente informe para los fines que estime conveniente.

Trujillo,

Dr. Marco Antonio Zárate Arce



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

Constancia N° 009-2015-MHNC-UPAO

El que suscribe, Director del Herbario Antenor Orrego (HAO), del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que el Sr. Saúl Andrés Chilón Quispe, identificado con DNI 46816712, estudiante de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:

***Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae)**

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Sub clase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Super orden: Asteranae Takht.

Orden: Lamiales Bromhead

Familia: Lamiaceae Martinov

Género: *Rosmarinus* L.

Especie: *officinalis* L.

El mismo que será utilizado para la tesis titulada: "Efecto inhibitorio de extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. comparado con penicilina sobre *Streptococcus pyogenes*".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines correspondientes.

Trujillo, 12 de octubre del 2015

Segundo Leiva González
DIRECTOR
MUSEO DE HISTORIA NATURAL Y CULTURAL



UPAO

Facultad de Medicina Humana
DECANATO

* CONSTANCIA DE RECONOCIMIENTO DE *ROSMARINUS OFFICINALIS L.* (LAMIACEAE)

Trujillo, 12 de agosto del 2015

RESOLUCION Nº 1249-2015-FMEHU-UPAO

VISTO, el expediente organizado por Don (ña) **CHILON QUISPE SAUL ANDRES** alumno (a) de la Escuela Profesional de Medicina Humana, solicitando **INSCRIPCIÓN** de proyecto de tesis Titulado "**EFFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE Rosmarinus officinalis L. (ROMERO) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE Stretococcus pyogenes. 2015**", para obtener el **Título Profesional de Médico Cirujano**, y;

CONSIDERANDO:

Que, el (la) alumno (a) **CHILON QUISPE SAUL ANDRES** ha culminado el total de asignaturas de los 12 ciclos académicos, y de conformidad con el referido proyecto revisado y evaluado por el Comité Técnico Permanente de Investigación de la Escuela Profesional de Medicina Humana, de conformidad con el Oficio Nº **0218-2015-CI-FMEHU-UPAO**;

Que, de la Evaluación efectuada se desprende que el Proyecto referido reúne las condiciones y características técnicas de un trabajo de investigación de la especialidad;

Que, de conformidad a lo establecido en la sección III – del Título Profesional de Médico Cirujano y sus equivalentes, del Reglamento Docente y de Grados y Títulos, el recurrente ha optado por la realización del **Proyecto de Tesis**;

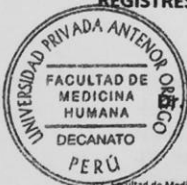
Que, habiéndose cumplido con los procedimientos académicos y administrativos reglamentariamente establecidos, por lo que el Proyecto debe ser inscrito para ingresar a la fase de desarrollo;

Estando a las consideraciones expuestas y en uso a las atribuciones conferidas a este despacho;

SE RESUELVE:

- Primero.-** **AUTORIZAR** la inscripción del Proyecto de Tesis Titulado "**EFFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE Rosmarinus officinalis L. (ROMERO) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE Stretococcus pyogenes. 2015**", presentado por el (la) alumno (a) **CHILON QUISPE SAUL ANDRES** en el registro de Proyectos con el Nº **1845** por reunir las características y requisitos reglamentarios declarándolo expedito para la realización del trabajo correspondiente.
- Segundo.-** **REGISTRAR** el presente Proyecto de Tesis con fecha **12.08.15** manteniendo la vigencia de registro hasta el **12.08.17**.
- Tercero.-** **NOMBRAR** como Asesor de la Tesis al profesor (a) **ZARATE ARCE MARCO**
- Cuarto.-** **DERIVAR** al Señor Director de la Escuela Profesional de Medicina Humana para que se sirva disponer lo que corresponda, de conformidad con la normas Institucionales establecidas, a fin que el alumno cumpla las acciones que le competen.
- Quinto.-** **PONER** en conocimiento de las unidades comprometidas en el cumplimiento de lo dispuesto en la presente resolución.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE.



Dr. RAMEL ULLOA DEZA
Decano



Dr. ALEJANDRO LEON QUIROZ
Secretario Académico

Facultad de Medicina Humana
Escuela de Medicina Humana
Asesor(a)
Interesado(a)
Expediente
Archivo



UPAO

Facultad de Medicina Humana
DECANATO

Trujillo, 07 de marzo del 2017

RESOLUCIÓN N° 0518-2017-FMEHU-UPAO

VISTOS, y:

CONSIDERANDO:

Que, por Resolución N° 0351-2017-FMEHU-UPAO se autorizó la inscripción del Proyecto de tesis intitulado "EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Rosmarinus officinalis* L. (ROMERO) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE CEPAS DE *Stretococcus pyogenes*", presentado por el (la) alumno (a) CHILON QUISPE SAUL ANDRES, registrándolo en el Registro de Proyectos con el número N° 1818 (mil ochocientos cuarenta y cinco);

Que, mediante documento de fecha 06 de marzo del 2017, el (la) referido (a) alumno (a) solicitó la autorización para la modificación del mencionado proyecto de tesis, proponiendo el siguiente título "EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE *Rosmarinus officinalis* L. (ROMERO) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE CEPAS DE *Stretococcus pyogenes*. UPAO. AGOSTO - NOVIEMBRE 2015";

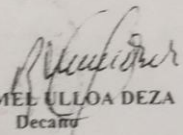
Estando a las consideraciones expuestas y en uso a las atribuciones conferidas a este Despacho:

SE RESUELVE:

Primero.- DISPONER la rectificación de la Resolución N° 0351-2017-FMEHU-UPAO en lo referente al título del Proyecto de Tesis, debiendo quedar como "EFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE *Rosmarinus officinalis* L. (ROMERO) COMPARADO CON PENICILINA SOBRE CEPAS DE *Stretococcus pyogenes*. UPAO. AGOSTO - NOVIEMBRE 2015", presentado por el alumno (a) CHILON QUISPE SAUL ANDRES, quedando subsistente todo lo demás.

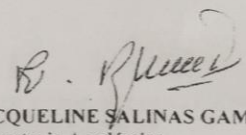
Segundo.- PONER en conocimiento de las unidades comprometidas en el cumplimiento de la presente resolución.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE.


Dr. RAMEL ULLOA DEZA
Decano

c.c. Interesado
Archivo




Dra. DIANA JACQUELINE SALINAS GAMBOA
Secretaria Académica

* Constancia de cambio de título de Tesis.

COTIZACION GL - 15 / 009872

FECHA: Jueves, 17 de septiembre de 2015
 CLIENTE: UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO
 ATENCION: SR. SAUL CHILON
 REFERENCIA: KWIK STIK; CEPAS DE REFERENCIA NO MAYOR AL 4TO. PASAJE
 PRECIO: NUEVOS SOLES
 ENTREGA: A 45 DIAS
 VALIDEZ PAGO: 7 DIAS
 DEPOSITO ADELANTADO

CODIGO	PRODUCTO	PRECIO UNITARIO S/.	CANT	PRECIO TOTAL S/.
H05682-A	Streptococcus pyogenes ATCC® 12384*** group A; type 3 COD MICROBIOLOGICS: 0979P	225.48	1	225.48
SUB TOTAL			225.48	
I.G.V. (18%) DE LEY			40.59	
TOTAL			266.07	


BLGA. YIMENIA PERALTA
 ESPECIALISTA DE PRODUCTO

KWIK-STIK: Pack de 2 capas liofilizadas no mayor al 4to. pasaje + Certificado de Análisis.
 Producto sujeto a disponibilidad del proveedor y a la política de fechas de expira de Microbiologics.
 Costo incluye gastos de envío a Trujillo.

Realice el pago con cheque a nombre de GEN LAB DEL PERU S.A.C., en caso de Depósito Bancario, realice el abono en nuestra Cuenta Bancaria:
 Banco Continental - Soles 0011-0139-0100024183-34 ó Banco BCP - Soles 193-1440607-0-84
 CCI Continental - Soles 011-139-000100024183-34 ó CCI Banco BCP - Soles 002-193-001440607084-18

Jr. Capac Yupanqui N° 2434 - (Alt. Cdra. 8 Av. 2 de Mayo) - Lince - Lima 14 PERU
 Telf.: 2037500 / 2037504 TeleFax: (51-1) 2037501
 e-mail: ventas@genlabperu.com

* Cotización de Ceba *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384.



RAZON SOCIAL: GEN LAB DEL PERU S.A.C.

Jr. Olivos Ypacari N° 2494 Lima, Lima - PERU (Alt. Cos. 8 Av. 2 de Mayo San Isidro)
 Av. Las Flores de Primavera N° 849 Urb. Las Flores San Juan de Lurigancho, Lima, Lima
 Central Tel.: 203-7500 Telefax: (51-1) 203-7501
 e-mail: ventas@genlabperu.com web: www.genlabperu.com

R.U.C. 20501262260

FACTURA

0002-

Nº 0014359

Fecha	Vencimiento	Condiciones de Pago	A.C.
22/09/2015	23/09/2015	PAGO ADELANTADO	

Sr(es): UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONOR ORREGO

Dirección: AV. AMERICA SUR NRO. 3145 URB. MONSERRATE - TRUJILLO TRUJILLO LA LIBERTAD

R.U.C. 20141878477

N° de Guía de Remisión

Ped N°: 012773

N° de O.C.:

Atl:

N° Pedido

COD.	DESCRIPCION	CANT.	P. UNIT.	IMPORTE
H05682-A	Streptococcus pyogenes ATCC® 12384™ group A type 3	1	225,48005	225,48

SON:			S.E.U.O.	
DOSCIENTOS SESENTA Y SEIS CON 07/100 AVANZADO			SUB TOTAL	S/. 225,48
Lima, de de			I.G.V. (18%)	S/. 40,59
			TOTAL	S/. 266,07

O/P:
 NOTA: DESPUÉS DE VENCIDO EL PLAZO DE CANCELACIÓN, SE RECARGARA EL INTERES LEGAL POR EL TIEMPO QUE TRASCURRA PARA LA CANCELACIÓN DE ESTA FACTURA. LOS CHEQUES DEBERÁN SER GIRADOS ÚNICA Y EXCLUSIVAMENTE GEN LAB DEL PERU S.A.C.

p. GEN LAB DEL PERU S.A.C.

COPIA SIN DERECHO A CRÉDITO FISCAL DEL I.G.V.


CONTROL ADM.


PEMEGRAF S.A. R.U.C. 203725-4290 SERIE 0003 DEL 148651 AL 16080 SURDAT N° 11620586023 F.I. 22-07-2015

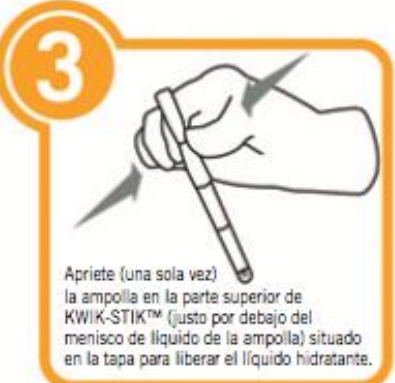
KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ PLUS


INSTRUCCIONES ILUSTRADAS

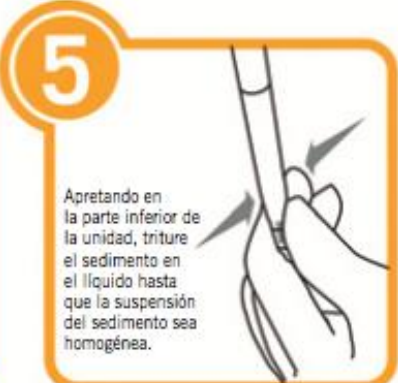
Las preparaciones de microorganismos KWIK-STIK™ y KWIK-STIK™ Plus contienen un sedimento liofilizado de una única cepa de microorganismos.


- 


1 Deje la bolsa sin abrir de KWIK-STIK™ para que se equilibre a temperatura ambiente. Abra la bolsa por la muesca y retire la unidad de KWIK-STIK™.
- 


2 Tire de la lengüeta de la etiqueta y colóquela en la placa del cultivo principal o el registro de control de calidad. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
- 


3 Apriete (una sola vez) la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK™ (justo por debajo del menisco de líquido de la ampolla) situado en la tapa para liberar el líquido hidratante.
- 


4 Sujete en posición vertical y golpee sobre una superficie dura para facilitar el flujo de líquido a través del eje hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento. Deje que el líquido hidratante fluya a través del eje del hisopo y hacia la parte inferior de la unidad que contiene el sedimento.
- 

5 Apretando en la parte inferior de la unidad, triture el sedimento en el líquido hasta que la suspensión del sedimento sea homogénea.
- 

6 **DE INMEDIATO**, sature bien el hisopo en el material hidratado y transfiera a un medio de cultivo con agar.
- 

7 Inocule la placa del cultivo principal haciendo rodar el hisopo con suavidad sobre un tercio de la placa.
- 

8 Con un asa estéril, cree vetas para facilitar el aislamiento de colonias.
- 

9 **DE INMEDIATO**, incube la placa del cultivo principal inoculado a la temperatura y las condiciones adecuadas para los microorganismos.
- 

10 Utilice un método de desecho de riesgo biológico adecuado para desechar KWIK-STIK™.

 **Microbiologics**®

A safer, healthier world.

* PASO PARA RESTITUCIÓN DE CEPA *STREPTOCOCCUS PYOGENES*



RAZÓN SOCIAL: GEN LAB DEL PERU S.A.C.

J. Calle Yupari N° 2041 Lince, Lima, Lima - PERU (Alt. Cón. 8 Av. 2 de Mayo San Isidro)
Av. Las Flores de Primavera N° 849 Urb. Las Flores San Juan de Luigarcho, Lima, Lima
Central Tel.: 203-7500 Telefax: (51-1) 203-7501
e-mail: ventas@genlabperu.com web: www.genlabperu.com

R.U.C. 20501262260
GUIA DE REMISION
REMITENTE
0002- N° 0019817

Table with 2 columns: Fecha, Comprobante de Pago N°. Row 1: 02/10/2015, 0020014359

Sr(es): UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO ORREGO

AV. AMERICA SUR NRO. 3145 URU. MONSERRATE
TRUJILLO TRUJILLO LA LIBERTAD

Punto de Llegada: PSJE. LA MERCED - CONDOMINIO REAL CASA B1-35 (COSTADO BUENAS VISTAS) S.PNEUMONIAE
Punto de Partida: AV. LAS FLORES DE PRIMAVERA # 847 - LIMA 36
R.U.C.: 20141878477
Cod. Cliente: 602 Ped N°: 01277
Orden de Compra:
Numero de Pedido:
Tipo de Movimiento:
Fecha de Traslado: 02/10/2015

Table with 1 column: Unidad de Transporte y Conductor. Rows: Marca y Placa, N° Licencia de Conducir

Table with 1 column: Empresa de Transporte. Rows: Sr(es): EMPRESA DE TRANSPORTE TURISTICO OLAF, R.U.C.: 20135816931

MOTIVO DEL TRASLADO

Ventas(X) Compras() Consignación() Ventas con Entrega a Terceros() Ventas Sujeta a Confirmación por el Proveedor() Traslado entre Establecimientos de la misma Empresa() Devolución() Otros()

Main table with columns: COD., CANT., UNIT., DESCRIPCION. Row 1: H05682-A, 1, Streptococcus pyogenes ATCC® 12384*** group A type 3, LOTE: 979-49-3 / Vencimiento: 31/07/2017

BIENES TRANSPORTADOS :

Una vez recepcionada la mercadería no habrá lugar a devoluciones.

Firma y Sello

A.C.

p. GEN LAB DEL PERU S.A.C. Despachador

p. GEN LAB DEL PERU S.A.C. Almacén

RECIBI CONFORME

CONTROL ADM.

PLIEGOS S.A. R.U.C. 20772514290 SERIE 0002 DEL 18951 al 19956 SUMAT N° 1155478923 F.I. 15-06-2015

**PROCEDIMIENTO PARA LA
OPTENCIÓN DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE *ROSMARINUS
OFFICINALIS L.* (ROMERO)**



1. Seleccionando muestra adecuada de *Rosmarinus officinalis* L.



2. Deshojando *Rosmarinus officinalis* L.



3. Desinfectando *Rosmarinus Officinalis* L. en hipoclorito de sodio al 0.5 %



4. Enjuague de planta *Rosmarinus Officinalis* L.



5. *Rosmarinus Officinalis L.* - Seco



6. Fase de pulverización - *Rosmarinus Officinalis L.*



7. Proceso de pulverización - *Rosmarinus Officinalis L.*



8. *Rosmarinus Officinalis L.* en pulverización



9. Tamización de *Rosmarinus Officinalis* L.



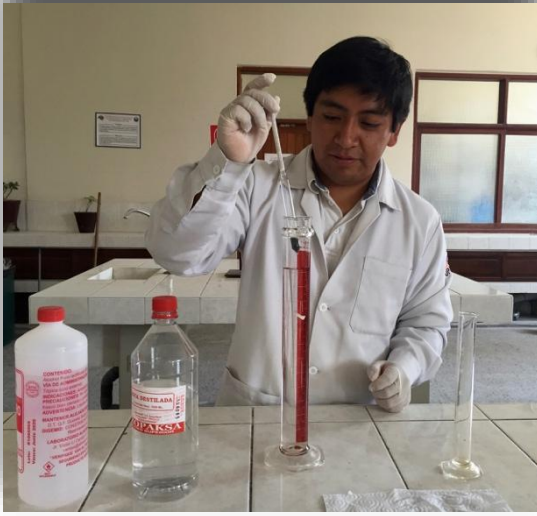
10. *Rosmarinus Officinalis* L. - Homogeneizado



11. Pesaje de *Rosmarinus Officinalis* L.



12. Preparación de Alcohol al 70%



13. Preparación de Alcohol al 70%



14. Preparación de Alcohol al 70%



15. Extracción del extracto etanólico



16. Equipo de extracción



17. Equipo de extracción



18. Maceración de *Rosmarinus officinalis* L.



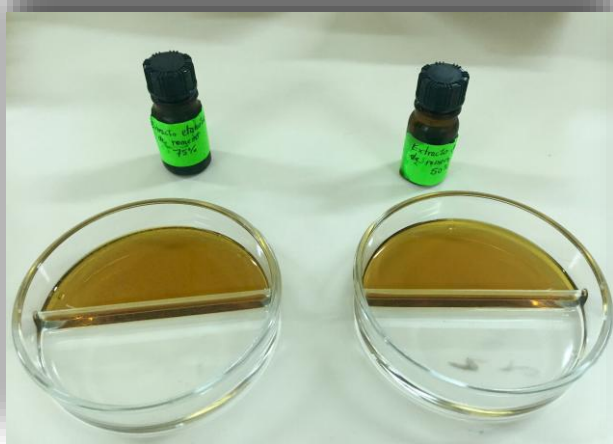
19. En proceso de maceración de *Rosmarinus officinalis* L.



20. *Rosmarinus officinalis* L. - Concentrado.



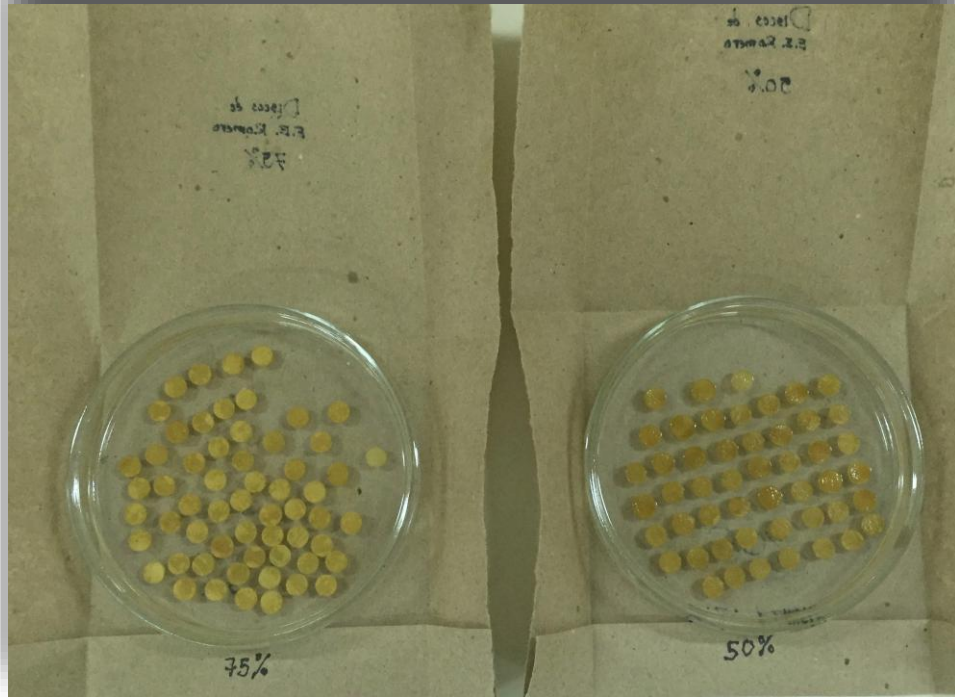
21. *Rosmarinus officinalis* L. - Concentrado al 50% y 75%.



22. *Rosmarinus officinalis* L. - en placas petri



23. Impregnación de Discos con extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. 50% y 75%



24. Discos de extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. 50% y 75%

PROCESO DE RESTITUCIÓN - CEPA DE *STREPTOCOCCUS* *PYOGENES* ATCC® 12384



1. KWIK-STIK™ *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384. A temperatura ambiente



2. Retiro de KWIK-STIK™ *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384.



3. Retiro de lengüeta de la etiqueta de seguridad.



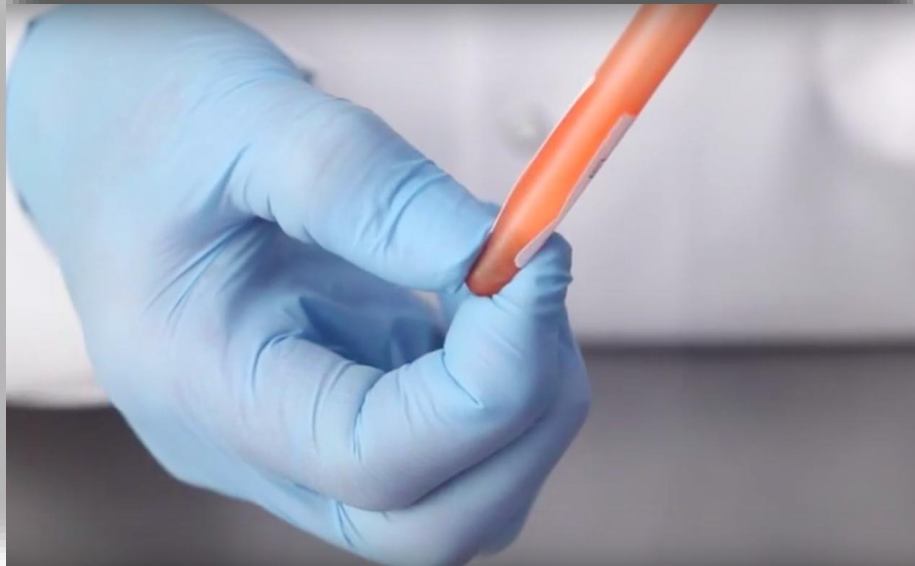
4. Colocando etiqueta en la placa del cultivo principal.



5. Ceba *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384.



6. Apretando (una sola vez) la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK™



7. Apretando en la parte inferior de la unidad, para triturar el sedimento en el líquido hasta que la suspensión del sedimento sea homogénea.

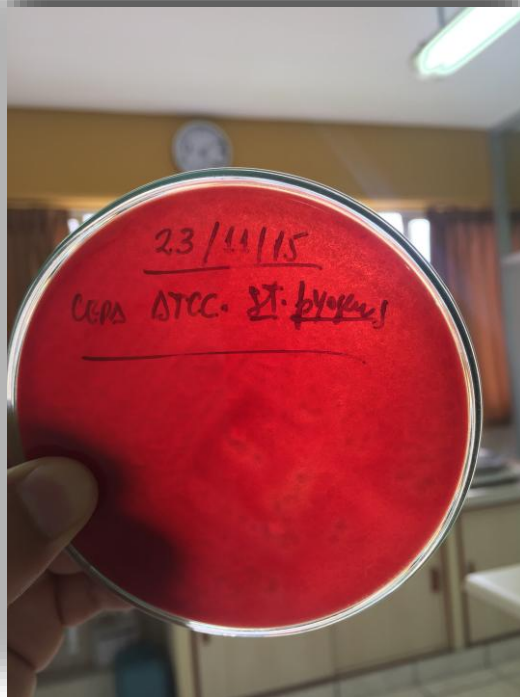


8. Hisopo con Cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384.



9. Inoculación de *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384 en la placa del cultivo principal.

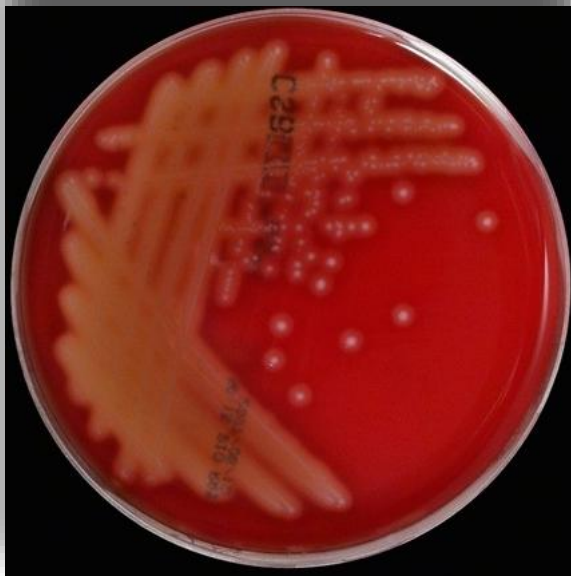
IDENTIFICACIÓN - CEPA DE
***Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384**



1. *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384.



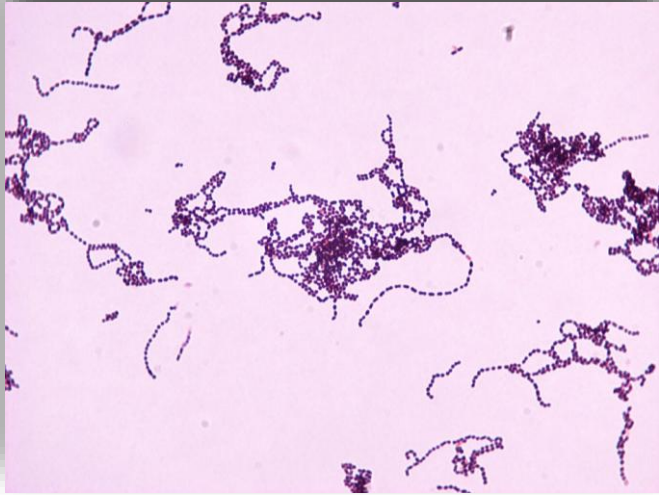
2. Observar bajo Microscopio *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384.



3. *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384.



4. Tinción de Gram

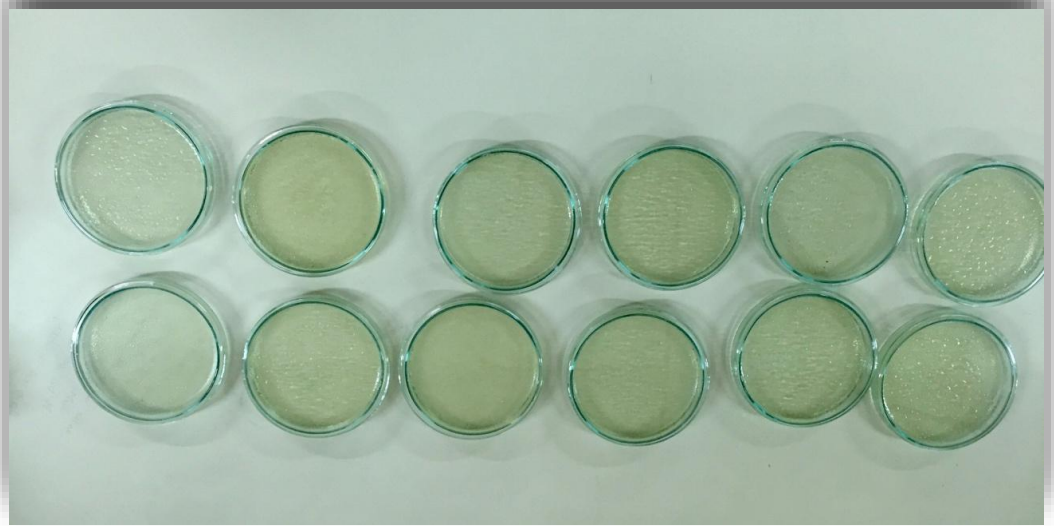


5. *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384 bajo microscopio

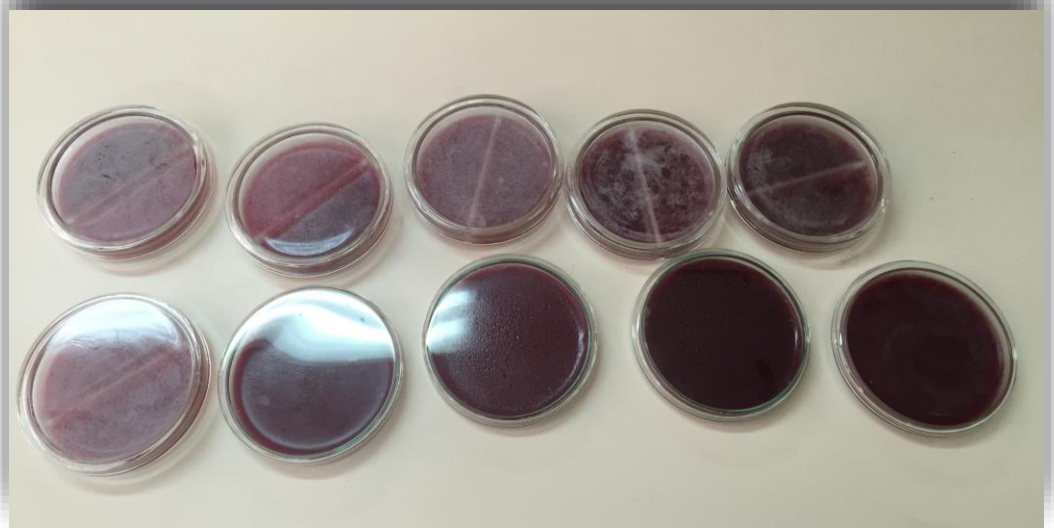


6. Escala de McFarland. *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384.

**EFFECTO INHIBITORIO IN VITRO DE
ROSMARINUS OFFICINALIS L.
(ROMERO) COMPARADO CON
PENICILINA SOBRE CEPAS DE
STREPTOCOCCUS PYOGENES.**



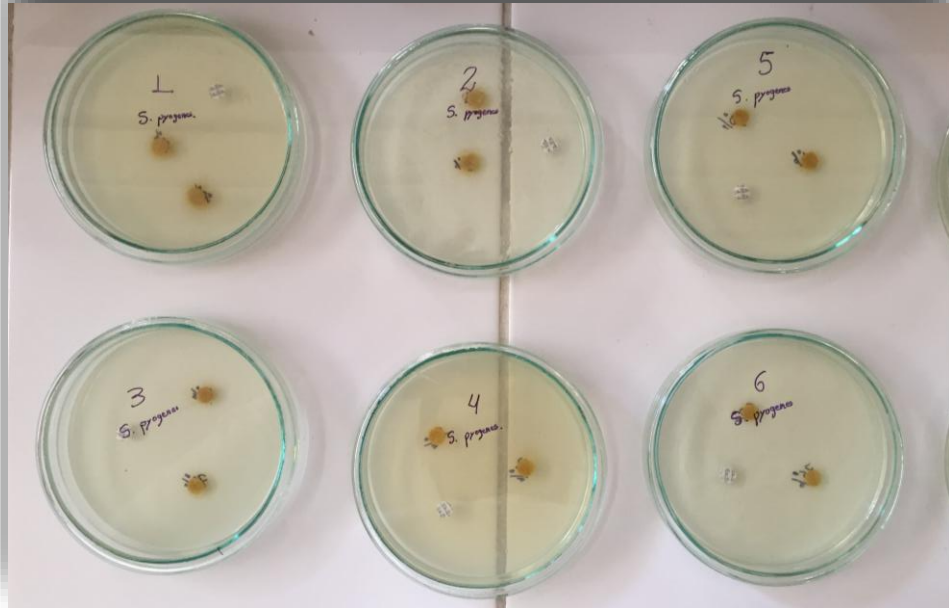
1. Placas petri con *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384



2. Placas petri con *Streptococcus pyogenes* cepas clínicas.



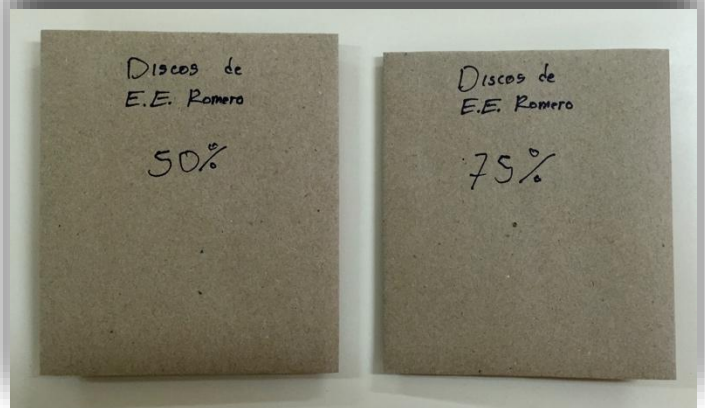
3. Placas petri con *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384 y cepas clínicas sometidos a extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* al 50% y 75%



4. Placas petri con *Streptococcus pyogenes* ATCC® 12384 y cepas clínicas sometidos a extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* al 50% y 75%



5. Estufa de Laboratorio - Facultad de Medicina - UPAO



6. Discos de E.E: *Rosmarinus officinalis* L.



