UNIVERSIDAD SAN PEDRO FACULTAD DE MEDICINA HUMANA PROGRAMA DE ESTUDIO DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TITULO

Eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Autor:

Osorio Sanchez Irma

Asesor:

Flores Ballena, Jaime

Código ORCID: 0000 - 0002 - 2346 - 1040

Nuevo Chimbote - Perú

2022

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS	i
PALABRA CLAVE	ii
TITULO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT.	v
INTRODUCION	1
METODOLOGIA	13
Tipo y diseño de la investigación	13
Población y muestra	14
Técnicas e instrumentos de investigación	14
Procedimiento y análisis de la información ejecutada	14
RESULTADOS	17
ANALISIS Y DISCUSIÓN	25
CONCLUCIONES	27
RECOMENDACIONES	27
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	28
ANEXOS	34

INDICE DE TABLAS

Tabla N°1	Análisis de varianza (ANOVA) para Staphylococcus aureus	17
Tabla N°2	Comparaciones múltiples de concentraciones del Aceite de	18
	Muña	
Tabla N°3	Prueba de Tukey de zonas de inhibición	19
Tabla N°4	Análisis de varianza (ANOVA) para Escherichia coli	21
Tabla N°5	Comparaciones múltiples de concentraciones de Aceite de	22
	Muña para Escherichia coli	
Tabal N°6	Prueba de Tukey de las zonas de inhibición	23

1 Palabra Clave

Tema	Antimicrobianos
Especialidad	Farmacognosia

Keywords

Topic	Antimicrobial
Specialty	Pharmacognosy

Línea de investigación.

Línea de Investigación	Recursos naturales con propiedades medicinales y alimenticias
Área	Ciencias Médicas y de Salud
Sub área	Medicina básica
Disciplina	Farmacología y Farmacia

2 Titulo

Eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) contra *Staphylococcus aureus y Escherichia coli*.

3 Resumen

Este estudio de investigación se realizó con el objetivo de determinar la eficacia

antibacteriana del aceite esencial de Minthostachys mollis (Muña) contra

Staphylococcus aureus y Escherichia coli.

El diseño de investigación es experimental in vitro, El aceite esencial fue obtenido con

la técnica de arrastre a vapor de agua, el efecto antibacteriano se realizó con el método

de Kirby-Bauer (método de difusión en agar) a las concentraciones de 50%, 75% y

100%. Los halos de inhibición fueron medidos y comparados con el efecto del

Cotrimoxazol (control positivo), para establecer su eficacia antibacteriana, a través de

pruebas estadísticas inferenciales de ANOVA y HSD Tukey, encontrando un nivel de

sig. = 0.130 para S. Aureus y un nivel de sig. = 0.00 para E. Coli.

La concentración del 50% de aceite esencial de Muña presenta un halo de inhibición

(10.13mm) por ende no es sensible para la bacteria de Staphylococcus aureus, la

concentración 75% (14.40mm) y 100% (15.11mm) tienen sensibilidad Intermedia

según el CLSI. Para Escherichia coli la concentración del 50% (13.87mm) tiene

sensibilidad Intermedia, el 75% (17.33mm) y 100% (19.20mm) son sensible.

Por lo tanto, puedo confirmar que el aceite esencial de Muña tiene efecto

antibacteriano contra Staphylococcus aureus moderadamente sin embargo para

Escherichia Coli es eficaz, Considerando los criterios del estándar M100 del CLSI.

Palabra clave: Aceite esencial, Antibacteriano, S. Aureus y E. Coli.

iν

4 **Abstract**

This research study was carried out with the objective of determining the antibacterial

efficacy of the essential oil of Minthostachys mollis (Muña) against Staphylococcus

aureus and Escherichia coli.

The research design is experimental in vitro, the essential oil was obtained with the

water vapor drag technique, the antibacterial effect was carried out with the Kirby-

Bauer method (agar death method) at concentrations of 50%, 75% and 100%. The

inhibition halos were measured and compared with the effect of Cotrimoxazole

(positive control), to establish its antibacterial efficacy, through inferential statistical

tests of ANOVA and HSD Tukey, finding a level of sig. = 0.130 for S. aureus and a

level of sig. = 0.00 for E. coli.

The 50% concentration of essential oil of Muña presents an inhibition halo (10.13mm)

therefore it is not sensitive for the Staphylococcus aureus bacteria, the concentration

75% (14.40mm) and 100% (15.11mm) have Intermediate sensitivity according to the

CLSI. For Escherichia coli the concentration of 50% (13.87mm) has Intermediate

sensitivity, 75% (17.33mm) and 100% (19.20mm) are sensitive.

Therefore, I can confirm that the essential oil of Muña has a moderate antibacterial

effect against Staphylococcus aureus, however for Escherichia Coli it is effective,

considering the criteria of the CLSI M100 standard.

Key word: Essential oil, Antibacterial, S. Aureus and E. Coli.

5 Introducción

Antecedentes y fundamentación científica.

Antecedentes.

El estudio de las plantas como antimicrobianos, es un tema que está siendo investigado desde hace muchos años atrás hasta la actualidad, por la población cientica a nivel mundial, quienes están descubriendo diferentes propiedades terapéuticas presentes en las plantas. Los estudios afirman que el aceite esencial de muchas plantas, tienen actividad antibacteriana contra microorganismos patógenos en humanos, en este caso estudiaremos la eficacia antibacteriana de la muña contra dos microorganimos *Staphylococcus aureus* y *Eschericha Coli*. Hoy en día, son los microorganismos más frecuentes y muy resistentes en la población. A continuación, algunos estudios nos confirman.

Antecedentes Internacionales.

Mercedes, Campo y Fernández (2019) evaluaron la actividad antibacteriana in vitro y su composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* contra *Staphylococcus* en Ecuador. El aceite fue obtenido por el método de hidrodestilación de hojas y flores (Mp1) y de la parte aérea (Mp 2) de la planta, la evaluación se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). La actividad antibacteriana mediante evaluación preliminar sobre cepa S. aureus. Los resultados para hojas y flores es 0.41% y la parte aérea 0.21%. La evolución por CG – EM nos permite ver los monoterpénos y terpenoides encontrando mayor cantidad en Mp1 (hojas y flores). En conclusión, se demostró el efecto antibacteriano del aceite esencial de muña sobre *Staphylococcus aureus* y su composición química.

Paucar (2020) determinó la actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, en la cavidad oral comparado con ciprofloxacino frente a *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Quien preparó 360 pocillos en total y para evaluar la actividad inhibitoria mediante el método de Kirby-Bauer, trabajo con el aceite puro es decir al 100% a las 24, 48 y 72 horas frente a los *Staphylococcus aureus*. Los resultados fueron a las 24 horas (10,4 mm), 48 horas (9,7 mm) y a las 72 horas (9,4 mm) y frente a Candida albicans a las 24 horas (9,8 mm), 48 horas (8,9 mm) y 72 horas (8,5 mm) respectivamente. En conclusión, el aceite esencial presentó mayor

actividad inhibitoria frente a Staphylococcus aureus que a Candida albicans.

Pellegrini y Alvarez (2018) investigaron las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales de 6 plantas, entre ellas *Minthostachys mollis*. Su objetivo fue determinar la acción antibacteriana de los aceites esenciales sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, con el método de disco, difusión y microdilución en caldos. Donde *Minthostachys mollis* mostró actividad antibacteriana formando halos de inhibición 6 ± 0.1 mm de diámetro y una concentración inhibitoria mínima de 3.2mg/ml para E. Coli y S. aureus. En conclusión, el aceite esencial de muña sería un buen candidato para tratamientos de enfermedades bacterianas.

Antecedentes Nacionales

Paucar, Peltroche y Rojas (2021) quienes determinaron el efecto inhibitorio del aceite de Muña (*Minthostachys mollis*) en diferentes tiempos comparado con el efecto de la doxiciclina y fluconazol sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* en la ciudad de Lima – Perú. El estudio fue experimental in vitro y longitudinal, La actividad del aceite se realizó con el método de Kirby-Bauer en Agar Columbia y Agar Muller Hinton, el análisis estadístico mediante ANOVA y Tukey.

Los halos de inhibición sobre *Staphylococcus aureus* fue 10,4mm (24horas), 9,7mm (48horas) y 9,4mm (72horas) con respecto a Candida albicans midieron: 9,8mm (24 horas), 8,9mm (48 horas) y 8,5mm (72 horas) es decir el efecto sobre los *Staphylococcus aureus* es mayor que *Candida albicans*, pero si se compara con la doxiciclina y fluconazol es menor, demostrando el mayor efecto inhibitorio a las 24 horas. Concluyendo que si hay efecto antimicrobiano dependiendo a la concentración y tiempo.

Culquipoma y Ramírez (2021), elaboraron una crema con aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) para determinar su efecto contra *Staphylococcus aureus* ATCC N° 25923 en Huancayo – Perú. Obtuvieron el aceite esencial con la técnica arrastre a vapor y el efecto antibacteriano con la técnica difusión en pozo. Logrando obtener 13.62mm al 10% y 16.89mm al 20% del aceite esencial puro los resultados de la crema elaborada al 10% tiene halos de inhibición de 10.92mm y 13.55mm al 20%. En conclusión, el aceite esencial a las dos concentraciones tiene mayor efecto antibacteriano que la crema.

Lily y Mayorga (2020) realizaron un gel de *Minthostachys mollis* (Muña) para ver su efecto antiinflamatorio y antibacteriano en la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. El aceite esencial fue obtenido por el método de arrastre a vapor, el gel fue elaborado con la Norma Técnica de Salud (NTS) que son utilizados para las preparaciones farmacéuticas. La evaluación del efecto, se realizó llevando un tratamiento farmacológico en edema de pata, y la dosis utilizada fue de 5ml y 20ml. El efecto inhibitorio para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se realizó con método de disco y difusión de Kirby- Bauer. En conclusión, el gel en su elaboración correcta si es antiinflamatorio y antibacteriano, demostrando un nuevo tratamiento dérmico para la población.

Yomar y Cristián (2021) demostraron que el aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) tiene eficacia antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* en Huancayo – Perú. El estudio experimental con un control negativo y un positivo, el aceite se obtuvo con la técnica de arrastre a vapor, la eficacia antibacteriana por la técnica de difusión en pozo. La concentración al 50% fue (6,02 + 0,21mm), para el 75% (11,57mm + 0,26mm) y el 100% (14,20 + 0,35mm) respectivamente, el ciprofloxacino que es el control positivo (31,88 + 0,31mm) y el (DMS) que es el control negativo un halo promedio de (6,10 +0.27mm).

Concluyendo que, si hay efecto antibacteriano en la concentración de 70% y 100% mas no, al 50%.

Jesús y Marlid (2021) realizaron una crema de aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) para ver la actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*. El estudio experimental, el aceite obtenido con la técnica de arrates a vapor, la crema fue elaborada según la técnica del Formulario Nacional a dos concentraciones una a 10% y otra al 20%, el efecto antibacteriano se realizó con la técnica difusión en pozo. Los resultados fueron sensibles al 10% y muy sensibles al 20%. Concluyendo que si hay actividad antibacteriana del aceite contra *S. aureus*.

Infantes (2019), en su estudio de investigación realizó, el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) contra *Escherichia coli*, comparado con norfloxacino en la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote.

Trabajó con 4 grupos de cultivos, utilizando dos concentraciones de aceite esencial al 25% y 50% con un control positivo (norfloxacino) y un negativo (DMS), el estudio fue experimental, analizó la actividad antimicrobiana mediante la prueba de ANOVA, obteniendo los diámetros promedios del 25% (29.45mm ± 3.38) y el 50% (32.35 ± 1.93mm), respectivamente, estableciendo diferencias significativas entre ellos de (p < 0.00). Logrando obtener eficacia antibacteriana significativa contra el microorganismo, pero no mayor al efecto del fármaco.

Antecedentes regionales

Espinoza (2018) en su trabajo de investigación del efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña sobre las cepas de *Escherichia coli* comparado con el ciprofloxacino. Aplicó la técnica de difusión de Kirby Bauer en agar Mueller Hinton, el efecto antibacteriano con ANOVA y Tukey. Las diluciones que trabajó fueron al 100%, 75%, 50% y 25%, el ciprofloxacino se utilizó (5 μg/disco) que es el control positivo y para el control negativo se trabajó con (DMSO). Los resultados fueron halos de inhibición (23.21mm) en la dilución del 100%, (21.86mm) al 75%, (12.86mm) al 50% y (11.98mm) 25% Se concluye que, si hay, efecto inhibitorio sobre de *Escherichia coli*, pero no supera al ciprofloxacino.

Bejarano (2018) determinó que el aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) tiene efecto inhibitorio sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC25922 comparado con Furazolidona, el estudio fue experimental, con método de Kirby - Baguer y como grupo control fue la Furazolidona. Los resultados fueron 16mm al (70%), 12.7mm al (50%) y 27.1mm la furazolidona. En conclusión, la furazolidona tiene mayor efecto inhibitorio que el aceite esencial.

Mantilla S y Yupanqui E (2018), evaluaron las propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" sobre *Staphylococcus aureus*. El aceite obtenido de toda la planta utilizando el método de arrastre con vapor de agua. Prepararon las diluciones para identificar la concentración inhibitoria considerando el método de microdilución en caldo de cultivo, las concentraciones fueron 320, 160, 80, 40, 20, 10 μg/mL de aceite de Muña, se realizó tres veces por seguridad. Encontraron el 40 y 80 μg/ml son concentraciones más bajas. Concluyendo que si hay efecto sobre este microorganismo.

Fundamentación científica.

El Staphylococcus aureus es una bacteria anaerobia facultativa Gram positiva, descubierta en 1880 por el cirujano Escoces Alexander quien encontró pus en las heridas de sus pacientes, lo llevo al microscopio y se dio cuenta que era provoca por esta bacteria, en el año 1882 y le dio el nombre de "Staphylococcus", del griego "Staphylo" que significa "racimo de uva". En el año 1884, el cirujano alemán Anton Rosenbach identifico 2 cepas de Staphylococcus y los nombro de acuerdo a la pigmentación que producían. Staphylococcus aureus para el color oro y Staphylococcus epidermidis al color blanco.

El S. aureus es una bacteria que forma parte de la flora normal de los seres vivos por su agrupación en racimos β hemolítico, catalasa y coagulasa positivo, se encuentra en la piel, faringe, pliegues inguinales y axilas. Pero es la causante de enfermedades infecciosas de la piel, tejidos y las enfermedades provocadas por dispositivos médicos (2019)

Provoca muchas infecciones debido a sus factores de virulencia y mecanismos de resistencia en cortos periodos de incubación (1 a 8 horas) además produce una enterotoxina causante de una intoxicación alimentaria que provoca náuseas severas, vómito y diarreas (Curacachi Cárdenas, 2020)

Aproximadamente el 30% de la población humana sana son portadores de dicha bacteria, la forma de contagiarse es atraves de la piel, faringe, el perineo. Causando infecciones invasivas en la comunidad y el entorno sanitario, teniendo un amplio espectro de síndromes clínicos, que van desde infecciones bastante benignas (por ejemplo, foliculitis) hasta infecciones potencialmente mortales (por ejemplo, infección del torrente sanguíneo). (Troeman, 2019).

Staphylococcus aureus es un organismo muy resistente y puede sobrevivir en superficies secas durante un largo período de tiempo y puede sobrevivir a un alto nivel de concentración de sal como base para la selección en medios de crecimiento de otras bacterias. La bacteria puede crecer en un rango variable de temperatura de 15 a 45 °C. Al ser un anaerobio facultativo, son capaces de fermentación oxidativa para producir energía y ácido láctico. (Bitrus, Peter, Abbas y Goni, 2018)

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a esta bacteria dentro de los patógenos con mayor resistencia a los antibióticos en 2017.

Por eso, se recomienda evaluar cuidadosamente los determinantes claves para la penetración del tejido como el peso molecular, la lipófila, la relación de penetración de tejido a plasma, la unión a proteínas plasmáticas y el volumen de distribución de un antibiótico (Leong et al, 2018)

En nuestro País y en otros Países de Latinoamérica son escasos los estudios sobre prevalencia e incidencia de enfermedades provocada por *Staphylococcus aureus*. Pero la Universidad Cayetano Heredia reportó un estudio sobre la mortalidad por bacteriemia en el hospital de Lima. Trabajó con 150 casos entre ellos el 54.7% eran resistentes a meticilina (SARM) y el 45.3% sensibles a meticilina (SAMS), demostrando un alto nivel de resistencia (MRSA).

La mayoría de *S. aureus*, tanto MSSA (*S. aureus* sensibles a meticilina) como MRSA (*S. aureus* resistente a meticilina), aislados de infecciones humanas son resistentes a la penicilina. Para la terapia empírica o dirigida para la MSSA, la opción más adecuada es un fármaco antiesfilocócico de β-lactámicos, generalmente administrado durante 10 días. Estos medicamentos incluyen agentes orales como cloxacilina, dicloxacilina o cefalexina u otra cefalosporina oral. Para una infección de piel y tejidos blandos no complicada, en el que se sospecha o se prueba la presencia de MRSA y una alergia a los medicamentos β-lactámicos, la terapia recomendada incluye clindamicina, TMP-SMX (Trimetoprim-Sulfametoxazol), doxiciclina o, con menos frecuencia, una oxazolidinona que se dirige al ribosoma bacteriano (David y Daum, 2017).

La resistencia bacteriana es una preocupación para el sistema de salud en todo el mundo, ya que no hay tratamientos farmacológicos eficaz, por ende, se tiene que buscar medidas de prevención inmediatamente. Los aislamientos de *S. aureus* resistentes a los antimicrobianos constituye un desafío global para el tratamiento de infecciones causadas por estas bacterias. Las bacterias resistentes causadas un aumento significativo en las tasas de morbilidad y mortalidad, la resistencia lo realizan por diferentes mecanismos como la absorción limitante del fármaco, la modificación del objetivo, la inactivación enzimática y el flujo de salida activo del fármaco.

Dependiendo del antimicrobiano involucrado, la bacteria puede usar uno o varios de estos mecanismos de resistencia. En los últimos 30 años, se han introducido muy pocos antibióticos que representen nuevas fórmulas químicas; por ello, es necesario nuevos medicamentos con nuevos mecanismos de acción para combatir las infecciones por *Staphylococcus Aureus* (Yilmaz y Aslantas, 2017; Foster, 2017)

Otro microorganismo de gran importancia es *Escherichia coli*, esta bacteria anaerobia facultativa comensal nos permite tener un buen funcionamiento digestivo junto con otros microorganismos, es la productora de la vitamina B y K sin embargo hay clonas que han adquirido elementos genéticos o mutaciones que funcionan como factores de virulencia, esto determina la patogenicidad y virulencia de las cepas en diferentes tipos de enfermedades. Las cepas asociadas a las infecciones gastrointestinales, son denominadas E. coli Diarreogénicas o Intestinales, mientras que las asociadas a infecciones en otra parte del organismo, por ejemplo, el tracto urinario, sanguíneo y nervioso, son denominadas E. coli Patogénicas Extraintestinales. (Poolman, 2017).

Estas bacterias indican contaminación fecal en agua, alimentos y fómites, por eso es importante evitar la contaminación de este patógeno a los alimentos, el suelo y el gua (Jang et al, 2017).

La Organización Mundial de la Salud clasificó a *E. coli* como un patógeno prioritario debido a su resistencia generalizada a los antibióticos, la *E. coli* encontrada en personas y animales se considera un reservorio potencial para los genes de resistencia a los antimicrobianos y estos rasgos genéticos pueden transferirse a *E. coli* u otras bacterias que se encuentran en personas, animales y en el medio ambiente. Presumiblemente, las fuentes de agua contaminada con las bacterias que tienen resistencia a los antibióticos. Es un factor que contribuye mayor incidencia de resistencia los antibióticos de las personas que viven en los países de bajos recursos (Buza y Call, 2016)

La evolución de la resistencia a los antimicrobianos debe ser detenida y esto solo puede ser eficaz mediante enfoques novedosos, que podría ser un agente modificador de la resistencia y para calificar como un modificador de resistencia requiere la administración conjunta del agente con un inhibidor que desactiva el mecanismo de

resistencia bacteriana, restaurando su efectividad original. Los extractos de plantas medicinales y los aceites esenciales se han visto como un grupo privilegiado para la investigación de sus funciones potenciales para combatir la resistencia a los antibióticos, debido a sus compuestos químicos activos (Yap, Kai, Lai y Lim, 2017)

La muña (Minthostachys mollis) o menta de los andes es una planta arbustiva que alcanza a medir de 80 a 120 cm de altura, es ramificada desde el tronco con hojas pequeñas y flores blancas, crese en la serranía del Perú como Puno, Cuzco, Cajamarca. Es del Reino (vegetal), de clase (Magnoliopsida), Especie (Minthostachys mollis) de la Familia (Lamiaceae), deriva del quechua, "muna", que significa ternura y amor, un amor sin límites, que fluye libremente y cura, por eso la gente lo utiliza para tratar problemas de vómitos, diarrea, resfríos, gastritis etc. Sus propiedades bioactivas, le confieren atributos antibacterianos, antivirales, antifúngicos, insecticidas, antioxidantes y son utilizados en las Farmacias, Industrias Textiles entre otros, los científicos confirman que estos aceites están libres de contraindicaciones, efectos adversos y tienen la ventaja de inhibir el crecimiento de los agentes patógenos, mientras influyen moderadamente en los miembros beneficiosos de la microbiana intestinal y son obtenidos mediante destilación por arrastre a vapor de agua, que consiste en colocar agua en un matraz para llevarlo a ebullición, cuando hierba pasa el vapor al balón que tiene la planta y rompe sus estructuras de la Muña para sacar el aceite esencial, una vez que están en vapor salen por el conducto hasta llegar al condensador el cual está rodeado de hielo y lo va a condensar para luego llegar a un matraz recolector (Herman y Wang, 2019)

El aceite esencial de Muña está compuesto por Pulegonas, Mentonas, Isomentonas, Neomentol, Limonenos y Taninos que son los que ejecutan las proteínas al tener contacto con las bacterias, estos metabolitos actúan sobre la bacteria degradando su pared celular, posteriormente destruyen la membrana citoplasmática es aquí donde actúan los taninos, degradando las proteínas, haciendo que haya una permeabilidad de membrana y un mayor paso de nutrientes entre el aceite de muña y la bacteria, esto va a producir un daño en la proteína de la membrana, produciendo una alteración de permeabilidad por ende habrá un paso libre al citoplasma y finalmente muerte celular.

El aceite esencial de Muña es muy reconocido como antibacteriano así lo confirman diversos estudios realizados en Perú. Así como Jesús, Marlid (2021), realizaron una crema de aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) para ver la actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, Bejarano (2018) determino el efecto antibacteriano del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC25922, Yomar y Cristián (2021), demostraron que el aceite esencial de muña tiene efecto bacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus*

Justificación de la investigación

Esta investigación se genera como necesidad inherente a la búsqueda de mayor conocimiento sobre agentes alternativos y/o complementarios para el control de la creciente resistencia antibacteriana. Por ende, la realización de este estudio se justifica por el hecho de estar orientado a la pesquisa de información relevante y la experimentación de agentes fitoquímicos que sean útiles para controlar el crecimiento de bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas.

La importancia de esta investigación se basa en la identificación de las propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" e instauración de su eficacia respecto al Cotrimoxazol (Trimetoprim-Sulfametoxazol), uno de los agentes farmacológicos más utilizados como tratamiento para las infecciones ocasionadas por 2 de los agentes etiológicos que más ocasionan patologías infecciosas en diferentes regiones del organismo del ser humano, *S. aureus y E. coli*. Los resultados son confiables, porque seguí estrictamente el método científico y todos los métodos utilizados fueron validados por el Instituto de Estándares para la Clínica y el Laboratorio (CLSI), aportaron conocimientos para ser considerados y sometidos a evaluación como parte de la Farmacognosia, y como agente antibacteriano en la Medicina Alternativa y Complementaria, lo cual repercutirá en beneficio de la comunidad.

Esta investigación busca aplicar la teoría y los conceptos básicos del aceite esencial como tratamiento alternativo y/o complementario para el control de la creciente resistencia antibacteriana, ya que, el uso indiscriminado de antibióticos cada día es más resistentes, al llegar obtener los resultados se podría implementar para tratar infección bacterianas Gram positivas y Gram negativas.

Justificación práctica, los resultados son confiables, porque seguí estrictamente el método científico y todas las técnicas utilizadas fueron validados por el CLSI.

Justificación Metodológica, para lograr los objetivos se utilizó métodos y técnicas de investigación utilizando instrumentos validados por el Instituto de Estándares para la Clínica y el Laboratorio para obtener resultados confiables.

Se justifica de manera social, ya que se considera como un problema de salud pública el uso del aceite esencial como tratamiento alternativo y/o complementario para el control de la creciente resistencia antibacteriana, que está llevando al uso indiscriminado de antibióticos cada día es más resistentes, pues su uso frecuente debido al mal conocimiento sobre su uso y efectos a los cuales está expuesta la persona, los resultados encontrados van a servir para adecuar estrategias en beneficio de la comunidad.

Problema

¿Es eficaz como antibacteriano el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) contra *Staphylococcus aureus y Escherichia coli?*

Conceptuación y operacionalización de variables.

Variable independiente 1: Aceite esencial de *Minthostachys mollis*.

Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicador	Escala
El aceite esencial de muña. Es	Se preparará el aceite		
una mescla compleja obtenida	esencial de muña a 3		
por destilación de origen	concentraciones, usando		
vegetal, que contiene	Dimetil sulfóxido		
compuestos aromáticos	(DMSO) como solvente,		
altamente volátiles, sintetizados	que determinará 3 grupos	Aceite de	Cualitativa
por las células y se encuentran	de estudio.	muña al	nominal
en todo el cuerpo de la planta,	Grupo 1 (G1)	100%	
pero en mayor cantidad en las	Grupo 2 (G2)	75%	
hojas y flores (Naeem, 2018)	Grupo 3 (G3)	50%	

Variable dependiente: Actividad antibacteriana.

Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Escala
Se refiere al proceso de matar o	Se hará la medición de la		
inhibir a las bacterias que causan	acción ejercida por los		Cualitativa
la enfermedad, utilizando	aceites esenciales,	Es eficaz	nominal
diversos agentes antibacterianos	estableciendo la eficacia	≥ 16 mm	
para este propósito. El	respecto a Cotrimoxazol,		
antibacteriano puede ser	considerando los criterios	No es eficaz	
bactericida o bacteriostático,	del estándar M100 del	< 16 mm	
cada uno con diferentes modos	CLSI. (CLSI, 2018)		
de acción por los cuales actúan	Sensible: ≥ 16 mm		
para suprimir la infección.	Intermedio: 11-15 mm		
(Barzic y Ioan, 2015)	Resistente: ≤ 10 mm		

CLSL: Clinical and Laboratory Standars Institute

Hipótesis

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene sustancias fitoquímicas con propiedades antibacterianas, comprobado en diversos estudios, que pueden inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Por ende, se plantea las Hipótesis estadísticas siguientes:

H1: El aceite esencial de *Minthostachys mollis* es eficaz como antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

H2: El aceite esencial de *Minthostachys mollis* no es eficaz como antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Objetivos

Objetivo general:

Evaluar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

Objetivos específicos:

- 1. Obtener el aceite esencial de las hojas y flores de Muña.
- 2. Demostrar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) al 50%, 75% y 100% contra *Staphylococcus aureus*.
- 3. Demostrar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) al 50%, 75% y 100% contra la bacteria *Eschericha coli*.

6 Metodología

a) Tipo y diseño de investigación.

Tipo de investigación:

Este estudio es básica cuantitativa y experimental que busca incrementar y/o mejorar el conocimiento de las propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" mediante el método empírico – analítico para generar nuevos conocimientos con fundamento hipotético – deductivo (cabezas et al., 2018)

Diseño de la investigación:

Es experimental, en donde se realiza ensayos con repeticiones múltiples, y sólo con post test. Además, tendrá un control positivo y un control negativo. (Hernández, Fernández y Baptista, 2014)

En donde:

RG₁₋₅: Grupos de cepas de bacterias (Staphylococcus aureus o Escherichia coli) elegidos aleatoriamente.

X₁: Aceite esencial de Minthostachys mollis al 100%

X₂: Aceite esencial de Minthostachys mollis al 75%

X₃: Aceite esencial de Minthostachys mollis al 50%

X₄: Cotrimoxazol (control positivo)

X₅: Dimetil Sulfóxido – DMSO (control negativo)

O₁₋₅ Efecto antibacteriano (zonas de inhibición)

b) Población y muestra.

Población: Por ser una investigación experimental y se utilizó cepas no es necesario tener una población.

Muestra: Fue considerada todas las bacterias derivadas de las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922.

Criterios de inclusión: Se tomó en cuenta a todos los cultivos de *S. aureus* y *E. coli*, que fueron sembrados con 20 horas de anticipación y provenientes de las cepas certificadas.

Criterios de exclusión: No se tomará en cuenta aquellos cultivos de *S. aureus* y *E. coli* que resulten contaminados después de la siembra.

c) Técnicas e instrumentos de investigación

Técnicas.

Arrastre con vapor de agua: Técnica que nos permite extraer el aceite esencial de la muña.

Difusión en pozo: Nos permite ver la inhibición del aceite esencial sobre los microorganismos.

Medición de los halos de inhibición: Es el proceso que nos permite obtener el tamaño del halo de inhibición provocado por el efecto del aceite.

d) Procesamiento y análisis de la información

Preparación del medio de cultivo.

Para el presente estudio se preparó 500 ml de medio de cultivo, se utilizó Agar Mueller Hinton, en 'primer lugar se pesa 19g de Mueller Hinton luego medí medio litro de agua destilada, agregué en un matraz el agua con el agar, se disuelve y se lleva a hervir por 1 minuto. Luego, se esteriliza por 15 minutos en la autoclave a 121°C.

Preparación del inóculo.

Para la preparación del inóculo se agregó 4ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo, luego se adiciona alícuotas de S. *aureus* y E. *coli*, cultivados desde 24 horas antes, hasta que se observó una turbidez.

Siembra en placa por estriado de S. aureus y E. coli.

Se sembró los microorganismos *S. aureus y E. Coli*, humedeciendo un hisopo en el inóculo para flotarlo sobre todo el cultivo que está en placa Petri Quedando como una capa el microorganismo en toda la superficie del cultivo.

Preparación de los discos de sensibilidad.

Se utilizó papel filtro Whatman Nº 1 de 6mm de diámetro, esterilizados con anticipación se esparce toda la placa dejando 1cm del borde de la Placa Petri dejando en forma de cruz.

Preparación de las concentraciones del Aceite Esencial.

Una vez obtenido el aceite esencial se preparan las 3 concentraciones (50%, 75% y 100%) para los *S. Aureus y E. Coli* respectivamente, se utilizó como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); en primer lugar, se rotulan tres tubos de ensayos de 13 x 100mm para las tres concentraciones. Se agregó 500 ml de aceite esencial más 500 ml de DMSO para la concentración 50%, 750 ml de aceite esencial más 250 ml de DMSO para 75% y 100 ml del aceite esencial puro para la concentración del 100%.

Preparación de los discos de sensibilidad con el aceite esencial.

Se esparce los discos y se agrega 10 µL de aceite esencial de cada concentración a cada microorganismo respectivamente. Este procedimiento se repitió por 15 veces para cada concentración.

Prueba de sensibilidad con el aceite esencial.

Los discos de sensibilidad ya preparados con cada concentración de aceite esencial se agregan en la superficie de agar sembrado con los microorganismos (*S. Aureus y E. Coli*) utilizando una pinza estéril metálica a 1 cm del borde de la placa, en forma equidistante (en forma de cruz), al final se agrega el disco con Cotrimoxazol 10 µg como control positivo para luego

dejar en reposo por 15 minutos para luego colocarlo en una estufa a 37°c x 48 horas.

Lectura final de cada uno de los cultivos.

Al terminar el proceso de incubación se procede a medir los halos de inhibición, utilizando un vernier, se mide desde donde está el disco hasta donde se inhibe el crecimiento. La interpretación es sensible o resistente, según el Estándar M100 del CLSI.

Análisis de la información.

La información obtenida de los resultados (diámetros de zonas de inhibición), registrados en la ficha, fueron analizadas con pruebas paramétricas, utilizando análisis de varianza ANOVA, asumiendo medias diferentes con la prueba post hoc HSD Tukey. (Guerra, 2014)

7 Resultados.

Tabla 1

Análisis de varianza (ANOVA) de las zonas de inhibición de las tres concentraciones del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) para Staphylococcus aureus.

ANOVA

Staphylococcus aureus							
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.		
Tratamiento	13333.733	3	4444.578	3897.125	0.000		
Error experimental	63.867	56	1.140				
Total	13397.600	59					

Tabla 1: Se muestra que el valor calculado de la prueba estadística Fisher es F = 3897.125 con nivel de significancia (Sig.) p = 0.000 por ende es menor al 5% (p < 0.05), de la prueba de análisis de varianza (ANOVA) demostrándose que existe diferencia significativa sobre el estudio.

Tabla 2Comparaciones múltiples de las zonas de inhibición de las tres concentraciones del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) para Staphylococcus aureus.

	Comparaciones múltiples					
Variable depe	ndiente:					
(I) Grupo		Diferencia de	Error	Sig.	Intervalo de confianz 95%	
(1) Отиро		medias (I-J)	estándar	oig.	Límite inferior	Límite superior
	Aceite 75%	0.866667	0.390	0.130	-0.166	1.899
Aceite 100%	Aceite 50%	5,13333*	0.390	0.000	4.101	6.166
	CTR	-32,13333*	0.390	0.000	-33.166	-31.101
	Aceite 100%	-0.866667	0.390	0.130	-1.899	0.166
Aceite 75%	Aceite 50%	4,26667*	0.390	0.000	3.234	5.299
	CTR	-33,00000*	0.390	0.000	-34.033	-31.967
	Aceite 100%	-5,13333*	0.390	0.000	-6.166	-4.101
Aceite 50%	Aceite 75%	-4,26667*	0.390	0.000	-5.299	-3.234
	CTR	-37,26667*	0.390	0.000	-38.299	-36.234
	Aceite 100%	32,13333*	0.390	0.000	31.101	33.166
CTR	Aceite 75%	33,00000*	0.390	0.000	31.967	34.033
	Aceite 50%	37,26667*	0.390	0.000	36.234	38.299

Tabla 2: Si comparamos el aceite esencial 100% con la concentración del 75% no hay diferencia significativa, porque el nivel de significancia es 0.130 el cual es mayor 0.05, pero si compramos el 75% con 50% y el CTR si tienen diferencia significativa ya que el nivel de significancia (Sig.) es 0.000 y es menor al 5% (p < 0.05), demostrándose que existe diferencia significativa en todas las concentraciones menos en el 100% y 75%.

Tabla 3

Prueba de Tukey de las zonas de inhibición a las diferentes concentraciones del Aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) para los Staphylococcus aureus.

	Staphylococcus aureus HSD Tukey					
Subconjunto para alfa = 0.05						
Grupo	N	1	2	3		
Aceite 50%	15	10.13				
Aceite 75%	15		14.40			
Aceite 100%	15		15.27			
CTR	15			47.40		
Sig.		1.00	0.13	1.00		

Tabla 3: Se observa que la prueba de Tukey distribuye a cada uno de las zonas de inhibición a grupos diferentes, a diferencia del 75% y 100% que los une a un solo grupo, además nos muestra que el Cotrimoxazol (CTR) tiene mayor efecto que todas las concentraciones, pero si comparamos entre las diferentes concentraciones del aceite, se deduce que las concentraciones del 75% y 100% es el más efectivo.

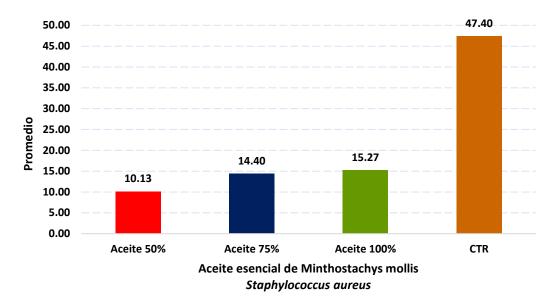


Figura 1: Valores promedios de los halos de inhibición al determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) inhibiendo las bacterias de Staphylococcus aureus.

Se puede observar que el aceite esencial de muña a la concentración de 50% presenta un halo de inhibición (10.13mm) demostrando que no es sensible según el CLSI, la concentración 75% presenta un halo de inhibición (14.40mm) y 100% (15.11mm) por ende tienen sensibilidad intermedia y el Cotrimoxazol es sensible según el CLSI.

Tabla 4Análisis de varianza (ANOVA) de las zonas de inhibición del Aceite esencial Minthostachys mollis (muña) sobre Escherichia coli.

ANOVA

Escherichia Coli						
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.	
Tratamiento	1038.933	3	346.311	353.895	0.000	
Error experimental	54.800	56	0.979			
Total	1093.733	59				

Tabla 4: Muestra que el valor calculado de la prueba estadística Fisher es F = 353.895 con nivel de significancia sig. = 0,000 es menor al 5% (p < 0.05), demostrando que existe inhibición antibacteriana significativa del aceite esencial sobre *Escherichia coli*.

Tabla 5

Comparaciones múltiples de zonas de inhibición de todas las concentraciones del Aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre Escherichia coli.

	Comparaciones múltiples						
Variable depe	endiente:						
(I) Grupo		Diferencia de	Error	Sig.	Intervalo de confianza a 95%		
(1) Огиро		medias (I-J)	estándar	515.	Límite inferior	Límite superior	
	Aceite 75%	1,86667*	0.361	0.000	0.910	2.823	
Aceite 100%	Aceite 50%	5,33333*	0.361	0.000	4.377	6.290	
	CTR	-6,13333*	0.361	0.000	-7.090	-5.177	
	Aceite 100%	-1,86667*	0.361	0.000	-2.823	-0.910	
Aceite 75%	Aceite 50%	3,46667*	0.361	0.000	2.510	4.423	
	CTR	-8,00000*	0.361	0.000	-8.956	-7.044	
	Aceite 100%	-5,33333*	0.361	0.000	-6.290	-4.377	
Aceite 50%	Aceite 75%	-3,46667*	0.361	0.000	-4.423	-2.510	
	CTR	-11,46667*	0.361	0.000	-12.423	-10.510	
CTR	Aceite 100%	6,13333*	0.361	0.000	5.177	7.090	
	Aceite 75%	8,00000*	0.361	0.000	7.044	8.956	
	Aceite 50%	11,46667*	0.361	0.000	10.510	12.423	

Tabla 5: Se observa que los niveles de significancia (Sig.) de todas las comparaciones son p = 0.000 es menores al 5% (p < 0.05), demostrando efecto inhibitorio en todas las concentraciones.

Tabla 6Prueba de Tukey de zonas de inhibición para todas las concentraciones del Aceite esencial Minthostachys mollis sobre Escherichia coli.

Escherichia Coli HSD Tukey					
1	2	3	4		
Aceite 50%	15	13.87			
Aceite 75%	15		17.33		
Aceite 100%	15			19.20	
CTR	15				25.33
Sig.		1.00	1.00	1.00	1.00

Tabla 6: Se puede ver la prueba de Tukey distribuyendo a cada uno de las zonas de inhibición a grupos diferentes, demostrando que el Cotrimoxazol (CTR) es más efectivo, pero si comparamos entre las diferentes concentraciones del aceite, se deduce que la concentración del 100% es el más efectivo.

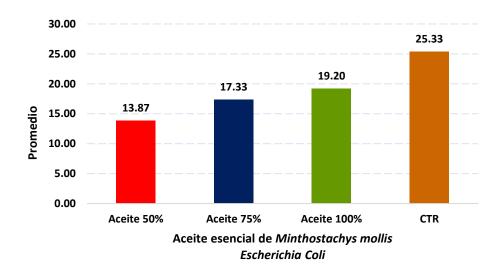


Figura 2: Valores promedios de halos de inhibición del aceite esencial de Muña inhibiendo la bacteria *Escherichia Coli*.

Se observa la concentración del 50% (13.87mm) llegando a tener sensibilidad Intermedia, el 75% (17.33mm) Sensible, el 100% (19.20mm) es Sensible y el CTR (25.33mm) también es sensible según el CLSI.

8 Análisis y discusión.

El objetivo de este trabajo de investigación es de determinar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) contra *Staphylococcus aureus y Eschericha coli*.

En la tabla 1.2.3 y figura 1 encontramos la eficacia antibacteriana del Aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) contra Staphylococcus aureus realizando el análisis de varianza (ANOVA) donde muestra que el valor calculado de la prueba estadística Fisher es F = 3897.125 con nivel de significancia (Sig.) p = 0.000 por ende es menor al 5% (p < 0.05), demostrando que si hay, efecto antibacteriano, en la tabla 2 realizamos las comparaciones múltiples de las zonas de inhibición a las diferentes concentraciones del Aceite esencial, demostrando que si comparamos el aceite esencial 100% con la concentración del 70% no hay diferencia significativa, porque el nivel de significancia es 0.130 siendo mayor 0,05, pero si compramos 75% con el 50% y el CTR si tienen diferencia significativa ya que, el nivel de significancia (Sig.) es 0.00 y es menor al 5% (p < 0.05). En la tabla 3 Se realiza la prueba de Tukey para mayor seguridad donde se observa que los resultados de las zonas de inhibición son distribuidos a grupos diferentes, demostrando que el Cotrimoxazol (CTR) es más efectivo, pero si comparamos entre las diferentes concentraciones del aceite, se deduce que las concentraciones del 100% y 75% tienen mayor eficacia y son agrupados a un solo grupo, por último en la figura 1 nos muestra los resultados más específicos, donde la concentración del 50% dio como resultado 10.13 mm. Al comparar este valor con CLSI (Clinical and Laboratory Estándar Institute, 2018) que considera resistente a la formación de halos de inhibición ≤ 10 mm se demostró que a esta concentración es resistente, semejante al de Yomar y Cristian (2021) que su resultado al 50% fue (6,02 + 0,21mm), la concentración del 75% el resultado es 14.40 mm. Al comparar este valor con CLSI que considera como Intermedio la formación de halos de inhibición dentro del rango 11 a 15mm se demostró que el aceite esencial de muña a esta concentración tiene efecto inhibitorio Intermedio a diferencia de Yomar y Cristian (2021) su resultado al 75% obtuvo (11,57 + 0,26mm). En la última concentración que es el 100% dio como resultado 15.27mm, al comparar este valor con el CLSI que considera como Sensible ≥ 16 mm se demostró que el aceite esencial de muña a la concentración del 100% no es Sensible sobre la cepa de Staphylococcus aureus TCC 25923 semejante a los resultados de Yomar y Cristian (2021) que fue 14.20 + 0.35mm a diferencia de Paucar (2020) que encontró halos de inhibición de 10,4 mm, 9,7 mm y 9,4 mm a las 24, 48 y 72 horas. En conclusión, el aceite de muña a las concentraciones del 75% y 100% presentan eficacia antibacteriana intermedia sobre cepas de *Staphylococcus aureus*; sin embargo, no presenta eficacia antibacteriana a la concentración del 50%.

En la tabla 4,5,6 y figura 2 encontramos la eficacia antibacteriana del Aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) contra Escherichia coli utilizando el análisis de (ANOVA), en la tabla 4 se muestra el valor calculado de la prueba estadística Fisher es F = 353.895 con nivel de significancia sig. = 0,000 por lo tanto es menor a 5% logrando obtener efecto antibacteriano contra Escherichia coli. En la Tabla 5 Se observa que los niveles de significancia (Sig.) de todas las comparaciones son p = 0.000 es menor al 5%, demostrando que existe diferencia significativa del aceite esencial contra el microorganismo, en la tabla 6 Se observa que la prueba de Tukey distribuye a cada uno de las zonas de inhibición a grupos diferentes, demostrando que el Cotrimoxazol (CTR) es más efectivo, pero si comparamos entre las diferentes concentraciones del aceite, el 100% tiene mayor eficacia. La figura 2 muestra que la concentración del 50% tiene efecto inhibitorio (13.87mm) por ende es Intermedio al igual que Espinoza (2018) su concentración del 50% es 12.86mm, igual que Bejarano (2018) su resultado fue 12.7mm a diferencia de Infantes (2019) su resultado al 50% fue 32.35 ± 1.93 mm demostrando eficacia. La concentración del 75% tiene (17.33mm) es sensible según el CLSI, semejante a Bejarano (2018) su resultado fue 16mm a diferencia de Espinoza (2018) obtuvo 21.86mm y la concentración del 100% tiene (19.20mm) también es Sensible similar a Espinoza (2018) encontró un halo de inhibición de 23.21mm y el CTR tiene 25.33mm de inhibición por lo tanto es sensible según el CLSI. Por otro lado, si comparamos la concentración del 100% con el Cotrimoxazol (CTR), el Cotrimoxazol (CTR) es más efectivo que el aceite de Muña.

9 Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones.

- La concentración del 50% del aceite esencial de Muña no tiene efecto sobres la bacteria Staphylococcus aureus, pero si encontramos un efecto Intermedio en la concentración 75% y 100% según los parámetros del CLSI.
- 2. El aceite esencial de Muña a la concentración 50% si tiene efecto antibacteriano Intermedio y la concentración del 75% y 100% son sensibles contra la bacteria *Escherichia coli* según el estándar del CLSI.
- 3. En conclusión, el aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Muña) es sensible para la bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922 al 75% y 100% mas no para el *Staphylococcus aureus* TCC 25923.
- 4. Si comparamos el efecto del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Muña) con el efecto del Cotrimoxazol (CTR) el Cotrimoxazol tiene mayor eficacia contra las dos bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Recomendaciones.

- 1. Se recomienda seguir estudiando el aceite de Muña sobre su efecto antibacteriano en los dos microorganismos (*S. aureus y E. coli*) que son los más frecuentes en nuestra comunidad.
- 2. Se recomienda estudiar las plantas medicinales para seguir obteniendo más alternativas contra infecciones bacteriana.
- 3. Se recomienda a los profesores seguir promoviendo las investigaciones experimentales sobre plantas medicinales.

10 Referencias Bibliográficas.

- Bejarano Meléndez, Jesús Alonso, J. A. (2018). Efecto antibacteriano del aceite esencial de Minthostachys Mollis sobre cepas de Escherichia Coli ATCC 25922 comparado con Furazolidona. Universidad César Vallejo. Obtenido de https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/2926364
- Bitrus y Goni (2018). *Staphylococcus aureus*: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms. *Veterinary Sciences: Research and Reviews, 4*(2) 43-54. Recuperado de http://researcherslinks.com/current-issues/Staphylococcus-aureus%20A-Review-of-Antimicrobial-Resistance-Mechanisms/18/1/1748/html
- Butnariu, M. y Sarac, I. (2018). Essential Oils from Plants. Journal of Biotechnology and Biomedical Science, 1(4) 35-43. Recuperado de https://openaccesspub.org/jbbs/article/940
- CLSI. (2018). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 28th ed. CLSI supplement M100, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cristian, Y. (2021). Eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña. *Bchiller*.

 Universidad Roosevelt, Huancayo. Obtenido de https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14140/682/TES IS_YOMAR-CHIRISTIAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Culquipoma Ramírez, J. O., & Gil Bustamante, M. (2021). Efecto antibacteriano de una crema a base del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre Staphylococcus aureus ATCC N° 25923. Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Huancayo.
- Curacachi Cárdenas, N. M. (2020) frecuencia de Staphylococcus aureus. Universidad Peruana los Andes, Huancayo. Obtenido de https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/2321/TESIS%2 0FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- David, M. Z. y Daum, R. S. (2017). Treatment of *Staphylococcus aureus* Infections. En Bagnoli, F., Rappuoli, R. y Grandi, G. (eds), *Staphylococcus aureus*. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 409 (325-383). Suiza: Springer Nature.
- Elizabeth Paucar-RodrígueZ, N. P.-A.-R. (2021). Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de Minthostachys mollis frente a microorganismos de la cavidad oral. Universidad Nacional Federico Villarreal,, Lima Peru. Obtenido de http://www.revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/1450
- Espinoza Amanqui, I., & Espinoza Amanqui, I. (2018). Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial de Minthostachys Mollis "Muña" sobre Escherichia Coli ATCC11229 comparado con Ciprofloxacino. Universidad César Vallejo, Trujillo. Obtenido de https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/2925782
- (2018). Manejo de infecciones complicadas de piel y tejidos blandos con un enfoque especial en el papel de los antibióticos más nuevos. Obtenido de https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.translate.goog/30464538/
- Foster, T. J. (2017). Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(3) 430-449. Recuperado de https://academic.oup.com/femsre/article/41/3/430/3608758
- Guerra, M. A. T. (2014). Bioestadística. 1ra. Ed. México D.F.: FES Zaragoza.
- Herman, R. A., Ayepa, E., Shittu, S., Fometu, S. S. Wang, J. (2019). Essential Oils and Their Applications -A Mini Review. *Advances in Nutrition & Food Science*, 4(4) 1-13. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/336305801_Essential_Oils_and_t heir_applications-A_mini_review
- Ibáñez, L. H. (2017). Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Minthostachys mollis sobre el crecimiento de Streptococcus pyogenes (Tesis de pregrado). Recuperado de http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10870
- Infantes figueroa, melina yudith, m. Y. (2019). Efecto antibacteriano in vitro del aceite. *Egresado*. Universidad católica los ángeles chimbote, chimbote. Obtenido de

- http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/11319/aceite _efecto_infantes_figueroa_melina_yudith.pdf?sequence=1&isallowed=y
- J1, P. G. (2019). Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de. *Posgrado*. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Ciencias de la Salud, Cudimra. Obtenido de http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-25.pdf
- Jesús, Marlid (2021) determinaron el efecto antibacteriano de una crema a base del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre Staphylococcus aureus ATCC

 N°25923

 https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/518/T

 ESIS%20MARLID%20-%20OMAR.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Mallorga, L. y. (2020). elaborar un gel a base del aceite esencial de muña (Minthostachys mollis), para verificar su actividad antiinflamatoria y antibacteriana. *Egresado*. Univercidad Nacional de San Agustin, Arequipa.
- Mantilla German, S. F. (2018). Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Minthostachys mollis "muña" sobre el crecimiento de Listeria monocytogenes y Staphylococcus aureus. Universidad Nacional de Trujillo, La Liberdad. Obtenido de https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/12000
- Campo Fernández, D. L. (2019). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de Minthostachys mollis Griseb contra el Staphylococcus aureus. Universidad Técnica de Machala, Ecuador.
- Paucar. (2021). Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de Minthostachys mollis frente a microorganismos de la cavidad oral. Universidad Nacional Federico Villarreal, Cuba.
- Lily M. R. (2020) Elaboración de un gel antiinflamatorio y antibacteriano a base de Muña.

 http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/183/175
- Leong (2018). Management of complicated skin and soft tissue infections with a

- special focus on the role of newer antibiotics. *Infection and Drug Resistance*, 11(1): 1959–1974. Recuperado de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6208867/pdf/idr-11-1959.pdf
- Ñaupas, H., Mejía, E., Novoa, E., y Villagómez, A. (2014). Metodología de la investigación cuantitativa-cualitativa y redacción de la tesis. 4ta edic. Bogotá: Ediciones de la U.
- Naeem (2018). Essential Oils: Brief Background and Uses. *Annals of Short Reports*, *I*(1): 1-6. Recuperado de http://www.remedypublications.com/open-access/essential-oils-brief-background-and-uses-516.pdf
- Peña, S. D. y Gutiérrez, R. M. (2017). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en vías respiratorias bajas. *Revista Ciencia y Tecnología*, 13(3) 55–66. Recuperado de http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/1874/1802
- Sarowska y Choroszy (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. Gut Pathogens, 11(1) 2-16. Recuperado de https://gutpathogens.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13099-019-0290-0
- Sharma. (2016). *Escherichia coli* biofilm: development and therapeutic strategies. *Journal of Applied Microbiology*, 121(2) 309-319. Recuperado de https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26811181/
- Triola, M. F. (2018). Estadística. 12va ed. México D.F.: Pearson Education.
- Troeman, D. P. R., Van Hout, D. Kluytmans, J. A. J. W. (2019). Antimicrobial approaches in the prevention of *Staphylococcus aureus* infections: a review. *Journal Antimicrobial Chemotherapy*, 74(2) 281–294. Recuperado de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6337897/pdf/dky421.pdf
- Yap, P. S. X., Kai, Y. S., Lai, K. S. Lim, S. H. E. (2017). Essential Oils: The Ultimate

Solution to Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*? En A. Samie (Ed). *Escherichia coli*: *Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications* (299-313). Londres, Reino Unido: IntechOpen.

Yilmaz, E. Ş. y Aslantaş, Ö. (2017). Antimicrobial Resistance and Underlying Mechanisms in *Staphylococcus Aureus* Isolates. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(11) 1059-1064. Recuperado de https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1995764517311318

11 Agradecimiento.

Agradezco a Dios por guiarme y darme sabiduría, Para hacer realidad, mi sueño, de ser profesional.

Agradezco a mis padres y hermanos

Por brindarme todo su esfuerzo

Y creer en mí,

A Henrry quien me apoyo moralmente

Agradezco a todos los profesores

Por compartir sus conocimientos en mi formación

Profesional.

Anexo 1

Autorización de la institución donde se va a realizar la recolección de los datos



Anexo 2 Ficha de recolección de datos (instrumento)Para *Staphylococcus aureus*.

	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
N°	Aceite esencial de Minthostachys mollis			Cotrimoxazol	DMSO
repet.	50%	75%	100%		
1	10	16	16	48	0
2	10	14	15	50	0
3	11	15	15	47	0
4	10	14	15	48	0
5	10	15	16	44	0
6	9	13	14	48	0
7	11	14	16	47	0
8	10	14	15	47	0
9	10	16	16	48	0
10	10	14	15	50	0
11	11	15	15	47	0
12	10	14	15	48	0
13	10	15	16	44	0
14	9	13	14	48	0
15	11	14	16	47	0

Para Escherichia coli.

	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
N°	Aceite esenc	ial de <i>Minthos</i>	Cotrimoxazol	DMSO	
repet.	50%	75%	100%	26	0
1	13	18	20	26	0
2	15	17	18	25	0
3	14	18	18	26	0
4	12	15	19	23	0
5	14	17	20	25	0
6	14	18	20	26	0
7	15	18	19	26	0
8	14	18	20	26	0
9	13	18	10	26	0
10	15	17	18	26	0
11	14	18	18	25	0
12	12	15	19	26	0
13	14	17	20	23	0
14	14	18	20	25	0
15	15	18	19	26	0

VALORES REFERENCIALES:

Sensible ≥ 16 mm Intermedio 11 a 15 mm Resistente ≤ 10 mm

CTR = Cotrimoxazol (Trimetoprim/sulfametoxazol) 1.25/23.75mg en cada disco de sensibilidad

DMSO = Dimetil sulfóxido al 20%

Anexo 3

Matriz de consistencia

Problema	Variables	Objetivos	Hipótesis	Metodología
	Variable independiente	Objetivo general		Tipo de Investigación
¿Es eficaz como antibacteriano el aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i>	Aceite esencial de Minthostachys mollis. Mescla compleja obtenida por destilación a partir de materia prima de origen vegetal, que	del aceite esencial de Minthostachys mollis contra Minthostachys mollis contra Minthostachys aureus y Escherichia coli.	de de <i>Minthostachys</i> mollis es eficaz como antibacteriano contra Staphylococcus aureus y Escherichia coli. H2: El aceite esencial de <i>Minthostachys</i> mollis po es eficaz	Básica cuantitativa y experimental Población : Cepas de S. <i>Aureus</i> ATCC 25923 y
(muña) contra Staphylococcus aureus y Escherichia coli?	ontra contiene compuestos aromáticos altamente volátiles, sintetizados esencial de las hojas	Obtener el aceite esencial de las hojas y flores de <i>Minthostachys mollis</i> . Determinar el efecto		E. Coli ATCC 25922 Muestra: Todas las bacterias derivadas de las cepas.
	flores (Naeem, 2018) Variable dependiente: Actividad antibacteriana Se refiere al proceso de matar o inhibir a las bacterias que causan la enfermedad. El antibacteriano puede ser bactericida o bacteriostático, para suprimir la	antibacteriano del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> "muña" al 50%, 75% y 100% contra <i>Staphylococcus aureus</i> . 3. Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> 50%, 75% y 100%	como antibacteriano contra Staphylococcus aureus y Escherichia coli.	Técnica e Instrumento de recolección de datos Técnica: Arrastre con vapor de agua Difusión en pozo Medición de los halos de inhibición
	infección. (Barzic y Ioan, 2015)	contra Eschericha coli.		Instrumento: Ficha

CALCULO DE LA MUESTRA (PROBABILÍSTICA)

Será determinada utilizando la fórmula estadística para comparación de medias independientes (Triola, 2018):

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \; 2\sigma^2}{(\overline{X}_1 - \overline{X}_2)^2} \label{eq:n_def}$$

En dónde:

 $Z_{\alpha/2} = 1,96$ Para un nivel de confianza del 95%

 $Z_{\beta}=0,\!84$ para una potencia de prueba del 80%

 $\overline{X}_1 = 20.88$ (Quispe y Mamani, 2016)

 $\overline{X}_2 = 16$ (CLSI, 2018)

 $\sigma = 3.38$ (Infantes, 2019)

$$n = \frac{(1.96 + 0.84)^2 \ 2(3.38)^2}{(20.88 - 16)^2}$$

n = 7.5221 = 8 cultivos.

Certificaciones de Cepas



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Deminicate of Analysis, Lyopnilized Microorganism Specification a Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0485-0544 Lot Number: 485-564 Reference Number: ATCC® 25923 ** Purity: Pure Passage from Reference: 2

ice Upon Release Expiration Date: 2022/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L Negen Release Date: 2020/9/26

Performance

Macroscopic Features:

Medium to large, convex, circular, glistening, smooth, creamy, opaque, beta SBAP hemolytic - both light gold and darker gold colonies may be present.

Microscopic Features:

Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters

ID System: MALDI-TOF

See attached ID System results document.

Medium:

Method: Gram Stain (1)

Other Features/ Challenges: Results
(1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive
(1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive
(1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative

Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

L

Scalaimer: 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 to number:

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

(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, not is licensed to use flees redemarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

(1) These tests are accredited to ISQAED 17025:2005.

ACCREDITED **TESTING CERT #2655.01**

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.

Staphylococcus aureus subsp. aureus

Sample Name: Sample Description: 0485 Sample ID: 485-564

2017-09-14T15:04:20.439 MB

Sample Creation Date/Time: Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D9 (+++) (A)	485-564	Staphylococcus aureus	2.52

Comments:

18	N/A	



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications
Microorganism Name: Escherichia coli
Catalog Number: 0335
Lot Number: 0335
Lot Number: 335-219
Reference Number: ATCC® 25922**
Purity: Pure
Passage from Reference: 3

Performance	
Macroscopic Features:	Medium:
2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex erose edge & fough	r, SBAP
Microscopic Features:	Method:
Gram negative straight rod	Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUS): positive (1) Ampidilin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm
	Amanda Kuperus Quality Control Manager

Disclaimer: The last digitis) of the lot number appearing on the product label and packing stip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(f) The ATCC Libensed Derivative Emblem, the ATCC Libensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, not is licensed to use these trademarks and profile products derived from ATCC® cultures.



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

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303

Page 1 of 1

DOC.286

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Meaning of Score



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: Escherichia coli

Sample Description: 0335 Sample ID: 335-219

Sample Creation Date/Time: 2017-01-12T15:07:53.975 CC

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

Library 1.0, Listeria

Sample	Sample ID	Organism (best	Score
Name		match)	Value
E1(+++)(A)	335-219	Escherichia coli	2.508

Comments:

closely related to Shigella and not definitely distinguishable at the moment

Constancia de similitud emitida por vicerrectorado de investigación



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El que suscribe, Vicerrector de Investigación de la Universidad San Pedro:

HACE CONSTAR

Que, de la revisión del trabajo titulado "Eficacia antibacteriana del aceite esencial de Minthostachys mollis (Muña) contra Staphylococcus aureus y Escherichia coli." del (a) estudiante: Irma Osorio Sanchez, identificado(a) con Código Nº 1314000011, se ha verificado un porcentaje de similitud del 21%, el cual se encuentra dentro del parámetro establecido por la Universidad San Pedro mediante resolución de Consejo Universitario Nº 5037-2019-USP/CU para la obtención de grados y títulos académicos de pre y posgrado, así como proyectos de investigación anual Docente.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Chimbote, 13 de Octubre de 2022





NOTA:

Este documento carece de valor si no tiene adjunta el reporte del Software TURNITIN.

Eficacia antibacteriana del aceite esencial de Minthostachys mollis (Muña) contra Staphylococcus aureus y Escherichia coli.

por Irma Osorio Sanchez

Fecha de entrega: 22-sep-2022 09:03a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1906205973

Nombre del archivo: TESIS_-_OSORIO_SANCHEZ_2.docx (123.87K)

Total de palabras: 7599 Total de caracteres: 43844



repositorio.uladech.edu.pe	1%
repositorio.unsaac.edu.pe Fuente de Internet	<1%
11 www.amazon.ae Fuente de Internet	<1%
renati.sunedu.gob.pe Fuente de Internet	<1%
repositorio.unac.edu.pe	<1%
14 1library.co Fuente de Internet	<1%
alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	<1%
Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia Trabajo del estudiante	<1%
Submitted to Universidad Catolica Los Angeles de Chimbote Trabajo del estudiante	<1%
aromatraining.com Fuente de Internet	<1%
19 uvadoc.uva.es Fuente de Internet	





Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 10 words