



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

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE
Rosmarinus officinalis L. (ROMERO) FRENTE A *Candida
albicans* ATCC 10231 COMPARADO CON nistatina**

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

AUTORAS:

Bach. DE LA CRUZ DÍAZ, LUZ MARÍA

<https://orcid.org/0009-0003-44005399>

Bach. MIL SAMPEN, JOHANNA JAKELINE

<https://orcid.org/0000-0002-3860-872X>

ASESOR:

Dr. ACARO CHUQUICAÑA, FIDEL ERNESTO

<https://orcid.org/0000-0003-1257-299X>

LIMA – PERÚ

2023

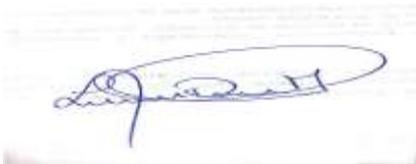
DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, LUZ MARIA DE LA CRUZ DIAZ, con DNI 48139933 en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de QUIMICO FARMACEUTICO (grado o título profesional que corresponda) de título "ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Rosmarinus officinalis* L. (ROMERO) FRENTE A *Candida albicans* ATCC 10231 COMPARADO CON nistatina", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 16% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Chiclayo 25, de marzo 2023.



(Nombre y Firma)

Firma del autor:
48139933



Dr. Fidel Ernesto Acaro
Químico Farmacéutico
Farmacólogo
COPF. 00053

Dr. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña

07459338

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **JOHANNA JAKELINE MIL SAMPEN**, con DNI **47061086** en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de **QUIMICO FARMACEUTICO** (grado o título profesional que corresponda) de título “**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Rosmarinus officinalis* L. (ROMERO) FRENTE A *Candida albicans* ATCC 10231 COMPARADO CON nistatina**”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud **16%** y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Chiclayo 26, de marzo 2023.



(Nombre y Firma)

47061086

Firma del autor:



Dr. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña

07459338

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

TESIS ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

INFORME DE ORIGINALIDAD

16% INDICE DE SIMILITUD	16% FUENTES DE INTERNET	2% PUBLICACIONES	2% TRABAJOS DEL ESTUDIANTE
-----------------------------------	-----------------------------------	----------------------------	--------------------------------------

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	8%
2	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	4%
3	repositorio.usanpedro.edu.pe Fuente de Internet	2%
4	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
5	iaes.edu.ve Fuente de Internet	1%
6	dspace.cordillera.edu.ec Fuente de Internet	1%
7	1library.co Fuente de Internet	1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 1%

Excluir bibliografía

Activo

DEDICATORIA

Dedico esta tesis en primer lugar a Dios por darnos la vida y la salud.

A mis padres y hermanos por su apoyo incondicional y comprensión que me permitieron creer en mí y alcanzar mi meta deseada.

A mis compañeros de estudio, a mis maestros y amigos, quienes sin su ayuda nunca hubiera podido hacer esta tesis. A todos ellos se los agradezco desde el fondo de mi alma. Para todos ellos hago esta dedicatoria.

De la Cruz Díaz, Luz María

Dedico el resultado de este estudio, en primer lugar, a Dios por ser el creador de todo, por darnos la vida y protegernos.

A mis padres, quienes me han enseñado a ser la persona que hoy en día soy, mis principios, mis valores, mi constancia y mi empeño por su apoyo incondicional y consejos de superación para salir adelante.

A mis hermanos y familiares, por su compañía y apoyo moral.

Mil Sampen Johanna Jakeline

AGRADECIMIENTO

A la Universidad María Auxiliadora por abrirnos las puertas y apoyarnos a culminar nuestra meta.

A nuestro asesor Dr. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña por su guía y dirección durante todo el desarrollo de nuestra investigación.

A nuestros profesores que, a través de cada sesión, compartieron sus conocimientos para lograr en nosotros, un buen desarrollo profesional.

A todas las personas que de una u otra forma participaron en el desarrollo de esta investigación.

Luz y Johanna

ÍNDICE GENERAL

	_Paginas
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
II.1. Enfoque y diseño de la investigación	7
II.2. Población, muestra y muestreo	8
II.3. Variables de investigación.....	9
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	9
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos.....	10
II.6. Procesamiento de los análisis estadísticos.....	12
II.7. Aspectos éticos	13
III. RESULTADOS	14
IV. DISCUSIÓN.....	21
IV.1. Discusión de resultados	21
IV.2. Conclusión	26
IV.3. Recomendaciones	27
ANEXOS.....	33
ANEXO A: Instrumento de recolección de datos	34
ANEXO B: Matriz de consistencia.....	35
ANEXO C: Operacionalización de las variables	36
ANEXO D: Validación por juicio de expertos	38
ANEXO E: Aceptación del Laboratorio	41

ANEXO F: Aceptación del Laboratorio.....	42
ANEXO G: Certificado Botánico.....	43
ANEXO H: Certificado de calidad de la cepa en estudio	44
ANEXO I: Evidencia fotográfica de campo	46

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Prueba de solubilidad	14
Tabla 2. Actividad antifúngica de los extractos	15
Tabla 3. Determinación de la distribución normal	17
Tabla 4. Determinación de la homogeneidad de varianzas entre grupos	18
Tabla 5. Comparación de las medias (ANOVA)	18
Tabla 6. Análisis de datos mediante la prueba de Tukey	19
Tabla 7. Sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	20

NDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> al 50%, 75% y 100% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	16

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de *las hojas de Rosmarinus officinalis* L. (Romero) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 comparado con nistatina.

Metodología: De enfoque cuantitativo, diseño experimental, transversal y prospectiva; la población correspondió a *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) y la muestra fue de 2 kilogramos; el extracto se obtuvo de hojas pulverizadas por maceración y la actividad antifúngica fue demostrada mediante Kirby-Bauer en pozo, la estadística se llevó a cabo con un nivel de confianza del 95% usando pruebas inferenciales.

Resultados: El extracto etanólico de *R. officinalis* L. (Romero) es insoluble a hexano y cloroformo, medianamente soluble a acetona, agua, alcohol ter-butílico, Dimetilsulfoxido y soluble etanol y metanol, presentó halos de inhibición de $14,14 \pm 0,46$ mm para el extracto al 50%, de $17,33 \pm 0,32$ mm al 75% y de $18,40 \pm 0,32$ mm al 100%, los grupos control obtuvieron halos promedios de $6,06 \pm 0,43$ mm (negativo) y $26,44 \pm 0,33$ mm (positivo), *Candida albicans* presentó ser más sensible a nistatina (100mg/mL) que los extractos de *las hojas de Rosmarinus officinalis* L.

Conclusión: El extracto etanólico de *las hojas de Rosmarinus officinalis* L. (Romero) presenta actividad antifúngica frente a *Candida albicans* ATCC 10231, sin embargo, fue inferior a la nistatina.

Palabras Clave: *Rosmarinus officinalis*, Romero, *Candida albicans*, actividad antifúngica, nistatina.

ABSTRACT

Objective: To determine the antifungal activity of the ethanolic extract of the leaves of *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) against *Candida albicans* ATCC 10231 compared to nystatin.

Methodology: It was quantitative, with an experimental, cross-sectional and prospective design; the population corresponded to *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) and the sample was 2 kilograms; the extract was obtained from pulverized leaves by maceration and the antifungal activity was demonstrated by Kirby-Bauer in a well, the statistics were carried out with a confidence level of 95% using inferential tests.

Results: The ethanolic extract of the leaves of *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) is insoluble in hexane and chloroform, moderately soluble in acetone, water, tert-butyl alcohol, Dimethylsulfoxide and soluble in ethanol and methanol, it presented inhibition halos of 14.14±0.46mm for the 50% extract, 17.33±0.32mm at 75% and 18.40±0.32mm at 100%, the control groups obtained average halos of 6.06±0.43mm (negative) and 26.44±0.33mm (positive), *Candida albicans* was more sensitive to nystatin (100 mg/mL) than the extracts of the leaves of *Rosmarinus officinalis* L..

Conclusion: The ethanolic extract of the leaves of *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) presented antifungal activity against *Candida albicans* ATCC 10231 but was inferior to nystatin.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*, Rosemary, *Candida albicans*, antifungal activity, nystatin.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones por micosis se han convertido como principal motivo en las consultas médicas, siendo *Candida albicans* uno de los agentes causantes, siendo más lesivo en pacientes inmunodeprimidos ocasionándoles hasta una candidemia. Los factores que determinan la aparición de estas infecciones o su frecuencia en su mayoría se relacionan con el área geográfica, la edad, tipo de clima, el sexo del paciente, entre otros¹.

Mundialmente las infecciones por micosis son reconocidas como el cuarto trastorno de salud más usual y las infecciones por dermatomicosis en piel, cabellos y uñas son las más comunes, pudiendo afectar al 20 a 25% de la población. No obstante, la aparición de resistencia de los fármacos a los hongos hace que aumente el número de infecciones difíciles de tratar, convirtiéndose en un tema preocupante para la salud.²

Con la llegada de nuevos avances médicos y tecnológicos ha aumentado la incidencia de candidiasis diseminada. Asimismo, en las últimas décadas *Candida* spp. ha representado el cuarto grupo de microorganismos que con mayor frecuencia se aísla de muestras clínicas en pacientes de Estados Unidos con infecciones septicémicas, superando a cualquier patógeno gramnegativo individual. Por otro lado, algunas características intrínsecas de los hongos contribuyen a la aparición de enfermedades, sin embargo, los escenarios recientes se han asociado principalmente con nuestras actividades modernas, incluido el uso generalizado de medicamentos (por ejemplo, corticoesteroides), urbanización, domesticación, aumento de la población, turismo, migración y cambio climático acelerado³.

Las infecciones fúngicas en el Perú presentan pocos estudios, además fármacos como el fluconazol que es el antifúngico más utilizado como tratamiento inicial en candidemia, muchas veces no produce el efecto buscado, debido a que las especies de *Candida albicans* son resistentes a dicho fármaco; en ese sentido se aconseja un cambio de terapia. Podemos mencionar que la detección de resistencia a los antifúngicos y la investigación de nuevos mecanismos de resistencia nos permite cambiar o ajustar las terapias de acuerdo con la sensibilidad, desarrollar nuevos fármacos y modificar los ya existentes.⁴

Teniendo en cuenta la problemática descrita se planteará como pregunta principal de investigación:

- ¿Tendrá actividad antifúngica el extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 comparado con nistatina?

Conocido botánicamente como *Rosmarinus officinalis* L., crece de forma silvestre en la cuenca del Mediterráneo occidental con más de 20 cultivares, ecotipos o variedades. Siguiendo a estos autores, *R. officinalis* ha sido utilizada, desde la antigüedad, para diferentes fines medicinales, culinarios y ornamentales. Por ejemplo, en la ciencia de los alimentos, *R. officinalis* es bien conocido por su aceite esencial utilizado como conservante de alimentos; Gracias a sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes, el *Rosmarinus officinalis* L. tiene muchas otras aplicaciones alimentarias, como usos culinarios, medicinales y farmacológicos. Varias actividades farmacológicas de *R. officinalis* se han descrito y bien documentado en estudios previos como agente antimicrobiano, antiinflamatorio, atenuante, antitumoral, antiproliferativo, inhibitorio, antioxidante, antidepresivo, cicatrizante, además de propiedades cosméticas como antienvjecimiento y fotoprotector^{5,6}.

La especie *Rosmarinus officinalis* L, es una especie aromática debido a la presencia de aceite esencial, una clase compleja de mono terpenos, sesquiterpenos y fenilpropanoides que se sitúan en las partes aéreas del vegetal, posiblemente las propiedades antimicrobianas de *Rosmarinus officinalis* L, es debido al alto contenido de 1,8-cineol y compuestos fenólicos. Los constituyentes clave del aceite esencial son 1,8-cineol, alcanfor, borneol, β -cariofileno, y se sabe, además, que la composición del aceite fluctúa con la estación, el clima, la tierra, el suelo y las etapas de desarrollo. Estudios anteriores informaron que las variaciones en la composición del aceite esencial entre las poblaciones de romero se basaron en la historia genética, la diferencia varietal, la disparidad ecológica/ambiental^{7,8}.

Una serie de estudios han definido que la concentración de ácido rosmarínico varía cuando se somete a diferentes métodos de extracción (maceración con agitación, reflujo térmico y extracción asistida por microondas) y condiciones (disolvente,

temperatura y tiempo). Las actividades biológicas también cambian según el tipo de método de extracción utilizado^{9,10}

Las actividades biológicas de metabolitos secundarios y extractos de *R. officinalis* se informaron en estudios que investigaron diversos efectos, como sus actividades antitumorales, antioxidantes, antiinfecciosas, antiinflamatorias y analgésicas y efectos sobre el sistema nervioso central, el sistema endocrino, trastornos como la remodelación cardíaca después del infarto de miocardio, los cambios en el peso corporal, la dislipidemia, la isquemia cerebral, la hepatonefrotoxicidad, el estrés y la ansiedad. La actividad antiinflamatoria del romero se ha atribuido a la presencia de carnosol y ácidos carnósicos, rosmarinicos, ursólicos, oleanólicos y microméricos, que actúan sinérgicamente. Específicamente, el efecto antiinflamatorio también se atribuyó a los efectos sinérgicos de los ácidos ursólico y micromérico presentes en el extracto de romero. La atribución de efectos antiinflamatorios del extracto de *R. officinalis* se debió a la presencia de ácido ursólico, oleanólico y micromérico que actúan en combinación¹¹

Por otro lado, *Candida albicans* es un hongo comensal común que coloniza la cavidad orofaríngea, el tracto gastrointestinal y vaginal y la piel de individuos sanos. En el 50% de la población, *C. albicans* integra la flora normal de la microbiota. Las diversas manifestaciones clínicas de las especies de *Candida* van desde trastornos mucocutáneos superficiales y localizados hasta enfermedades invasivas que involucran múltiples sistemas de órganos y son potencialmente mortales¹².

Asimismo, *Candida* participa activamente en la fisiopatología de la aparición y avance de la infección, gracias a sus factores de virulencia. Un grupo de factores de virulencia provoca la colonización o el inicio de una infección, mientras que el otro grupo ayuda a propagar la infección. Otro mecanismo de virulencia de *C. albicans* es el polimorfismo que adopta, es decir el cambio de *C. albicans* de estado huésped a un estado patológico, la cual está sujeta a cambios del medio ambiente donde se encuentra¹³.

El presente estudio se sustentará mediante los siguientes estudios internacionales: Meccatti V. et al (2021), elaboraron su estudio cuya finalidad consistió en analizar el efecto de la biopelícula del extracto de *Rosmarinus officinalis* L. en levaduras

como *Candida albicans*, *Candida krusei* y *Candida tropicalis*. Los extractos en concentraciones de 50, 100 y 200mg/ml fueron expuestas durante 5 minutos o 24 horas con las cepas del estudio y el efecto fue comparado con nistatina. Los resultados evidenciaron una disminución de las biopelículas de las cepas después de ser expuestas con el extracto de *Rosmarinus officinalis* L. en ambos tiempos y su efecto fue similar a la nistatina, por tanto, el extracto de *R. officinalis* L. mostró un efecto de antibiopelícula sobre *Candida spp.* comparable a la nistatina¹⁴.

Por su parte, Saeidi S. et al (2019) publicaron su investigación con el objetivo de demostrar los efectos del extracto de la planta *Rosmarinus officinalis* sobre los parásitos *Trichomonas vaginalis* y *Candida albicans* en condiciones de laboratorio, mediante la preparación de extractos metanólicos de *Rosmarinus officinalis*. Los resultados indicaron que el extracto a base de *Rosmarinus officinalis* en una proporción de 100g/mL tiene un efecto inhibitorio sobre *Candida albicans*, de manera que el mayor diámetro inhibitorio fue de 18,3mm. El estudio concluye que el extracto a base de *Rosmarinus officinalis* L. detiene o disminuye el crecimiento de *Trichomonas vaginalis* y *Candida albicans* que pueden ser utilizados para tratar infecciones¹⁵.

Akroum S (2020), en su investigación titulada “Actividad antimicrobiana de los extractos de *Rosmarinus officinalis* y *Zingiber officinale* en las especies del género *Candida* y en *Streptococcus pneumonia*”, donde se trabajó con extractos metanólicos y etanólicos de la planta, observando que el extracto metanólico de *Rosmarinus officinalis* fue el más activo contra *Candida glabrata* y *Candida tropicalis* y el extracto etanólico de *Zingiber officinale* fue más activo en todos los microorganismos probados, por lo que el estudio concluye que el extracto metanólico de *Rosmarinus officinalis* puede ser eficaz para el tratamiento de la candidiasis por *Candida glabrata* y *Candida tropicalis*¹⁶

Lorenzo A, et al (2019), en su investigación sobre las Actividades antimicrobianas, citotóxicas y antiinflamatorias de los aceites esenciales de *Pimenta dioica* y *Rosmarinus officinalis*; los aceites de ambas especies se evaluaron sus actividades antimicrobianas utilizando un panel de cepas patógenas Gram-positivas, Gram-negativas y fúngicas. La actividad antimicrobiana se midió por la concentración

inhibitoria mínima requerida para la inhibición del crecimiento de los microorganismos. Los resultados mostraron que ambos aceites esenciales presentan actividad antimicrobiana expuestos a concentraciones que oscilan entre 600 y 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ contra estos microorganismos. El estudio concluye que el uso de aceites esenciales es una alternativa efectiva para el control patógeno bacteriano y fúngico, solos o en combinación con terapia antibiótica; además, el aceite extraído de *Rosmarinus officinalis* podría usarse como potente agente antiinflamatorio¹⁷.

Oliveira J. et al (2019) en su investigación sobre la reducción del nivel total de las proteínas de biofilms odontopatógenos por el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. frente a *Candida albicans* y *Streptococcus mutans*, con respecto a la parte procedimental se formaron biopelículas monomicrobianas durante 48h y se expusieron al extracto de *Rosmarinus officinalis* L. durante 5 min. Luego, la cuantificación de proteínas totales se realizó por el método de Lowry. El análisis de los resultados mostró una reducción significativa de la proteína total de las biopelículas después de la exposición al extracto de la planta, con $39 \pm 11\%$, para *Candida albicans*, y $32 \pm 11\%$, para *Streptococcus mutans*. El estudio concluye que el extracto de *Rosmarinus officinalis* L. disminuyó el nivel total de proteínas en ambos biofilms; por lo tanto, la composición de proteínas de *Candida albicans* y *Streptococcus mutans* podría ser un objetivo para la acción de agentes antimicrobianos¹⁸.

Elyemni M, et al. (2022) en su investigación evaluaron el perfil químico y la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* recolectado de plantas cultivadas y silvestres. El análisis de composición química se realizó utilizando las técnicas GC-MS. Entre los resultados encontrados se identificaron dieciséis compuestos en el aceite esencial de ambas muestras, en su mayoría fueron el 1,8-cineol (32,18%), alcanfor (16,20%) y α -pineno (15,40%) en el tipo cultivado y el α -pineno (51.19%) se presentó como compuesto mayoritario en las muestras de romero recolectadas de las poblaciones silvestres. La actividad antimicrobiana se investigó mediante el uso de los métodos de dilución del caldo contra levaduras, cuatro cepas bacterianas y dos mohos. En los resultados se observó mediante el análisis GC-MS, la existencia de dos quimiotipos de aceites: α -pineno y 1,8-cineol/alcanfor/ α -pineno. El estudio concluyó que ambos aceites esenciales mostraron buena actividad antimicrobiana contra todas las cepas microbianas con

valores de CMI de 0,315-2,5 mg / L¹⁹.

También, Ksouri S. et al (2017), a través de su estudio el cual tuvo por objetivo evaluar la actividad antifúngica de las esencias aromáticas de *Origanum floribundum*, *Rosmarinus officinalis* L. y *Thymus ciliatus* frente a *Candida albicans*. Los tres aceites esenciales revelaron la actividad antifúngica eficaz contra *Candida albicans*, con una concentración mínima inhibitoria del 80%. El estudio concluye que los aceites estudiados podrían ser alternativas reales para el control de infecciones por *Candida albicans*, pero necesita estudios más profundos sobre su aplicación in vivo²⁰.

Los estudios nacionales se citan a continuación: Mendoza M, Vílchez H, (2022) en su trabajo de investigación sobre el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Rosmarinus officinalis* L. frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 encontró mediante un estudio in vitro que el extracto hidroalcohólico de la planta presentó alta solubilidad en agua y etanol, así mismo, fue soluble en N-hexano y poco soluble en acetato de etilo, metanol, N-butano, así mismo, mostró halos de inhibición de 9,19mm; 11,14mm y 15,19mm frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 a las concentraciones del 20%, 40% y 60%, de similar manera halos de inhibición de 9,85 mm; 13,91 mm y 16,40 mm frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a las mismas concentraciones. El estudio concluyó que el extracto hidroalcohólico de *Rosmarinus officinalis* L. presenta efecto antibacteriano frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923²¹.

Pérez O. et al (2019), elaboraron su estudio para realizar una evaluación in vitro de la actividad antifúngica de un extracto acuoso elaborado a partir de la especie *Rosmarinus officinalis* contra *Candida albicans* mediante el método microbiológico de Kirby-Bauer en pozo. Los resultados mostraron halos inhibitorios de 21.1mm, 16.08mm, 9.20mm, 7.1mm para las concentraciones de 40, 20, 10 y 5mg/mL del extracto de *Rosmarinus officinalis*. El estudio concluye que el extracto acuoso de *Rosmarinus officinalis* presenta actividad antifúngica contra *Candida albicans*²².

Del mismo modo, Solano L. (2018), elaboró su tesis para evaluar el efecto antifúngico de la esencia aromática de la planta *Rosmarinus officinalis* contrapuesto

con el principio activo fluconazol de 25µg sobre *Candida albicans* ATCC 10231; el aceite se preparó en concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%. En los resultados el aceite de *Rosmarinus officinalis* L. al 75% formó un halo inhibitorio de 12.7mm y al 100% un halo de 14.7mm, mientras que para el fluconazol el halo inhibitorio fue de 25.8mm. Se concluye que la esencia aromática a partir del 75% y 100% si presenta efecto antifúngico sobre cepas de *Candida albicans*, pero su efecto es menor comparado con el fluconazol²³.

Asimismo, Dentone S. et al (2017), determinaron la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Microsporum canis*. El aceite fue extraído por destilación a vapor, el control positivo utilizado fue Ketoconazol y para la actividad antifúngica se hizo uso del método de Kirby-Bauer en pozo. El aceite se preparó en concentraciones de 250, 500, 1000, 2000, 5000, 10 000, 50 000 y 100 000ppm, mostrando el aceite de *Rosmarinus officinalis* una sensibilidad adecuada del *Microsporum canis* a partir de la concentración de 50,000 ppm. El estudio concluye que el aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) presenta actividad antifúngica in vitro sobre *Microsporum canis*.²⁴

El objetivo general del estudio es determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) frente a *Candida albicans* ATCC 10231 comparado con nistatina.

La hipótesis a manera general es la siguiente: Los extractos etanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. Al 50%, 75% y 100% presenta actividad antifúngica frente a *Candida albicans* ATCC 10231. MATERIALES Y MÉTODOS.

I.1. Enfoque y diseño de la investigación

El enfoque del estudio corresponde al cuantitativo, porque el nuevo conocimiento encontrado a través de los resultados con respecto al estudio de las variables fue factible de medición, cuantificación y posterior análisis estadístico en base a pruebas de hipótesis²⁵

En cuanto al diseño del estudio este corresponde al experimental, porque las

variables en investigación fueron modificadas o manipuladas deliberadamente por los investigadores para determinar su grado de relación o causalidad²⁶.

Esquema del diseño según Hernández, et al²⁷:

G1	X1	O1
G2	+	O2
G3	--	O3

G1, G2 y G3: Grupos de cepas de *Candida albicans*

X1: Tratamiento con extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.

O1, O2 y O3: Efecto observado.

-- Control negativo, sin tratamiento. (etanol)

+ control positivo (nistatina)

Así mismo la investigación fue del tipo transversal, prospectiva porque los datos fueron recolectados en un solo periodo de tiempo y estos fueron obtenidos luego del planteamiento del estudio en la etapa de ejecución²⁷.

I.2. Población, muestra y muestreo

- La población para el estudio estuvo conformada de 5 kilogramos de la especie vegetal de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. Cultivada en la zona de Mesones Muro, ubicado en el distrito y provincia de Ferreñafe, del departamento de Lambayeque.
- La cantidad de muestra necesaria para la investigación fue de 2 kilogramos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.
- El muestreo seleccionado en la investigación fue el no probabilístico, por conveniencia debido a la facilidad de acceso y disponibilidad del investigador.

Criterios de inclusión

- Especie vegetal previamente identificada
- Especie vegetal corresponda al área geográfica indica
- Muestra vegetal deben presentar mismas características de tamaño, forma

y peso.

- Cepa ATCC de *Candida albicans*.
- Muestra recolectada directamente del lugar de cultivo

Criterios de exclusión

- Muestra vegetal con signos de plagas
- Especie vegetal de diferente especie
- Tratamiento con pesticidas

I.3. Variables de investigación

Variable independiente: Extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.

- *Definición conceptual:* Sustancia que contiene los principios activos o metabolitos secundarios obtenidos por medio un proceso físico (maceración simple) con solvente polar o medianamente polar (Etanol) el cual permite extraer estos principios de las hojas de la especie de *Rosmarinus officinalis* L. mezclada con etanol²⁸.

- *Definición operacional:* Maceración de las hojas pulverizadas de *Rosmarinus officinalis* L. En etanol.

Variable dependiente: Actividad antifúngica frente a *Candida albicans*.

- *Definición conceptual:* Propiedad que presentan ciertas sustancias de producir inhibición en el crecimiento de los hongos (*Candida albicans*) u otros microorganismos mediante la acción directa por medio de difusión en placa del principio activo en cultivos del microorganismo en estudio, el cual es medido mediante la formación del halo de inhibición de crecimiento²⁹.

- *Definición operacional:* Medida del tamaño del halo de inhibición formado.

I.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

Técnicas:

Ficha de recolección de datos – Microbiológica: A través, de este instrumento se plasmó la información referida al tamaño en milímetros (mm) de los halos inhibitorios formados por el extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. A diferentes concentraciones, tomada como

referencia de Lozano L. (2018) ²³

Ficha de recolección de datos – Solubilidad: haciendo uso de este instrumento se plasmó la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. En varios solventes tomando como referencia los estudios realizados por Torre M, et al (2018)³⁰.

I.5. Plan metodológico para la recolección de datos

Se basó en un modelo de estudio experimental in vitro realizado por Flores, et al (2020) y Meccatti (2021), cuyos procedimientos se adaptaron al estudio de la siguiente manera:

II.5.1 Elaboración del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L³⁰.

Los autores de la investigación recolectaron 5 kilogramos de la planta *Rosmarinus officinalis* L. De la zona de cultivo ubicada en el distrito y provincia de Ferreñafe, del departamento de Lambayeque; luego de recolectada la especie vegetal se trasladó en papel kraft hasta el laboratorio para iniciar su procesamiento.

Las hojas de la planta en estudio fueron seleccionadas según su tamaño, forma y estado, evitando recolectar hojas en mal estado, o de otra especie vegetal, luego de esto se procedió con el lavado y desinfección de las hojas para luego ser secadas a temperatura ambiente bajo sombra, posteriormente se procedió a su secado y deshidratación en estufa a 45°C, y posteriormente fueron pulverizadas con un molinillo de cuchillas hasta obtener un polvo fino, el que fue colocado en un frasco ámbar de 4 Lt de capacidad, luego se agregó etanol en cantidad suficiente para cubrir la muestra y se dejó macerar por 10 días.

El macerado pasó a un proceso de filtrado y luego fueron evaporados en una estufa a 55°C hasta obtener el extracto, el que fue reconstituido con agua destilada considerando las concentraciones de 100mg/ml (100%), 75mg/ml (75%) y 50mg/ml (50%) para luego evaluar su

actividad antifúngica contra *Candida albicans*.

Calculo del porcentaje de rendimiento del extracto

Para realizar el cálculo del porcentaje de rendimiento obtenido del extracto, se empleó la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Peso del Extracto etanólico de Romero}}{\text{Peso total de la muestra empleada}} \times 100 = \% \text{ Rendimiento}$$

Peso del extracto etanólico de romero = 158 gr

Peso total de la muestra = 5000 gr

$$\frac{158 \text{ gr de Romero}}{5000 \text{ gr muestra}} \times 100 = \% \text{ Rendimiento}$$

$$3,16 = \% \text{ Rendimiento}$$

II.5.2 Actividad antifúngica

Se siguió los protocolos establecidos por el manual de pruebas microbiológicas M100 para cepas ATCC³¹, para determinar la actividad antifúngica de la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 fue obtenida del laboratorio Microbiologics, está fue activada por disolución y se sembró en placa con medio de Agar Glucosado de Sabouraud y luego fueron llevadas a incubación a 37°C por 24 a 48 horas luego del cual se visualizaron las colonias de la cepa.

Después de haberse formando las colonias de *Candida albicans*, se procedió a preparar el inóculo bacteriano; por lo tanto, con un hisopo estéril de microbiología se tomó una muestra de las colonias y luego se introduce en un tubo con agua estéril, se realizaron varias diluciones hasta llegar a la escala de McFarland de 0.5 por observación directa.

A partir del inóculo se sembró *Candida albicans* en 15 placas Petri, utilizando la técnica de Kirby-Bauer modificada en pozo, por lo que se usó un sacabocado de 6mm de diámetro para realizar los pocitos dentro

de cada placa y se adicionó en cada pocito 30µl de cada extracto. Todas las placas fueron llevadas a la incubadora por 24 horas a 37°C, después de ello se observó la formación de zonas inhibitorias alrededor de cada pocito inoculado con el extracto.

De la misma manera, para los grupos controles se utilizó también 15 placas Petri, cada una con dos pocitos inoculados con 30µl nistatina (control positivo) y de etanol (control negativo).

La recolección de los datos se realizó mediante el equipo vernier digital, el cual midió el tamaño de los halos inhibitorios en milímetros(mm) formados alrededor del pozo, estos datos quedaron anotados en la ficha de datos para el análisis microbiológico.

I.6. Procesamiento de los análisis estadísticos

Los datos fueron recolectados y registrados en la ficha de datos, estos fueron analizados y procesados en el software estadístico llamado SPSS versión 26, mediante este programa se analizaron los datos y obtuvo la estadística descriptiva, además se realizaron las pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas para determinar el comportamiento paramétrico de los grupos de datos, finalmente se aplicaron las pruebas inferenciales de ANOVA y Tukey para contrastar la hipótesis de investigación con un nivel de significancia 0.05^{32,33}.

I.7. Aspectos éticos

La presente investigación se elaboró respetando los aspectos éticos y normativos establecidos por la universidad, así mismo, se emplearon criterios de bioseguridad aplicando protocolos y guías establecidos por la Organización de la Salud en el manejo de material biocontaminado en laboratorios de ensayo, del mismo modo los investigadores se responsabilizan por el contenido y originalidad de la información brindada, sometiéndonos a la evaluación de similitud o plagio que las políticas de la universidad exigen; del mismo modo, el contenido que presente la investigación es de entera responsabilidad de los autores, sometiéndonos al comité de ética de la universidad en caso de incumplir alguna norma³⁴⁻³⁶.

II. RESULTADOS

Tabla 1. Prueba de solubilidad

Tubo	Solvente empleado	Solubilidad en el solvente
1	Agua	+
2	Metanol	++
3	Etanol	++
4	Alcohol ter-butílico	+
5	Acetona	+
6	Hexano	-
7	Cloroformo	-
8	Dimetilsulfoxido	+

Leyenda:

- insoluble (-)
- Medianamente Soluble (+)
- Soluble (++)
- Totalmente soluble (+++)

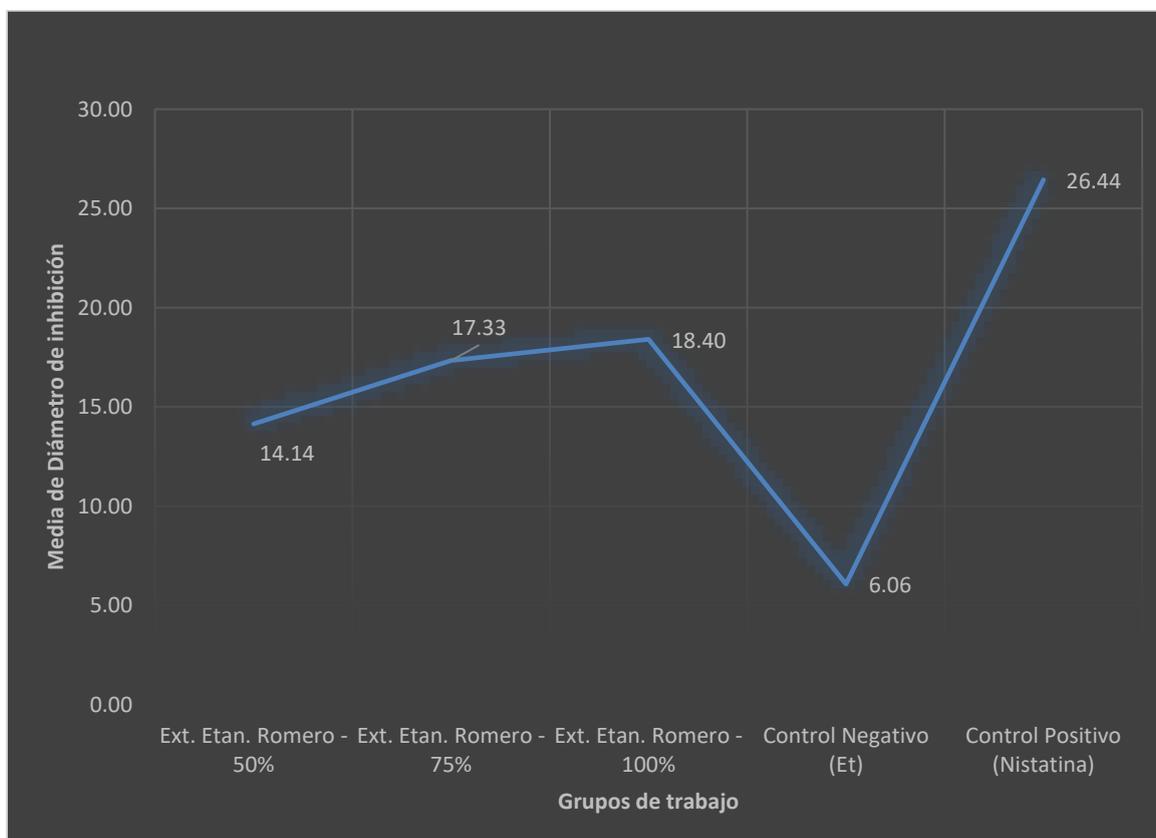
Se observa en la Tabla 1, los análisis de solubilidad en el extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. frente a diferentes solventes tanto polares como no polares, mostrando ser insoluble a hexano y cloroformo, ser medianamente soluble a acetona, agua, alcohol ter-butílico, dimetilsulfoxido y soluble etanol y metanol, esta característica muestra afinidad por solventes polares y medianamente polares.

Tabla 2. Actividad antifúngica de los extractos

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Ext. Etan. Romero 50%	15	14,14	0,46	0,12	13,88	14,39	13,53	14,94
Ext. Etan. Romero 75%	15	17,33	0,32	0,08	17,16	17,51	16,87	18,06
Ext. Etan. Romero 100%	15	18,40	0,32	0,08	18,23	18,58	17,69	18,93
Control Negativo (Et)	15	6,06	0,43	0,11	5,83	6,30	5,14	7,03
Control Positivo nistatina)	15	26,44	0,33	0,09	26,26	26,63	25,82	26,88
Total	75	16,48	6,65	0,77	14,94	18,01	5,14	26,88

En la Tabla 2, se realiza el análisis el efecto antifúngico del extracto etanólico las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. A las concentraciones de 50%, 75% y 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231, in vitro; en función del halo de inhibición, según los datos recolectados, donde se obtuvo un valor promedio de las 15 mediciones de los halos de inhibición, así mismo, se observa los parámetros estadísticos obtenidos de estos datos, como la desviación estándar, error estándar, intervalos de confianza con respecto a la media y los valores máximo y mínimo registrados en el momento de la recolección de datos. Los valores que presenta los halos de inhibición fueron de $14,14 \pm 0,46$ mm para el extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. Al 50%, de $17,33 \pm 0,32$ mm para el extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. al 75% y de $18,40 \pm 0,32$ mm para el extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. al 100%, los grupos control obtuvieron halos de inhibición promedio de $6,06 \pm 0,43$ mm para el control negativo y de $26,44 \pm 0,33$ mm para el control positivo.

Figura 1. Actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* al 50%, 75% y 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231



De la Figura 1, se puede observar el comportamiento del efecto antifúngico del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. Y de los grupos control en función del tamaño del halo de inhibición, se observa un evidente efecto antifúngico al comparar los extractos con respecto al control negativo y un efecto menor al compararlo con el control positivo.

Evaluación de la estadística paramétrica:

Tabla 3. Determinación de la distribución normal

	Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición (mm)	Ext. Etan. Romero - 50%	0,936	15	0,332
	Ext. Etan. Romero - 75%	0,944	15	0,432
	Ext. Etan. Romero - 100%	0,959	15	0,669
	Control Negativo (Et)	0,965	15	0,784
	Control Positivo (nistatina)	0,931	15	0,282

Mediante la prueba de Shapiro – Wilk que se presenta en la tabla 3, se demuestra la distribución normal de todos los datos recolectados, el valor de significancia obtenido por cada grupo de trabajo con respecto al tamaño del halo de inhibición, muestran valores superiores al 0.05, en tal sentido, se demuestra la distribución normal de los datos proporcionados.

Tabla 4. Determinación de la homogeneidad de varianzas entre grupos

		Estadístico de Levene	df1	df2	p-valor
Diámetro del halo de inhibición	Basado en la media	1,355	4	70	0,258
	Basado en la mediana	1,239	4	70	0,303
	Basado en la mediana con ajuste de df	1,239	4	61,217	0,304
	Basado en la media recortada	1,354	4	70	0,259

La prueba de Levene o de homogeneidad de varianzas que se muestra en la tabla 4, permite determinar por medio del análisis de la media de cada grupo, si las varianzas entre estos son homogéneas, para el caso, se muestra un p-valor, basado en la media, superior al valor de significancia aceptando por el estudio, por lo tanto, se confirma que existe homogeneidad de las varianzas de los grupos de datos estudiados.

Tabla 5. Comparación de las medias (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	3264,679	4	816,170	5793,964	0,000
Dentro de los grupos	9,861	70	0,141		
Total	3274,540	74			

La tabla 5, donde se valora los valores de las medias de los grupos de datos, permite determinar si los grupos poseen características similares con respecto al tamaño del halo de inhibición encontrado, en el presente caso se observa que el p-valor es inferior al nivel de significancia del estudio, por lo tanto, existe diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los grupos de datos, lo que confirma que los efectos antibacterianos que poseen los grupos son diferentes.

Tabla 6. Análisis de datos mediante la prueba de Tukey

Diámetro de inhibición						
HSD Tukey ^a						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo (Et)	10	6,06				
Ext. Etan. Romero - 50%	10		14,14			
Ext. Etan. Romero - 75%	10			17,33		
Ext. Etan. Romero - 100%	10				18,40	
Control Positivo (nistatina)	10					26,44
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.						
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.						

La prueba de Tukey a comparación de la prueba de ANOVA, permite comparar los grupos de datos con respecto a su media, y determinar cuál de ellos presenta mayor o efecto, según la ubicación en columnas, correspondiente al mayor efecto a los valores ubicados en la columna de mayor numeración, por consiguiente, el efecto negativo solo se muestra en el grupo control negativo, lo que demuestra el efecto antifúngico de los demás grupos de estudio.

Tabla 7. Sensibilidad antifúngica según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 14-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control Negativo (Et)	6,06			
Ext. Etan. Romero - 50%			14,14	
Ext. Etan. Romero - 75%			17,33	
Ext. Etan. Romero - 100%			18,40	
Control Positivo (nistatina)				26,44

La escala de Duraffourd mostrada en la tabla 7, permite determinar de similar manera la sensibilidad antifúngica de *Candida albicans*, contra los grupos de estudio, de esta manera, se puede observar que este microorganismo presenta sensibilidad nula al control negativo (etanol), es muy sensible a los extractos etanólicos de hojas de *Morinda citrifolia* L. (Noni) y altamente sensible al control positivo (clorhexidina).

III. DISCUSIÓN

III.1. Discusión de resultados

Las enfermedades producidas por hongos son muy comunes en la sociedad, sobre todo las producidas por el género *Candida albicans*, la cual es una especie que ha mostrado altos índices de resistencia a los antimicóticos convencionales, elevando las tasas de morbilidad y mortalidad intrahospitalaria, en tal sentido, el presente trabajo de investigación intentó buscar una alternativa para combatir las infecciones producidas por *Candida albicans* mediante la determinación de la actividad antifúngica que presenta el extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. Donde se discuten los resultados encontrados a continuación.

Con respecto al primer objetivo, sobre evaluar la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. esta se realizó en solventes polares y apolares, y logró determinar que el extracto es medianamente soluble a acetona, agua, alcohol ter-butílico, Dimetilsulfoxido y soluble etanol y metanol, de manera similar Mendoza M, et al (2022) realizó un estudio donde evidenció la solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. en etanol, agua excepto N-hexano, esta diferencia entre los resultados encontrados en ambos estudio puede deberse a el grado de pureza del etanol empleado en ambos estudios para extraer los metabolitos, estas características con respecto a la solubilidad en diferentes tipos de solventes, muestra las propiedades moleculares de los metabolitos según la polaridad que presentan dándonos una idea de su conformación molecular y propiedades.

Con respectivo al segundo objetivo del estudio, determinar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. a las concentraciones del 50%, 75% y 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231; los extractos etanólicos mostraron halos de inhibición de $14,14 \pm 0,46$ mm para el extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. al 50%, de $17,33 \pm 0,32$ mm para el extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. al 75% y de $18,40 \pm 0,32$ mm para el extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. al 100%, en tal sentido, la investigación de Saeidi, et al (2019) expusieron los extractos metanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. frente

a *Trichomonas vaginalis* y *Candida albicans* demostrando actividad frente a estos microorganismos, lo que demuestra actividad similar del extracto etanólico y metanólico ya que muestra halos de inhibición de tamaños parecidos en ambos estudios contra el mismo microorganismo, esto se debe a que tanto el etanol como el metanol presentan características físico-químicas similares y el mismo poder extractivo, de la misma manera, Ksouri (2017) determinó también la actividad antifúngica del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. frente a *Candida albicans*, del mismo modo, que lo demostró Solano (2018) con el aceite de esta planta a las concentraciones de 100%, 75%, al comparar los resultados obtenidos en el estudio se observa halos de inhibición de superiores con respecto a nuestro estudio, por lo que se puede deducir que la actividad antifúngica es mayor en el extracto etanólico con respecto al aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. lo que indicaría que la mayoría de metabolitos con poder antifúngico contra *Candida albicans* estarían contenidos en mayor proporción en extracto etanólico de la planta; por otro lado, el extracto acuoso de dicha planta también fue evaluado por Pérez, et al (2019), contra el mismo hongo, evidenciando mayor halo de inhibición en los extractos acuosos, frente al extracto etanólico, lo que demuestra que el solvente que mejor extrae los metabolitos con actividad antifúngica sería el que presenta mayor polaridad, ya que el extracto acuoso emplea al agua que presenta mayor polaridad que el etanol, en tal sentido, se puede deducir que las moléculas con actividad antifúngica serían estructuras altamente polares o sin elevada cantidad de grupos que forman puentes de hidrógeno, estas características la comparten los compuestos fenólicos, flavonoides entre otros metabolitos, que según estudios se ha demostrado presentan propiedades medicinales entre ellas las de tener actividades antibacterianas y antimicóticas contra diferentes microorganismos.

Así mismo, el estudio realizado por Akroum S (2020), también demostró la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y metanólicos de *Rosmarinus officinalis* y *Zingiber officinale* en las especies del género *Candida* como *Candida glabrata* y *Candida tropicalis*, además del *Streptococcus pneumoniae*, por otro lado, Meccatti, et al (2021), también mediante su trabajo de investigación también demostraron la actividad antifúngica por parte *Rosmarinus officinalis* L. al exponer el extracto etanólico de esta planta en biopelículas con levaduras como *Candida albicans*,

Candida krusei y *Candida tropicalis*, en ese sentido encontró disminución en las biopelículas formadas durante una exposición por 24 horas de los extractos a estos microorganismos, esto de igual manera demuestra el poder antifúngico que presenta el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. en la formación de biopelículas por diferentes tipos de hongos (*Candidas*) y su aplicabilidad en el campo de la salud en enfermedades invasivas por diferentes hongos.

Por otro lado, Lorenzo A, et al (2019), también investigó las propiedades antimicrobianas, citotóxicas y antiinflamatorias de los aceites esenciales de *Pimenta dioica* y *Rosmarinus officinalis* frente a cepas patógenas Gram-positivas, Gram-negativas y fúngicas observando que ambos aceites esenciales presentan actividad antimicrobiana al exponerlos a concentraciones que oscilan entre 600 y 2000 μ g/ml contra estos microorganismos, de manera similar Oliveira J. et al (2019) en su investigación sobre la reducción del nivel total de las proteínas de biofilms odontopatógenos por el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. frente a *Candida albicans* y *Streptococcus mutans* también logró demostrar un efecto antifúngico por parte del extracto mediante una reducción significativa de la proteína total de las biopelículas después de la exposición al extracto de la planta, con $39 \pm 11\%$ para *Candida albicans* y $32 \pm 11\%$, para *Streptococcus mutans*, esto demuestra que el poder antimicrobiano de esta planta se presenta tanto en su aceite esencial como en sus extractos, además de poseer acción contra diferentes tipos de microorganismos como *Candida albicans* y *Streptococcus mutans* e inclusive en la formación de biopelículas.

El estudio realizado por Elyemni M, et al. (2022) también permitió comparar las propiedades antimicrobianas contra levaduras, cuatro cepas bacterianas y dos mohos mediante la técnica de dilución en caldo, de dos muestras de *Rosmarinus officinalis*, cultivadas y silvestres indicando que ambos aceites presentan buena actividad antimicrobiana contra todas las cepas microbianas con valores de CMI de 0,315-2,5 mg / L; esto demuestra que las propiedades de la planta no solo dependen de la especie sino también de las condiciones del medio ambiente donde se desarrollan, lo que influirá en la cantidad y calidad de sus metabolitos y por consecuencia en su poder antimicrobiano.

Con respecto al tercer objetivo del estudio, al comparar la sensibilidad antifúngica de *Candida albicans* ATCC 10231 frente a los extractos etanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. comparados con Nistatina 100 mg/mL, lo que se evidenció mediante pruebas estadísticas inferenciales de ANOVA y Tukey que permitieron contrastar la hipótesis de la investigación referente a la mayor sensibilidad antifúngica de *Candida albicans* ATCC 10231 frente a los extractos etanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L., lo que evidencio que *Candida albicans* ATCC 10231 presenta mayor sensibilidad a Nistatina 100 mg/mL en comparación con los extractos etanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.

Por otro lado, al comparar los resultados encontrados de los extractos etanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. y Nistatina 100 mg/mL mediante la valoración en la escala de Duraffourd, *Candida albicans* ATCC 10231 también presentó mayor sensibilidad antifúngica a la nistatina 100 mg/mL, resultados diferentes se encontraron en el estudio realizado por su Meccatti, et al (2021), donde al exponer los extractos de *Rosmarinus officinalis* L. a biopelículas con *Candida albicans*, *Candida krusei* y *Candida tropicalis* y compararlos con nistatina 100 mg/mL demostró que ambos presentan similar efecto antifúngico existiendo controversia en los resultados ya que no se muestran similares, en tal sentido, es posible que el efecto del extracto se vea aumentado en los hongos alojados en las biopelículas, por el efecto de competición por el mismo sustrato en entre ellos; así mismo, Solano (2018), al enfrentar el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. frente a *Candida albicans* ATCC 10231 y compararlos con fluconazol de 25µg, este último presentó mayor efecto que el aceite; lo que evidencia al igual que nuestro estudio que los medicamentos que se comercian en el mercado farmacéutico presentan mayor actividad antimicótica que los extractos de las plantas medicinales, sin embargo, un punto a tener en consideración luego de analizar los resultados encontrados por otros autores es que el aceite podría presentar menor efecto que el extracto etanólico, en tal sentido, es necesario profundizar en este aspectos con nuevos estudios que nos permitan realizar la comparación directa entre los extractos etanólicos y el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L.

Rosmarinus officinalis presenta propiedades terapéuticas que se ha utilizado en las industrias de medicina popular, farmacéutica y cosmética, principalmente por sus

propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, que se atribuyen a la presencia de ácidos carnosol / carnósico y ursólicoa, así mismo, se ha explorado el uso terapéutico del romero para el tratamiento de enfermedades inflamatorias; sin embargo, se han estudiado otros usos, como la cicatrización de heridas y los tratamientos para el cáncer de piel y las micosis, entre otros. Además de sus usos terapéuticos, el *Rosmarinus officinalis* tiene aplicaciones potenciales en formulaciones cosméticas y en el tratamiento de afecciones patológicas y no patológicas, como la celulitis, la alopecia, el daño ultravioleta y el envejecimiento.

Sin duda el alto contenido de 1,8-cineol presentes en el aceite esencial y compuestos fenólicos generalmente encontrados en los diferentes tipos de extractos tanto acuosos, metanólicos y etanólicos aportan grandes propiedades medicinales a esta planta; además se sabe, que la composición de estos metabolitos fluctúa con la estación, el clima, la tierra, el suelo y las etapas de desarrollo de la planta; así mismo estudios anteriores informan que las variaciones en la composición de los metabolitos secundarios de diferentes poblaciones de romero se basan también en la historia genética, la diferencia entre las variedades entre otros.

III.2. Conclusión

- El extracto etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. presentó ser soluble en etanol y metanol, ser medianamente soluble en agua, alcohol ter-butílico, acetona y dimetilsufóxido e insoluble para hexano y cloroformo.
- Se determinó la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. al 50%, 75% y 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231 mediante la formación de halos de inhibición de $14,14 \pm 0,46$ mm; $17,33 \pm 0,32$ mm y $18,40 \pm 0,32$ mm respectivamente.
- *Candida albicans* ATCC 10231 presenta mayor sensibilidad antifúngica frente a nistatina 100 mg/mL con un halo de inhibición promedio de $26,44 \pm 0,33$ mm comparado con los extractos etanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L.

IV.3. Recomendaciones

- Se recomienda a futuras investigaciones complementar los estudios de solubilidad con estudios fitoquímicos que nos permitan evidenciar el tipo de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis*.
- A otros tesisistas, realizar estudios complementarios al realizado sobre diferentes tipos de microorganismos para evidenciar su total capacidad antibacteriana.
- A otras investigaciones, realizar estudios de toxicidad animal de los extractos etanólicos de las hojas de *Rosmarinus officinalis* para confirmar su inocuidad.
- En las instituciones de salud, usar como medicina complementaria en el tratamiento de diferentes tipos de micosis.
- A la comunidad farmacéutica, realizar formulaciones farmacéuticas con este extracto que permitan su uso terapéutico en las patologías de la piel.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos Protocolo de implementación temprana para la inclusión de *Candida* spp. 2019; Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/326927/WHO-WSI-AMR-2019.4-spa.pdf?ua=1>
2. Roncero M, García R. Micosis cutaneas. *Pediatría Integral* [Internet]. 2021;15(3):146–54. Available from: https://www.pediatriaintegral.es/wp-content/uploads/2021/xxv03/05/n3-146-154_MonicaRoncero.pdf
3. Suarez A, Domínguez M, Diaz B, Martin M. Protocolo diagnóstico y terapéutico de las infecciones fúngicas de la piel - ScienceDirect. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* [Internet]. 2022 [cited 2022 Jun 5];13(47):2769–74. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304541222000075>
4. Macalupú Z. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2018;35(1):126. Available from: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3563/2942>
5. Andrade JM, Faustino C, Garcia C, Ladeiras D, Reis CP, Rijo P. *Rosmarinus officinalis* L.: An update review of its phytochemistry and biological activity. *Future Sci OA* [Internet]. 2018 Feb 1 [cited 2022 Nov 30];4(4). Available from: <https://www.future-science.com/doi/10.4155/fsoa-2017-0124>
6. SciELO - Brasil - **Rosmarinus officinalis L. (rosemary) extract has antibiofilm effect similar to the antifungal nystatin on *Candida* samples** [Internet]. [cited 2022 Apr 26]. Available from: <https://www.scielo.br/j/aabc/a/hrcr8HjNmTkxHrXT4y48jsH/abstract/?lang=en>
7. Dentone S, Morales S. Determinación in vitro de la Actividad Antimicótica del Aceite de Romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Microsporum canis* [Internet]. Vol. 28, *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017. p. 56–61. Available from:

- <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v28n1/a05v28n1.pdf>
8. Flores Villa E, Sáenz Galindo A, Castañeda Facio AO, Narro Céspedes RI. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, ISSN 2395-8723, Vol 23, N° 1, 2020, págs 1-17 [Internet]. 2020 [cited 2022 Nov 30];23(1):1–17. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7943202&info=resumen&idoma=ENG>
 9. Mejía P. Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos alcohólico y acuoso de romero (*Rosmarinus officinalis*) frente a un compuesto sintético. [Internet]. 2019. Available from: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/17965/1/UPS-CT008529.pdf>
 10. Arroyo AFT. RENDIMIENTO DE ACEITE ESENCIAL EN HOJAS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis* L.). Prospectiva Universitaria [Internet]. 2006 Jan 15 [cited 2022 Nov 30];3(1):50–2. Available from: <https://revistas.uncp.edu.pe/index.php/prospectiva/article/view/1241>
 11. Malvezzi L, Mendes É, Militao L, Lacalendola L, Artem J, Barbosa E, et al. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) A Review. *Plants*. 2020;9(651):1–12.
 12. Talapko J, Juzbasic M, Matijevic T, Pustijanac E, Bekic S, Kotris I. *Candida albicans*—The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *Journal of Fungi* [Internet]. 2021 [cited 2022 Apr 26];7(2):78–9. Available from: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/2/79/htm>
 13. di Cosola M, Cazzolla AP, Charitos I, Ballini A, Inchingolo F, Santacroce L. *Candida albicans* and Oral Carcinogenesis. A Brief Review. *Journal of Fungi* [Internet]. 2021 Jun 12;7(6):476. Available from: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/6/476>
 14. Meccatti V, de Oliveira J, Figueira L, Lagareiro Netto, Zamarioli L, Marcucci M, et al. *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) extract has antibiofilm effect similar to the antifungal nystatin on *Candida* samples. *An Acad Bras Cienc* [Internet]. 2021 Apr 30;93(2):1–15. Available from: <https://www.scielo.br/j/aabc/a/hrcr8HjNmTkxHrXT4y48jsH/abstract/?lang=en>
 15. Saeidi S, Forgani F, Javadian F, Javadian E. Effects of *Rosmarinus Officinalis* Plant Extract on *Trichomonas Vaginalis* Parasites and *Candida albicans*

- under Laboratory Conditions: An Experimental Study. *Gene Cell Tissue* [Internet]. 2019 Jul 31;6(3). Available from: <http://eprints.zaums.ac.ir/3602/1/gct-6-3-92867%20%286%29.pdf>
16. Akroum S. Activité antimicrobienne des extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Zingiber officinale* sur les espèces du genre *Candida* et sur *Streptococcus pneumoniae*. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 2021 Jan 1;79(1):62–9.
 17. Lorenzo A, Palou E, López A, Bach H. Antimicrobial, Cytotoxic, and Anti-Inflammatory Activities of *Pimenta dioica* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils. *BioMed Research International*. 2019;2019.
 18. Oliveira J, Santana G, Afonso S, Reis L, Oliveira L. Total protein level reduction of odontopathogens biofilms by *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) extract: an analysis on *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. *Brazilian Dental Science*. 2019;
 19. Elyemni M, El-Ouadrhiri F, Lahkimi A, Elkamli T, Bouia A, Eloutassi N. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Wild and Cultivated *Rosmarinus Officinalis* from Two Moroccan Localities. *Journal of Ecological Engineering*. 2022;23(3):214–22.
 20. Ksouri S, Djebir S, Bentorki AA, Gouri A, Hadeif Y, Benakhla A. Antifungal activity of essential oils extract from *Origanum floribundum* Munby, *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus ciliatus* Desf. against *Candida albicans* isolated from bovine clinical mastitis. *J Mycol Med* [Internet]. 2017 Jun 1;27(2):245–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1156523317300173>
 21. Mendoza M, Gonzales F. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 y *Staphylococcus aureus* ATCC [Internet]. Universidad María Auxiliadora; 2022. Available from: https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1120/TESIS_MENDOZA-GONZALES.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 22. Pérez O, Vallejos E. Actividad antifúngica in vitro del extracto crudo acuoso de *Rosmarinus officinalis* contra *Candida albicans*. *Journal of the Selva Andina Research Society* [Internet]. 2019;10(1). Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942019000100006

23. Lozano L. Efecto antifungico del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) sobre cepas de *Candida albicans* AATCC 10231 comparado con fluconazol [Internet]. [Trujillo]; 2018. Available from: https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25513/solano_rl.pdf?sequence=1&isAllowed=y
24. Dentone Sandra, Morales Cauti. Determinación in vitro de la actividad antimicótica del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis*) sobre *Microsporum canis*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* [Internet]. 2017 Jan 1;28(1):56–61. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172017000100005
25. Pavón P, Gogeoascoechea M. Metodología de la Investigación II. Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias de la Salud [Internet]. 2014 [cited 2022 May 16];44. Available from: http://sapp.uv.mx/univirtual/especialidadesmedicas/mi2/modulo1/docs/Diseño_osde...pdf
26. Anonimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Available from: http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf
27. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación [Internet]. 6ta ed. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014. Available from: https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf
28. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica. Plantas medicinales. 2da ed. Editorial Acribia, S.A.; 2010.
29. Rojas N, Chaves E, García F. Bacteriología diagnóstica. Universidad de Costa Rica. Costa Rica: Facultad de Microbiología; 2015.
30. Rodenas D, Rodríguez A. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de tallos de *Rosmarinus officinalis*.L (Romero) en cultivos de “*Staphylococcus aureus*” estudio invitro. 2018.
31. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition [Internet]. CLSI. 2020. Available from: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
32. Díaz V. Metodología de la Investigación Científica y Bioestadística. 2da ed.

- RIL®, editor. Chile: Universidad Finis Terrae; 2010. 564 p.
33. Abad F, Olea J, Ponsoda V, García C. Medición en Ciencias Sociales y de la Salud. 1era ed. Editorial Sintesis SA, editor. Vol. 4, Sintesis. 2557. 88–100 p.
 34. Universidad de Navarra. Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. España; 2013.
 35. OMS. Limpieza y desinfección de las superficies del entorno inmediato en el marco de la COVID-19. Organización mundial de la salud. 2020;1–3.
 36. MINSA/DIGESA. Norma Técnica de Salud : " Gestión y Manejo de Residuos Sólidos en Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de Apoyo a nivel Nacional ". Norma Técnica De Salud N° N° 096- MINSA/DIGESA-V01. 2010;1:63.

ANEXOS

ANEXO A: Instrumento de recolección de datos

Número de placas	Extracto etanólico de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero)			GRUPOS CONTROL	
	50%	75%	100%	Control Negativo (etanol 96°)	Control positivo (nistatina) 100 mg/mL
Placa N°01	14,23	17,29	18,47	6,08	26,26
Placa N°02	13,86	16,88	18,85	5,95	26,05
Placa N°03	14,73	17,27	18,23	7,03	26,80
Placa N°04	14,73	16,87	18,23	5,14	26,76
Placa N°05	13,53	18,06	18,39	6,14	26,77
Placa N°06	14,94	17,24	18,35	6,52	26,88
Placa N°07	14,55	17,51	17,69	5,59	26,40
Placa N°08	14,34	17,38	18,93	5,99	26,68
Placa N°09	13,74	17,77	18,29	6,34	26,05
Placa N°10	13,69	17,44	18,79	5,87	26,63
Placa N°11	13,88	17,33	18,55	6,37	26,32
Placa N°12	13,79	17,40	18,27	5,92	26,08
Placa N°13	13,54	17,08	18,43	6,23	26,62
Placa N°14	14,17	16,99	18,05	5,78	26,52
Placa N°15	14,33	17,45	18,52	6,02	25,82

ANEXO B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Tendrá actividad antifúngica el extracto etanólico de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 comparado con nistatina?	Determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 comparado con nistatina	El extracto etanólico de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) presenta actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 comparado con nistatina
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
<ul style="list-style-type: none"> ¿Cuál será la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) en solventes polares y apolares? 	Evaluar la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) en solventes polares y apolares.	<ul style="list-style-type: none"> El extracto etanólico de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) es soluble en solventes polares
<ul style="list-style-type: none"> ¿Cuál será la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) al 50%, 75% y 100% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231? 	<ul style="list-style-type: none"> Determinar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) al 50%, 75% y 100% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. 	Los extractos etanólicos de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) al 50%, 75% y 100% presenta actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231

<ul style="list-style-type: none"> ¿Cuál será la sensibilidad antifúngica de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 frente a los extractos etanólicos de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) comparado con nistatina? 	<ul style="list-style-type: none"> Comparar la sensibilidad antifúngica de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 frente a los extractos etanólicos de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) comparado con nistatina 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 tiene mayor sensibilidad frente a los extractos etanólicos de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) comparado con nistatina
---	--	---

ANEXO C: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ITEMS	VALOR
Variable independiente: Extracto etanólico de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero).	Producto obtenido del proceso de maceración de la muestra vegetal con etanol	Maceración de las hojas pulverizadas de las hojas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Romero) en etanol.	Prueba de Solubilidad	Soluble Poco soluble Insoluble	Razón	8	1+ 2+ 3+
			Concentración del extracto	Porcentaje			3

<p>Variable dependiente: Actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i>.</p>	<p>Inhibición en el crecimiento de los hongos (<i>Candida albicans</i>)</p>	<p>Medida del tamaño del halo de inhibición formado</p>	<p>Método de Difusión de pozo</p>	<p>Nulo Poco Sensible Sensible Muy sensible</p>	<p>Razón</p>	<p>4</p>	<p>≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm: (+++)</p>
---	---	---	-----------------------------------	---	--------------	----------	---

ANEXO D: Validación por juicio de expertos

UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA
FACULTAD DE CIENCIAS DE SALUD Escuela
Profesional de Farmacia y Bioquímica

FICHA DE VALIDACIÓN

Nombre del instrumento de evaluación	Autores del instrumento
Ficha de Recolección de datos	- DE LA CRUZ DÍAZ, LUZ MARÍA - MIL SAMPÉN, JOHANNA JAKELINE
Título de investigación: ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (ROMERO) FRENTE A <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 COMPARADO CON NISTATINA	

I. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	(x)	()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	()	(x)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	()	()	(x)
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	()	()	(x)
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	()	(x)
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	()	(x)	()

II.- SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?
Ninguna
2. ¿Qué ítems considera usted que podrían eliminarse?
Ninguna
3. ¿Qué ítems considera usted que deberían reformularse o precisarse mejor?
Ninguna

Fecha:05-09-2022

Validado por: Mg. Pineda Pérez Neuman Mario

Firma:

UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA
FACULTAD DE CIENCIAS DE SALUD
Escuela Profesional de Farmacia y
Bioquímica

FICHA DE VALIDACIÓN

Nombre del Instrumento de evaluación	Autores del Instrumento
Ficha de Recolección de datos	- DE LA CRUZ DÍAZ, LUZ MARÍA - MIL SAMPEN, JOHANNA JAKELINE
Título de investigación: ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (ROMERO) FRENTE A <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 COMPARADO CON NISTATINA	

I. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

CRITERIOS	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	()	()	(x)	()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	()	(x)	()
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	()	()	()	(x)
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	()	(x)	()
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	(x)	()
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	()	(x)	()

II. SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse? -
2. ¿Qué ítems considera usted que podrían eliminarse? -
3. ¿Qué ítems considera usted que deberían reformularse o precisarse mejor? -

Fecha: 22 de setiembre de

Validado por: Dr. Victor Humberto Chero Pacheco

Firma:



FICHA DE VALIDACIÓN

Nombre del instrumento de evaluación	Autores del instrumento
Ficha de recolección de datos	- DE LA CRUZ DÍAZ, LUZ MARÍA - MIL SAMPEN, JOHANNA JAKELINE
Título de investigación: ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (ROMERO) FRENTE A <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 COMPARADO CON NISTATINA	

I. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	()	()	()	(X)	()	()	()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	()	()	()	()	(X)	()	()
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	()	()	()	(X)	()	()	()
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	()	()	()	()	(X)	()	()
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	(X)	()
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	()	()	()	()	(X)	()	()

II.- SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?
2. ¿Qué ítems considera usted que podrían eliminarse?
3. ¿Qué ítems considera usted que deberían reformularse o precisarse mejor?

SUGERENCIAS: Modificar título. Corregir las concentraciones y verificar su matriz de consistencia.

Fecha: Lima, 22 de setiembre de 2022

Validado por: Mg. PABLO ANTONIO LA SERNA LA ROSA

Firma: 

ANEXO E: Aceptación del Laboratorio



UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

San Juan de Lurigancho 08 de agosto del 2022

CARTA N°162-2022/ EPFYB-UMA

Sr.
JEFE DEL LABORATORIO MICROCLIN S.R.L.
Presente. –

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a ustedes para saludarlos en nombre propio y de la Universidad María Auxiliadora, a quien represento en mi calidad de Director de la Escuela de Farmacia y Bioquímica.

Sirva la presente para pedir su autorización a que los bachilleres: MIL SAMPEN, Johanna Jakelíne DNI 47061086 y DE LA CRUZ DIAZ, Luz María, DNI 48139933 puedan recopilar datos para su proyecto de tesis titulado: **"ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE Rosmarinus officinalis L. (ROMERO) Frente a candida albicans ATCC 10231, COMPARADO CON NISTATINA"**.

Sin otro particular, hago propicio la ocasión para expresarle los sentimientos de mi más alta consideración y estima.

Atentamente,



Dr. Jhonnei Gamarego Joaquin
Director de la Escuela Profesional de
Farmacia y Bioquímica



Av. Canto Bello 431, San Juan de Lurigancho
Teléfono 389 1212
www.umaperu.edu.pe

LGC/jjr

ANEXO F: Aceptación del Laboratorio

CARTA DE ACEPTACIÓN

EL QUE SUSCRIBE

Hace constar

Que, , LUZ MARÍA DE LA CRUZ DÍAZ y MIL SAMPEN, JOHANNA JAKELINE, bachilleres en Farmacia y Bioquímica han sido aceptados por este laboratorio para realizar la ejecución de su trabajo de investigación titulado “ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Rosmarinus officinalis* L. (ROMERO) FRENTE A *Candida albicans* ATCC 10231 COMPARADO CON NISTATINA

”.

Trujillo, 16 de julio del 2022



Dr. Liliana E. Niño Bartrán
C.B.P. 1977

REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO NO ESTA PERMITIDA SIN LA AUTORIZACIÓN PREVIA Y EXPRESA DE MICROCLIN SRL.

EL LABORATORIO DE LA REGION

Marcial Acharán N° 587- Urb. Las Quintanas Telef.: 44 208302 Telefax 44 249115 Celular 948051687

Trujillo-Perú

Web: www.microclin.com

e-mail: microclin@microclin.com

ANEXO G: Certificado Botánico

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

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "Romero" proporcionada por los Bachilleres, LUZ MARÍA DE LA CRUZ DÍAZ y JOHANNA JAKELINE MIL SAMPEN, Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Rosmarinus officinalis* L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Lamiales
Familia: Lamiaceae
Género: *Rosmarinus*
Especie: *Rosmarinus officinalis* L.

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

Lima, 19 junio del 2022


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton W. Beltrán Santiago
Físlogo - Botánico
C.R.P. 2719

ANEXO H: Certificado de calidad de la cepa en estudio



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Candida albicans Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-1006** Reference Number: ATCC® 10231™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2023/2/28 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Stensvad Release Date: 2021/3/18
Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	Medium: Nutrient Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamyospore production: positive <div style="text-align: center;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>
<p><small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">  <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</small> </div> <div style="text-align: center;"> <small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <small>TESTING CERT #2655.01</small> </div> <div style="text-align: center;"> <small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small> </div> </div>	

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Sample Name: Candida albicans
 Sample Description: 0443
 Sample ID: 443-1006
 Sample Creation Date/Time: 2019-03-06T14:55:06.305 ADS
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A2 (+++) (A)	443-1006	Candida albicans	2.11

Comments:

n/a

ANEXO I: Evidencia fotográfica de campo

Foto 1. Proceso de recolección



Foto 2. Proceso del macerado

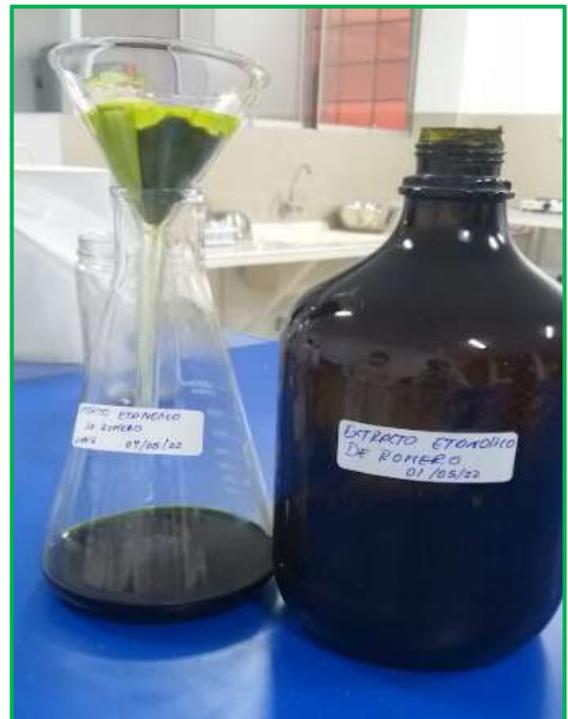


Foto 3. Preparación de los extractos



Foto 4. Activación de la cepa de *Candida albicans*



Foto 5. Preparación del inóculo y aplicación de los extractos

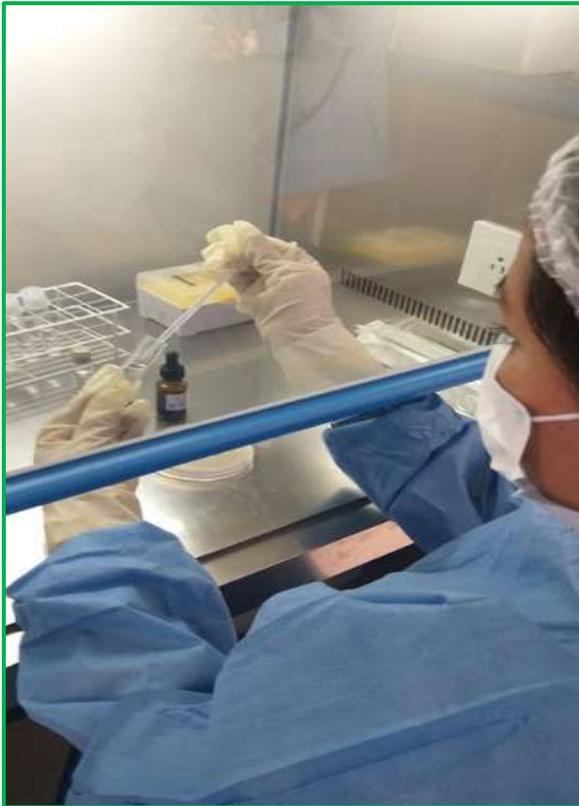


Foto 6. Lectura de resultados

