



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE
ESENCIAL DE HOJAS DE *Minthostachys mollis* (muña)
FRENTE A *Escherichia coli* COMPARADO CON
NORFLOXACINO**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORA

Bach. INFANTES FIGUEROA, MELINA YUDITH

ASESOR

Mgtr. LEAL VERA, CÉSAR ALFREDO

TRUJILLO – PERÚ

2019

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Docente Tutor Investigador

AGRADECIMIENTO

La realización del presente trabajo de investigación no habría sido posible sin la ayuda y soporte de muchas personas y a Dios por permitirme uno de mis logros más importante en mi vida de ser una profesional

A los miembros de jurado Dr. Jorge Luis Díaz Ortega, Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla, Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau y a mi asesor Cesar Leal Vera. A quienes les debo el hecho de que este trabajo tenga menos errores posibles y que de una u otra forma colaboraron o participaron en la realización del presente trabajo de investigación.

A mis padres. Porque sin su apoyo el camino hubiese sido mucho más duro por su confianza incondicional, por el ánimo que me dieron, pero sobre todo por su amor.

DEDICATORIA

A Dios

Al creador ya que sin el nada podemos hacer. Por su gran amor, por guiarnos por el camino de la verdad y el bien, por ser nuestro mejor amigo en los momentos más difíciles, porque nos brinda la fortaleza para superar los obstáculos que se presenta en nuestra vida y así ser mejor día a día y además de darnos la oportunidad de lograr nuestras metas.

A mi hermana

Sandra Bannesa Infantes Figueroa. *Por brindarme su confianza y cariño y amistad en todo momento. Por todo el sacrificio que realiza día a día para verme crecer como profesional,*

A mi abuelita Susana por todos los valores que me inculcó y por toda la comprensión y cariño que me dio. Gracias por todo

RESUMEN.

El presente trabajo de investigación, es de tipo experimental, enfoque cuantitativo y se realizó con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacino. Se trabajó con 20 placas divididas en 4 grupos que contenían cultivos de *Escherichia coli*, a los cuales se realizó los siguientes tratamientos: grupo control negativo con dimetilsulfóxido, grupo farmacológico con norfloxacino 10µg, grupo experimental 1 con aceite esencial *Minthostachys mollis* 25% y grupo experimental 2 con aceite esencial de *Minthostachys mollis* 50%, llevándose los cultivos a 37 °C durante 24 horas. Se evaluó el efecto antimicrobiano a través de los halos de inhibición, obteniendo los promedios de los halos de inhibición bacteriana para el grupo control negativo, grupo farmacológico, grupos experimental 1 y 2 con valores de 6; 1.24; 3.38; 1.93mm respectivamente diferenciándose significativamente entre ellos ($p < 0.00$) mediante la prueba de ANOVA. Se concluye que el aceite esencial *Minthostachys mollis* (muña) presenta actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*, sin embargo, fue superado de manera significativa por el estándar farmacológico.

Palabras clave: Aceite esencial, *Escherichia coli*, efecto antibacteriano, *Minthostachys mollis*, Norfloxacino.

ABSTRACT

The present research work is the experimental type, the quantitative approach and was carried out with the objective of evaluating the in vitro antibacterial effect of the essential leaf oil of *Minthostachys mollis* (muña) against *Escherichia coli* compared with norfloxacin. We worked with 20 plates divided into 4 groups containing cultures of *Escherichia coli*, which are reviewed the following methods: negative control group with dimethylsulfoxide, pharmacological group with norfloxacin 10 µg, experimental group 1 with essential oil *Minthostachys mollis* 25% and group experimental 2 with *Minthostachys mollis* 50% essential oil, taking the cultures at 37 ° C for 24 hours. The antimicrobial effect was evaluated through the halos of inhibition, obtaining the averages of the halos of bacterial inhibition for the negative control group, pharmacological group, experimental groups 1 and 2 with values of 6; 1.24; 3.38; 1.93mm respectively, differentiating between them ($p < 0.00$) using the ANOVA test. It is concluded that the essential oil *Minthostachys mollis* (muña) has antibacterial activity against *Escherichia coli*, however, it was significantly exceeded by the pharmacological standard.

Key words: Essential oil, *Echericha coli* antibacterial effect, *Minthostachys mollis*, Norfloxacin.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	8
2.1. Antecedentes.....	8
2.2. Bases teóricas	12
III. HIPÓTESIS	26
IV. METODOLOGÍA	27
4.1. Diseño de la investigación.....	27
4.2. Población y muestra.....	28
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores	30
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	31
4.5. Plan de análisis	35
4.6. Matriz de consistencia.....	36
4.7. Principios éticos.....	37
V. RESULTADOS	38
5.1. Resultado	38
5.2. Análisis de resultados.....	40
VI. CONCLUSIONES	43
RECOMENDACIONES	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	53

ÍNDICE DE TABLAS.

TABLA 01. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) a concentraciones de 25% y 50% frente a <i>Escherichia coli</i> comparado con norfloxacino a las 24 horas.....	38
TABLA 02. Comparación del efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys mollis</i> (25% y 50%) y norfloxacino en cultivo de <i>Escherichia coli</i>	39
TABLA 03: Determinación de la significancia utilizando PRUEBA T – STUDENT de muestras entre los grupos estándar y experimental 01 a las 24 horas ...	53
TABLA 04: Determinación de la significancia utilizando PRUEBA T – STUDENT de muestras independientes entre los grupos estándar y experimental 02 a las 24 horas.....	53
TABLA 05: Determinación de la significancia utilizando PRUEBA T – STUDENT de muestras independientes entre los grupos experimental 01 y experimental 02 a las 24 horas	54
TABLA 06: Prueba ANOVA para encontrar la significancia de los grupos de estudio	54

ÍNDICE DE GRÁFICOS

CUADRO 01: Grupo control negativo del efecto antibacteriano in vitro de hojas <i>Minthostachys mollis</i> (muña) en <i>E coli.</i> comparado con norfloxacino	55
CUADRO 02: Grupo farmacológico norfloxacino del efecto antibacteriano in vitro de hojas <i>Minthostachys mollis</i> (muña) en <i>E coli.</i> comparado con norfloxacino	55
CUADRO 03: Grupo experimental 1 <i>Minthostachys mollis</i> muña al 25 % del efecto antibacteriano in vitro de hojas <i>Minthostachys mollis</i> (muña) en <i>E. coli.</i> comparado con norfloxacino	56
CUADRO 04: Grupo experimental 2 <i>Minthostachys mollis</i> (muña) al 50 % del efecto antibacteriano in vitro de hojas <i>Minthostachys mollis</i> (muña) en <i>E coli.</i> comparado con norfloxacino	57
CUADRO 05: Resumen de los promedios de los grupos que forman la investigación del efecto antibacteriano in vitro de hojas <i>Minthostachys mollis</i> (muña) en <i>E. coli.</i> comparado con norfloxacino.	58
IMAGEN 01: límites de los diámetros de los halos de inhibición para el control de calidad de INS	59
IMAGEN 02: Certificación de la planta <i>Minthostachys mollis</i> (muña), en el Herbarium Truxillense (HUT)	60

I. INTRODUCCIÓN.

El uso de las plantas en diferentes áreas de nuestra cultura tiene aceptación científica y lo más importante, aportado el oxígeno para la supervivencia de nuestra especie y la vida en el planeta. Existen pruebas empíricas y científicas que avalan los beneficios de diversas plantas medicinales en diversas afecciones crónicas o leves. Los tratamientos con plantas medicinales, son la forma más popular de medicina tradicional, prevaleciendo a lo largo del tiempo gracias a la transmisión oral ⁽¹⁾.

“La Organización Mundial de la Salud ha informado que 80% de las personas en los países en crecimiento emplean la medicina tradicional herbolaria para resolver sus problemas de salud”. Tomando en cuenta que 80 % de la población mundial habita en países en desarrollo, se puede calcular que 64 % hace uso en forma no industrializada de las plantas medicinales que se emplean dentro de las terapéuticas tradicionales ⁽²⁾.

Las plantas cumplen un papel esencial en los avances de las culturas andinas. Con la presencia de los seres humanos en los andes, han empleado técnicas para que los vegetales sean fuente de medicina, combustible, alimento, etc. Las plantas tienen un valor primordial en las culturas andinas como son sus costumbres, creencias y ritos ⁽³⁾.

Nuestro Perú muestra un enriquecimiento y megadiversidad de plantas medicinales oriundas, que es el sostén de la etnofarmacología y la medicina antigua, desde la era del incanato hasta ahora. Siendo estas empleadas de modo práctico por sus beneficios terapéuticos en la protección y recuperación de la salud por sus excelentes resultados, debido a sus constituyentes químicos ⁽¹⁾.

Es así que las personas han ido desarrollando distintas habilidades para seleccionar las plantas medicinales mediante, la observación, la experiencia y entendimiento amplio

del entorno. Transmitido de generación en generación y prosperar por la unificación cultural del pueblo oriundo y migrantes, este conocimiento ha devenido en la medicina tradicional y la herboristería actual. Estos entendimientos, son organizados, para ayudar a solucionar las preocupaciones de salud de los lugares con incidencia desfavorable y olvidada de la civilización, cuyas probabilidades de sanarse son, actualmente escasos por su elevado precio de los medicamentos modernos ⁽⁴⁾.

A hablar de las enfermedades contagiosas en el Perú son un serio dilema de salud nacional debido a la permuta demográfica a la diversidad geográfico climática, ecológica, socioeconómica y alimentación existentes que entorpecen un mejor control y otorgar a un número mayor de muertes. “La Organización Mundial de la Salud publicó una relación porcentual de causales de muerte donde las enfermedades infecciosas ocupan el primer lugar con el 33% de defunciones, le siguen las enfermedades cardiovasculares con el 29% y el cáncer con el 12%.” ⁽⁵⁾ .

Las principales enfermedades causadas por bacterias son una preocupación de salud pública en países sub desarrollados. Se contagian, por vía fecal oral, o bien por el uso de agua y alimentos infectados. Causan especialmente a la población infantil y a su incidencia como su prevalencia acaten del nivel socioeconómico de los pacientes. Los agentes patógenos comprometidos son virus, parásitos y bacterias. La investigación, identificación de éstos en los laboratorios clínicos, se concentran principalmente en infecciones tradicionales como: “*Salmonella, Shigella, escherichia* ⁽⁶⁾ .

La resistencia antibacteriana es una maravilla biológica innata debido a las mutaciones y a la gran extensión de las bacterias de ceder horizontalmente su material genético, encontrarse una clara relación entre la utilización de antibióticos y la resistencia

bacteriana. Se establece así en una cuestión a nivel mundial que crece mayor sufrimiento humano, olvido en la productividad y mortalidad. La relación antibiótico bacteria se ve dañado por múltiples complicaciones como “la farmacocinética de la droga, la dosis, la permanencia del tratamiento, el tamaño de inóculo bacteriano, etc. por lo que se para optimice la utilización de estos fármacos”, se desarrollan supervisiones habituales de la resistencia como parte importante del régimen de control de la resistencia antibiótica ⁽⁷⁾.

La producción de betalactamasas son la causa principal de mecanismo de resistencia, tiene un amplio espectro de actividad antibiótica frente a microorganismos patógenos aerobios gram-negativos. El átomo de flúor en la posición 6, aumenta su potencia contra organismos gram-negativos y el radical de piperacina en la posición 7 es responsable de la actividad antipseudomonas. El principal mecanismo de resistencia se realiza a través de mutaciones en los genes que codifican para ADN girasa y la topoisomerasa ⁽⁸⁾.

Hoy en día la resistencia bacteriana en el Perú, es una de las causas principales de enfermedades infecciosas debido a que las bacterias tienen la capacidad de adaptarse con rapidez a diversas condiciones para sobre vivir, se toman muy virulentas haciendo resistencia a diversos antibióticos, debido al uso irracional de estos como consecuencia afectado la salud, por este motivo se busca alternativas como el aceite esencial de muña que sirva como tratamiento adyuvante.

La diversidad vegetal peruana presenta aproximadamente unas 50 000 especies identificadas, entretanto el continente europeo posee 12 000 especies. Razones nos sobran para maximizar el aprovechamiento sostenible de nuestros recursos naturales, previamente validados tecnológicamente y científicamente con los respectivos estudios. En cuanto a plantas aromáticas nativas estas son numerosas, como es la “muña”

Minthostachys mollis, de la que se reportan eficacia terapéutica en enfermedades gastrointestinales y del aparato digestivo, además de cualidades bactericidas y fungicidas ⁽⁹⁾.

Minthostachys mollis es de la familia *lamiceae* conocida como la muña que proviene del término quechua, que es utilizado como una medicina tradicional en las regiones andinas. Esta planta es arbusto leñoso que alcanza hasta “8 a 12 cm de altura es frondosa en la parte superior, su tallo es ramificado desde la base y posee hojas pequeñas sus flores son blancas y se encuentran reunidas en cortos racimos”. Crece entre los 2500 y 3500 m.s.n.m. su cultivo es muy fundido en las zonas andinas especialmente en Arequipa, Apurímac, Tarma, Huancavelica, Puno y la sierra liberteña donde se le conoce con diversos nombres tales como huayco, coa, y chancas ⁽⁹⁾.

En los últimos años estamos contribuyendo al aumento de la incidencia del contagio causadas por bacterias Gram-negativas resistentes a múltiples fármacos incluyendo enterobacterias multirresistente. Estos microorganismos generalmente están comprometidos en infecciones graves, lo que actualmente suponen un gran dilema de salud pública mundial. Las infecciones que causan tienen una mala predicción que las debidas a patógenos susceptibles, debido en parte a que los tratamientos antimicrobianos saturados antes de conocer datos microbiológicos que orienten o confirmen la etiología del proceso no son efectivos en un importante número de casos ⁽⁹⁾.

Este incremento de resistencias antimicrobianas, incorporado al poco interés de desarrollo de nuevos antibióticos frente a gramnegativos hace que cada vez accedamos de menos a alternativas terapéuticas para mejorar de dichas enfermedades infecciosas ⁽¹⁰⁾.

Escherichia coli es una bacteria que se localiza principalmente en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y animales. Requerido por su numerosa existencia en el tracto gastrointestinal y en las heces, *Escherichia coli* se utiliza como el cuadro principal de contagio por heces en la evaluación de la inocuidad de los alimentos y el agua. La emancipación de las *Escherichia coli* son organismos comensales inofensivos cuando se localiza en su inoculo intestinal natural ⁽¹¹⁾.

Diferentes cepas de *Escherichia coli* son patógenos gastrointestinales graves para los seres humanos, diferenciados de otras, por su desplazamiento de provocar enfermedades mediante mecanismos genéticamente controlados, como la elaboración de toxinas, la adhesión e invasión de células huéspedes, el cruce con el metabolismo celular y la devastación de tejidos. Teniendo espacio de intercambiar material genético por medio de elementos genéticos móviles tales como plásmidos y bacteriófagos, como respuesta de acomodación a entornos nuevos y desfavorables. Se cree que estos elementos genéticos cooperan a la aparición de agentes patógenos con mayor violencia, supervivencia ambiental y perseverancia en los sistemas alimentarios ⁽¹¹⁾.

Escherichia coli es la principal causa de infección nosocomial y la segunda comunitaria, se ha convertido en un patógeno susceptible frente a múltiples antibióticos, poseyendo niveles elevados de multirresistencia antimicrobiana. El uso inapropiado de antibióticos en las infecciones urinarias y mucho más en la bacteriuria asintomática ha provocado, que *Escherichia coli* haya aumentado una serie de mecanismos de resistencia antimicrobiana que hoy preocupan a la población en general ⁽¹¹⁾.

Lo que se trató de buscar en esta investigación fue alternativas naturales para poder disminuir el índice de enfermedades causadas por bacterias gram negativas *Escherichia*

coli. Como fuente de estudio, estuvo enfocado, en evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas *Minthostachys mollis* (muña). Como coadyuvante al tratamiento de esta manera permitirá a los especialistas de la salud mejorar la calidad de vida del paciente.

En el ámbito clínico dicha investigación sería de aporte científico que ayude a mejorar a las personas con problemas de cuadros infecciosos con una gran probabilidad de éxitos, teniendo también un valor social muy elevado al disminuir el índice de infecciones más prevalentes. También un valor económico aceptable por la población peruana, siendo las razones de llevar a cabo dicho estudio utilizar como alternativa al tratamiento productos naturales.

Sabiendo que hoy en día las ventajas que nos ofrece la naturaleza como parte medicinal y teniendo el conocimiento que existen pocos estudios sobre las propiedades antibacteriano de la muña se convirtió para esta investigación gran reto de saber si efectivamente, la muña con todos sus efectos terapéuticos, ayuda a combatir las enfermedades bacterianas, producidas por bacterias gram negativas. Por todo lo expuesto en la realidad problemática y existiendo información sobre la resistencia bacteriana comparado con norfloxacino me planteo la siguiente pregunta: ¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacino?

OBJETIVOS.

Objetivo general.

- Evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacino.

Objetivos específicos.

- Comparar el efecto antibacteriano de dos concentraciones del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (25% y 50%) en cultivo de *Escherichia coli*.
- Comparar el efecto antibacteriano de dos concentraciones del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (25% y 50%) y norfloxacino con cultivo de *Escherichia coli*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.

2.1. Antecedentes.

Aigaje et al, en el 2016, realizó un estudio en Quito – Ecuador, sobre la efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis*. Se utilizaron las hojas para la extracción de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y luego se diluyo para obtener las siguientes concentraciones 100, 50, 25 %. Se utilizó clorhexidina al 0,12%, ampicilina de 10ug como control positivo y agua como control negativo. Como resultado a una concentración del 100% mostro mayor efectividad con un halo de 13.6 mm. Donde concluyeron tanto la clorhexidina al 0,12 y la ampicilina de 10 ug, presentan una mejor actividad antimicrobiana que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* ⁽¹²⁾.

Torrenegra et al, en el 2016, realizó un estudio en Colombia; sobre la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. La actividad se realizó sobre tres bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli*. Para determinar la sensibilidad antibacteriana y la concentración mínima inhibitoria, los aceites se diluyeron hasta la concentración deseada (1000–50 µg/mL). Los resultados de la prueba de sensibilidad mostraron que las bacterias fueron sensibles al aceite esencial de *Minthostachys mollis*; además, este aceite presentó un elevado contenido de monoterpenos oxigenados con reconocida actividad antibacteriana, como son el carvacrol y el timol. En función de los resultados obtenidos, concluimos que la especie vegetal evaluada es promisoría para el control del componente bacteriano ⁽¹³⁾.

Huari et al, en el 2014, realizó un estudio en la ciudad de Lima – Perú sobre el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*. Se trabajó con las hojas para extraer el aceite esencial utilizando arrastre de vapor, posteriormente se comparó a distintas concentraciones frente a amoxicilina se concluyó que el aceite esencial a 100% presentó efecto antibacteriano con un halo de 10.79 mm. El control con amoxicilina presentó mayor halo de inhibición de 43.3 mm. Donde al compararlo con el control positivo presentó menor efecto inhibitorio ⁽¹⁴⁾.

Quichca et al, en el 2017, realizó un estudio en Lima – Perú, para determinar el grado de eficacia del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y clorhexidina al 0.12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*. El aceite esencial se trabajó a concentraciones de 50%,100% así como clorhexidina al 0.12% y agua destilada. obteniendo como resultado que las concentraciones al 50% y 100% del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) presentaron un halo de inhibición de 6.72 ± 0.37 mm y 10.81 ± 0.79 mm respectivamente a las 24 horas, mientras que 5.83 ± 0.51 mm y 8.24 ± 0.75 mm a las 48 horas respectivamente, mientras que la clorhexidina mostró un halo de inhibición de 15.8 ± 0.73 mm a las 24 horas y 15.98 ± 0.80 mm a las 48 horas frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis*. Concluyendo que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50 %, 100% son menos eficaces que la clorhexidina al 0.12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* a las 24 y 48 horas ⁽¹⁵⁾.

Abanto et al, en el 2016, realizó un estudio en Cajamarca - Perú sobre efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Griseb “muña” en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. El aceite esencial, fueron diluidos con etanol de 70° (diluciones de 10%, 50% y 100%), 5 µg de ciprofloxacino y 30 µg de cloranfenicol para la cepa de *Escherichia coli* y 30 µg de eritromicina y 5 µg de clindamicina para la cepa de *Staphylococcus aureus*. Los resultados obtuvieron un valor de $p=0,025$ para *Escherichia coli* y para *Staphylococcus aureus* $p=0,034$, por el método de los discos de sensibilidad. Según los resultados se concluye que el aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis*, Griseb “muña”, tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (16).

Gonzáles et al, en el 2013, realizó un estudio en Trujillo - Perú sobre el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Streptococcus mutans*, su investigación tuvo como propósito determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a *Streptococcus mutans* (17). Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), y la concentración mínima bactericida (CMB), para establecer el efecto antibacteriano frente a *S. mutans*. Los resultados nos permiten concluir que el aceite esencial de *M. mollis* presenta efecto antibacteriano in vitro frente a *S. mutans*, siendo la CMI de 0.31 µL/mL y la CMB, de 0.62 µL/mL a 0.75 µL/mL. Se recomienda realizar ensayos de campo, incorporando esta planta en colutorios y/o pastas dentales, y así determinar su efecto en la prevención de la caries dental (17).

Alaba et al, en el 2015, realizó un estudio en Trujillo – Perú sobre el efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre colonias

de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. El método de difusión de discos o Kirby-Bauer. Se utilizó 7 placas Petri con agar Muller-Hinton donde se sembraron las cepas del *E. faecalis* y se colocaron los discos con el IKI al 2 % o con el aceite esencial de muña al 100% y en dilución etanólica al 50 %. Las placas se incubaron a 37°C en estufa, se evaluó las placas midiendo el halo de inhibición de cada disco a las 24, 48 y 72 horas utilizando una regla milimetrada. Los resultados al 100% fue mayor a 24 horas y a las 72 horas disminuyo. Como conclusión el aceite esencial de muña al 100% presento mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento del *E. faecalis* que el IKI al 2% y la dilución etanólica de aceite esencial al 50% ⁽¹⁸⁾.

Bejarano et al, en el 2018, realizó un estudio en Trujillo. Sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con furazolidona, Se utilizó placas petri conteniendo cepas de *Escherichia coli*, aceite esencial de *Minthostachys mollis* y furazolidona, se aplicó el método Kirby Bauer en 10 placas petri. El grupo experimental fue tratado con aceite esencial de *Minthostachys mollis*, teniendo como grupo control la furazolidona. Obteniéndose que el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 75% obtuvo un halo inhibitorio promedio de 16mm y al 50% de 12.7mm. Además, la furazolidona, con 100mg obtuvo un promedio de 27.1mm de efecto antibacteriano. Se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene menor efecto antibacteriano que la furazolidona sobre cepas de *Escherichia coli* ⁽¹⁹⁾.

2.2. Bases teóricas.

Fitoterapia.

Se define a la fitoterapia como la ciencia que estudia la utilización de los géneros de procedencia vegetal con una finalidad terapéutica, ya sea para evitar, mitigar o curar una fase patológica. Si bien la sociedad ha empleado las plantas para curarse durante toda su historia, al recurrir en los de origen vegetal en el tratamiento ha modificado a lo largo de los tiempos, de acuerdo con los avances del conocimiento científico tanto sobre estos productos como sobre las demás herramientas terapéuticas ⁽²⁰⁾.

Fitoterapia en la actualidad.

Para localizar los límites del tratamiento en la terapéutica actual, y por lo tanto requerir una idea moderna de la misma, se debe partir de tres premisas:

- Si bien los frutos fitoterápicos suelen tener bordes de confianza al tratamiento más grande y suelen tener pocos efectos adversos que los fármacos sintéticos, cabe siempre recordar que natural no es sinónimo de inocuo ⁽²⁰⁾.
- Actualmente existe un origen científico que puede sostener la eficacia de muchos frutos fitoterápicos para determinadas indicaciones. Establece alternativas fuertemente deseables para muchas enfermedades menores, enfermedades crónicas y prácticas higiénicas ⁽²⁰⁾.
- La efectividad se alcanza solamente con la utilización apropiado de los preparados fitoterápicos, como se refiere a las indicaciones, como con la forma de administración y la dosificación. La obligación del profesional sanitario en este aspecto, y por ende de su preparación curricular, es insoslayable. También se requiere una legislación adecuada ⁽²⁰⁾.

Plantas medicinales.

En la actualidad existen una variedad de plantas medicinales las cuales son aprovechadas para la elaboración de productos naturales, es por ello que una planta medicinal tiene que contener principios activos de carácter medicinal, porque de ello dependerá su efecto farmacológico para curar o aliviar una dolencia de un ser vivo, para poder emplearlo en una determinada enfermedad de un individuo, se tiene que identificar en que parte específica de la planta se puede obtener los principios activos y evaluar cuál o cuáles de los principios activos encontrados es el que más sobresale determinándose en porcentaje ya que de ello dependerá su uso terapéutico, en los últimos años las plantas se viene empleando como medicina complementaria debido a sus numerosos beneficios que proporciona al organismo es por ello que ha resurgido el interés por el regreso de la naturaleza a nuestras vidas y así optar por lo natural y evitar lo artificial ⁽²¹⁾.

Droga vegetal.

Es toda sustancia de origen natural o sintético, que tiene propiedades medicinales, ya sea compuesta por un elemento químico o varios ⁽²⁰⁾.

Principio activo.

Son los constituyentes encargados de la acción farmacológica. La fitoterapia emplea drogas vegetales y preparaciones de dichas drogas en la forma farmacéutica más adecuada para su administración. ⁽²⁰⁾.

Thompson refiere que el valor medicinal de las plantas curativas, se debe a la presencia de una sustancia química principio activo que produce un efecto fisiológico. Mucho de

los principios activos son sumamente complejos, desconociéndose aún su naturaleza química; otros han sido purificados, sintetizados o imitados. Por lo general pertenecen a una de estas categorías: aceites esenciales, alcaloides, glúcidos, taninos, sapogeninas, fenoles, quinonas, terpenos, carotenoides, cumarinas, flavonoides, resinas ⁽²⁰⁾.

Aceites esenciales.

Los aceites esenciales en las plantas pueden encontrarse en diferentes células oleíferas (jengibre, cúrcuma, vainilla), en los canales secretorio (pino, artemisia, anís, angélica), están presentes en las glándulas (cítricos, eucaliptos), o en los tricomas (muchas plantas de las familias Labiadas, Asteráceas, Solanáceas, Geraniáceas). El material vegetal (planta aromática), al ser sometido al vapor de agua libera una mezcla odorífera líquida (aceite esencial) de una gran variedad de sustancias volátiles, que recuerdan el olor, en forma muy concentrada ⁽²²⁾.

Se encuentran muy difundidos “en el reino vegetal, de las 295 familias de plantas, de 60 a 80 producen aceites esenciales. Sus propiedades físicas, Los aceites esenciales son de apariencia oleoso, altamente volátiles, solubles en aceites, alcohol, éter de petróleo, tetracloruro de carbono y demás solventes orgánicos; insolubles en agua, aunque le transmiten su perfume; son inflamables, responsables del aroma de las plantas, 7 colores y sabores, a veces dulces o amargos, con densidad generalmente inferior a la del agua ⁽²³⁾.

“Están compuestos en su mayor parte por hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos que se encuentran con otros compuestos, casi siempre oxigenados ⁽²³⁾. Los aceites esenciales están contenidos en semillas, glándulas, pelos glandulares, sacos, o venas de diversas piezas de la planta. El rendimiento de los aceites esenciales

se encuentra en La mayoría de plantas contienen de 0,01 a 10% de contenido de aceite esencial” (23).

El numero media que se encuentra en la mayoría de las plantas aromáticas es alrededor de 1 a 2%. Regularmente el contenido de aceites esenciales aumenta después de la lluvia y alrededor del mediodía, cuando se ha eliminado el agua de rocío depositada sobre la planta, y ha comenzado una deshidratación antes de la humedad relativa alta de la noche (23).

Composición química.

Los componentes mayoritarios son hidrocarburos terpénicos (sin aroma o con poca distribución de aroma global) y los minoritarios (pero no por ello menos importantes) son los responsables del aroma característico del aceite esencial y quedan englobados en distintas familias químicas (14).

- **Hidrocarburos terpénicos:** terpenos y terpenoides.
- **Aldehídos:** aldehído benzoico, aldehído cinámico, butanal, propanal.
- **Ácidos:** acético, palmítico.
- **Alcoholes:** linalol, geraniol, mentol.
- **Fenoles:** anetol, eugenol.
- **Ésteres:** acetato de linalilo, acetato de geranilo.
- **Cetonas.**
- Otros ésteres, derivados nitrogenados, sulfuros, tioéteres, tioésteres (14,15).

Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales, son constituyentes separados de diversos prototipos de plantas y utilizados para conservar alimentos y bebidas, tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos ⁽¹⁴⁾.

Extracción de aceites esenciales.

La destilación es el principal método para extraer los aceites esenciales de las plantas aromáticas, puede ser directo o con vapor de agua. La elección del método depende de la cantidad o características del aceite (volatilidad, punto de ebullición de los componentes, etc.), como de la planta o su parte de la cual se va a extraer el aceite esencial ⁽¹⁴⁾.

Hidrodestilación, destilación con agua y vapor, destilación por arrastre de vapor, hidrodetilación asistida por la radiación de microondas, expresión, extracción por enflorado y extracción por fluidos supercríticos ⁽¹⁴⁾.

***Minthostachys mollis* (MUÑA).**

Minthostachys mollis.

“Se nombra en la lengua quechua muña, y en aymara tiene dos nombres: Coa y Huaycha. Por sus características similares al póleo y orégano, los españoles le llamaban póleo silvestre. Otros nombres vulgares con los que se le conoce a esta planta son: muña negra, polco silvestre, coz, muña-muña, arash muña, kon orccomuña y chancas” ⁽¹⁴⁾.

Hábitat.

Esta planta generalmente se cultiva entre los 2500 – 3500 m.s.n.m. Habita entre los diferentes pisos ecológicos de nuestra serranía, comportándose como tal existe en gran abundancia. Así como es una planta hemicriptófila que durante la época más fría del invierno y seco desaparecen sus órganos aéreos para brotar nuevamente con las primeras lluvias de la primavera. Alcanza una altura de 0.80 a 1.50 m, desarrollándose en forma difusa y muy ramificada, crece en lugares cercanos de las acequias, manantiales ⁽¹⁴⁾.

Taxonomía ⁽¹⁴⁾.

- **División:** *Fanerógama*
- **Subdivisión:** *Angiosperma*
- **Clase:** *Dicotiledónea*
- **Subclase:** *Gamopétala*
- **Orden:** *Tubiflorales*
- **Familia:** *Lamiaceae*
- **Género:** *Minthostachys*
- **Nombre vulgar:** muña

Descripción botánica.

Minthostachys mollis (muña) es una planta arbustiva, erecta y rastrera generalmente de 0.03 cm. A 1.250 m; de raíz pivotante y de fuerte consistencia, que a partir de la corona emerge un gran número de tallos con abundante población foliar entre

anchas y angostas alternas y simples, es decir sin brácteas de tallo cuadrangular con ritidomas de color marrón inflorescencia racimosa dicotómica de 10 a 30 flores ya sean de formas solitarias o asociadas formando glomérulos ⁽¹⁴⁾.

Composición química.

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), al igual que otros aceites esenciales, presenta una estructura aldehídica, cetónica, alcohólica (mentol y mentona, pulegona), ésteres, éteres y terpenos en mayor porcentaje. Realizó la desterpenación del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) determinado el 10.20 % para la parte desterpenada (compuestos oxigenados) y 89.80 % para la fracción terpénica. Se determinó la presencia de carvacril acetato, carvacrol, pulegona y mentona ⁽¹⁴⁾.

La composición de la muña es: aceite esencial, glucósidos, mucílagos, saponinas, taninos, alcaloides y esteroides. Además, contiene carbohidratos, calcio, fósforo, hierro, trazas de vitamina B1, esencias y mentol ⁽¹⁴⁾.

Propiedades terapéuticas.

La muña es famosa por la población en general por sus propiedades digestivas contra cólicos, flatulencias (carminativo), vómitos, diarreas, antitusígenas, antiasmático, expectorante antiespasmódico, antiséptico, analgésico, antiinflamatorio, febrífugas, en tratamiento de tumores y mezclándola con chilca se emplea en fracturas. Es excelente contra la halitosis y para combatir jaquecas y soroche ⁽¹⁴⁾.

Toxicidad.

Uno de los constituyentes con mayor toxicidad de muchos aceites *Minthostachys* es Pulegona, o como poleo (*Mentha pulegium*). El consumo de altas dosis es muy toxico ocasionando daño en el hígado y en gestantes puede provocar el aborto ⁽¹⁵⁾.

Escherichia coli.

La *Escherichia coli* pertenece a la familia de las enterobacterias que son bacilos gram negativos que se encuentran en suelo, agua, vegetación y la flora intestinal normal del hombre y de los animales. Su pared está compuesta por peptidoglucano, un fosfolípido doble, además de lipopolisacáridos, lipoproteínas, purinas y otras, contando con unos apéndices u organelas que se irradian hacia el exterior y que le sirven como aparato de locomoción ^(24,25).

Son cilíndricas con 1,1 – 1,5 μm de diámetro por 2,0 – 6,0 μm de largo que se disponen aisladas o en parejas. Son bacterias quimioheterótrofas facultativas teniendo los metabolismos fermentativo y respiratorio, no forman esporas, están desprovistas de oxidasa, producen catalasa y β -galactosidasa, pueden ser móviles por flagelos peritricos o inmóviles y normalmente reducen nitrato a nitrito ⁽²⁶⁾.

Como todas las bacterias gram negativas, la cubierta de *Escherichia coli* consta de tres elementos: la membrana citoplasmática, la membrana externa y, entre ambas, un espacio periplásmico constituido por péptido glucano. Esta última estructura confiere a la bacteria su forma y rigidez, y le permite resistir presiones osmóticas ambientales relativamente elevadas ⁽²⁶⁾.

Escherichia coli presenta múltiples características y facetas, y constituye el taxón bacteriano mejor estudiado, aunque el conocimiento de las cepas salvajes es aún parcial. Parece, que las facultades de adaptación de esta bacteria son poco comunes, debido a la adquisición de nuevos genotipos a partir de plásmidos, bacteriófagos, y otros elementos que transmiten su material genético. Además, su conocida capacidad de ubicuidad favorece la aparición reiterada de cepas con nuevas propiedades, incluyendo capacidades patógenas no fácilmente reconocibles ⁽²⁶⁾.

Clasificación científica ⁽²⁶⁾.

- **Nombre científico:** *Escherichia coli*
- **Categoría:** *Especie*
- **Clasificación superior:** *Escherichia*
- **Filo:** *Proteobacteria*
- **Especie:** *E. coli*
- **Familia:** *Enterobacteriaceae*

Genoma de la bacteria.

Los microorganismos se clasifican gracias a la expresión de su genoma material genético. Desde tiempo atrás se usa la clasificación bioquímica o fisiológica y también, la serológica para diferenciar las distintas especies y diferentes serovariedades de una misma especie ⁽²⁵⁾.

El procedimiento serológico se basa en las diferencias antigénicas capacidad de producir anticuerpos diferentes por la superficie cuerpo de la bacteria que constituye el antígeno O y los flagelos son los antígenos H de bacterias de una misma especie. Así, se establecen las serovariedades ⁽²⁵⁾.

Etiopatogenia.

Se han podido identificar por lo menos seis categorías de *E. coli* que provocan diarreas en el humano, *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), enteroinvasiva (EIEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroagregativa (EAEC), adherent difusa (DAEC) y enteropatógena (EPEC). Cada una de ellas tiene codificado a nivel cromosomal y plasmídico diferentes grupos de genes que participan directamente en la virulencia ⁽²⁴⁾.

La *E. coli* infectante se considera enterotoxigénica y produce severas diarreas especialmente en menores, ancianos e inmunocomprometidos. La enterotoxina favorece la secreción masiva de líquido y el diagnóstico de la misma que no se confirma fácilmente porque únicamente está basada en identificar la toxina termolábil que es codificada por diversos genes y la toxina termoestable, lesionan la mucosa causando pérdida de vellosidades. Su patogenia tiene tres pasos, adherencia a los enterocitos, inducción de señales transductivas en enterocitos y el desarrollo de adherencia a éstos. Solo es posible realizar un diagnóstico de infecciones por *E. coli* cuando se detecta los genes codificadores de la virulencia mediante sondas de ADN ⁽²⁵⁾.

La totalidad de las cepas intestinales de *E. coli* no son patógenas y conviven en armonía con el hospedador, algunas incluso lo benefician sintetizando cofactores y hasta lo protegen de la invasión por microorganismos patógenos ⁽²⁵⁾.

No obstante, varias cepas son patógenas y pueden producir infecciones entéricas diarrea, disentería, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico o extra intestinales infecciones urinarias, bacteriemias o septicemias, meningitis, peritonitis, abscesos, mastitis, infecciones pulmonares y de heridas ⁽²⁵⁾

Mecanismos de virulencia.

La capacidad de las cepas patógenas de *Escherichia coli* para causar los distintos tipos enfermedades intestinales y extraintestinales procede de la manifestación de múltiples causas de virulencia incluyendo adhesinas, toxinas, sideróforos y sistemas de secreción entre otros ⁽²⁵⁾.

La virulencia bacteriana es un prodigio multifactorial. Las cepas patógenas de *E. coli* tienen diferentes tipos de factores de virulencia que aportan coincidentemente a potenciar su patogenicidad ⁽²⁵⁾. La manifestación de factores de virulencia específicos confiere una progresiva capacidad de adaptación a nuevos nichos y permite causar un largo espectro de enfermedades ⁽²⁵⁾.

Inmunidad contra.

Una relación elevada 40 a 90% de las cepas de *E. coli* son resistentes a la ampicilina, estreptomicina, tetraciclinas y sulfamidas. También son muchas 15 a 30% las cepas resistentes a las cefalosporinas de 1ª generación, neomicina, kanamicina, cloranfenicol y quinolonas. Entre los antibióticos que presentan menores tasas de

resistencias se dispone de amoxicilina-ácido clavulánico, cefalosporinas de 2ª y 3ª generación, gentamicina, tobramicina, ampicacina, colistina y polimixina B ^(25,26).

El norfloxacino es un medicamento de elección para el tratamiento de infecciones por *E. coli* antibiótico bactericida de amplio espectro, actúa sobre el ADN bacteriano inhibiendo la enzima ADN girasa enzima que sintetiza el ADN y se encarga del enrollamiento de este ^(25,26).

Infección Bacteriana.

E. coli es la causa del 70 a 95% de las ITU, especialmente de cistitis no complicadas y de pielonefritis agudas. Los grupos de riesgo para ITU incluyen neonatos, niñas en edad preescolar, mujeres sexualmente activas y ancianos de ambos sexos ⁽²⁶⁾.

Tradicionalmente las estrategias terapéuticas y preventivas dependen del uso de antimicrobianos con el objetivo de inhibir el crecimiento bacteriano, pero urgen alternativas a estos compuestos debido al drástico aumento de resistencia múltiple a los antimicrobianos. Además, recientemente se ha demostrado que concentraciones subinhibitorias de antibióticos aminoglucósidos inducen a la formación de biopelícula por *E. coli* ^(25,27).

Etapas de la infección.

Dentro de las etapas de la infección bacteriana tenemos las siguientes:

Colonización: es la presencia de una bacteria sobre una superficie del cuerpo humano, sin que a nuestro organismo le afecte, ni siquiera trata de deshacerse de ellas, es decir no se echan a andar los mecanismos de defensa del cuerpo y no se forman anticuerpos. Muchas superficies de nuestro cuerpo están cubiertas de bacterias como piel y mucosas (piel, intestinos, boca, vagina, etc) ⁽²⁸⁾.

Invasión: es la penetración de una bacteria a un tejido u órgano donde es reconocida como extraña, para ello debió haber superado los primeros mecanismos de defensa del organismo como lo son las barreras físicas como piel y mucosas ⁽²⁸⁾.

Infección: una vez que la bacteria ha traspasado las barreras naturales y se encuentra alojada en un sitio donde usualmente no debería haber bacterias, nuestro cuerpo la reconoce como extraña y echa a andar mecanismos de defensa para eliminarlas. En este caso la bacteria despierta a nuestro sistema inmune y se forman anticuerpos. De aquí pueden derivarse 2 situaciones: a) Que los mecanismos de defensa de nuestro organismo controlen a la bacteria sin que esta nos provoque un daño, y b) que la bacteria supere a nuestros mecanismos de defensa provocándonos una “ENFERMEDAD” con un daño sobre los tejidos u órganos invadidos ⁽²⁸⁾.

Para el diagnóstico de infección se utiliza el ECEH 0157:H7 pues estas cepas fermentan el solitol y forman colonias en placas de agar Mckonkey Sorbitos, el tratamiento de infección se hace empleando medidas de soportes. Las cepas específicas de *E. coli* enteroinvasivas son detectadas cultivándolas y obteniendo como resultado unas colonias que son negativas a lactosa ⁽²⁹⁾.

Mecanismo de acción de *Minthostachys mollis* frente a cepas *Escherichia coli*.

El aceite de *Minthostachys mollis*, presenta una estructura aldehídica, cetónica, alcohólica, con ésteres, éteres y terpenos en mayor porcentaje. La característica lipofílica del aceite le permite traspasar membranas e inducir fugas en la permeabilidad de cada uno de los componentes estructurales generando pérdidas iónicas. Al producir daño en la estructura esto conllevará a una cascada de alteraciones en otros orgánulos por lo cual no solo habrá afectación localizada sino difusa en los microorganismos. En casos singulares el utilizar de manera pura los compuestos puede favorecer a una mayor acción frente a patógenos al compararlo con los aceites extraídos ^(19,29).

Por otra parte, el carvacol es uno de los componentes más importantes del aceite y de actividad más notables, pues basa su mecanismo en desintegrar los precursores grasos, enlenteciendo el intercambio de sustancias a través de la membrana. Este compuesto acaba las reservas ATP bacterianas ocasionando un pésimo metabolismo. Otro componente, el cinaldehído, inhibe enzimas como carboxilasa y proteasas al bloquear la vía respiratoria de las bacterias impidiendo el tránsito normal del potasio y modificando el pH. Pero, el dato más relevante en torno a su acción se basa en la existencia por parte de la bacteria de una diversidad de posibilidades de accionar frente a los tratamientos ^(30,33).

III. HIPÓTESIS.

Hipótesis alterna (H1)

El aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) si tiene efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacino.

Hipótesis nula (H0)

El aceite esencial de hojas *Minthostachys mollis* (muña) no tiene efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacino.

IV. METODOLOGÍA.

4.1. Diseño de la investigación.

El presente trabajo investigación fue un estudio experimental, in vitro, aplicado y de nivel explicativo de enfoque cuantitativo. La técnica utilizada fue la prueba de sensibilidad antimicrobiana aplicando el método de discos de Kirby-Bauer.

Grupo Control Negativo.

Formado por 5 placas petri conteniendo agar Mueller Hinton (20 ml) sembrado *Escherichia coli*, ($1,5 \times 10^8$ UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron discos hechos con papel whattman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocaron 20 ul del solvente de dilución del aceite esencial (dimetilsulfóxido - DMSO al 10%). Por 24 horas.

Grupo Estándar Farmacológico:

Formado por 5 placas Petri conteniendo agar Mueller Hinton (20 ml), sembrado de *Escherichia coli*, ($1,5 \times 10^8$ UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron discos de norfloxacino 10ug en solución.

Grupo Experimental 1.

Formado por 5 placas petri conteniendo agar Mueller Hinton (20 ml), sembrado *Escherichia coli*, ($1,5 \times 10^8$ UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron discos hechos con papel whattman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocaron 25 ul de aceite esencial de *Minthostachys mollis* 25%.

Grupo experimental 2.

Formado por 5 placas petri conteniendo agar Mueller Hinton (20 ml), sembrado de *Escherichia coli*, ($1,5 \times 10^8$ UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo 0.5 de la turbidez de Mc Farland, en ellas se colocaron discos hechos con papel whattman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocaron 25 ul de aceite esencial de *Minthostachys mollis* 50%.

4.2. Población y muestra.

Estuvo constituida por el conjunto de placas petri con agar Mueller Hinton con diferentes concentraciones de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* (muña) con siembra adecuada de cepas *Escherichia coli*, se ejecutó en el laboratorio de microbiología de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote filial Trujillo

a) Población vegetal.

La población estuvo constituida por las plantas completas (raíz, tallo, hojas y flor) de *Minthostachys mollis* (muña)

Muestra vegetal.

La muestra estuvo constituida por 1.650 kg hojas frescas de *Minthostachys mollis* (muña).

Criterios inclusión

- Hojas frescas de *Minthostachys mollis* muña en buenas condiciones organolépticas libres de microorganismos y pesticidas.

Criterios de exclusión:

- Se rechazó aquellas plantas demasiado jóvenes, pequeñas o envejecidas, y también aquellas que hubieran estado expuestas a pesticidas u otros factores que podrían afectar la composición química de la misma y así puedan afectar su poder antibacteriano.

b) Población microbiológica:

Escherichia coli fue obtenida de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote filial Trujillo se trató de un microorganismo silvestre, el cual fue aislado y tratado con ayuda de un docente tutor de microbiología.

Criterios de inclusión:

- Cultivos de 24 horas después de la inoculación

Criterios de exclusión:

- No se utilizó cultivos de *Escherichia coli* que se encuentren contaminados.

4.3. Definición y operacionalización de variables

VARIABLES	DEFINICION		INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
	CONCEPTUAL	OPERACIONAL		
Independiente: Aceite esencial de las hojas <i>minthostachys mollis</i> (muña)	Pequeña porción concentrada de compuestos químicos denominado aceite esencial adquirido de las hojas de <i>Minthostachys mollis</i>	Se realizó el método de destilación de arrastre a vapor empleando el destilador y se utilizó dos concentraciones para el tratamiento bacteriano	Tratamientos 25% v/v 50% v/v Control DMSO 10% v/v	Cualitativo nominal
		dependiente: Efecto antibacteriano in vitro de <i>Minthostachys mollis</i> muña frente a cepas de <i>Escherichia coli</i>	Valoración de efecto antibacteriano capaz de impedir el crecimiento de la bacteria al cabo de 18-24 h de incubación	

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Material vegetal y obtención del aceite esencial.

a) Recolección de *Minthostachys mollis* (muña)

Las hojas frescas de la planta, se recolectaron de la provincia de Gran Chimú distrito de Cascas Sayapullo, Cruz pampa en el Departamento de La Libertad 2,357 m.s.n.m. Se certificó en el Herbarium Truxillense HUT, luego fueron llevadas al centro de atención en medicina complementaria Essalud (CAMEC), donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones de este modo se obtuvo la muestra fresca (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a la estufa a 40-45°C por 3 hora luego se realizó extracción.

Extracción de aceites esenciales:

El aceite esencial se obtuvo por el método de arrastre a vapor de agua, a través del uso del cleverger GLASSCO con capacidad para 4 L. Empleándose 1.650 kg del material vegetal, el cual selecciono, se agregó en el balón de extracción, conteniendo 500 mL de agua destilada, el aceite esencial se recolecto en una pera de decantación, se dejó en reposo hasta observar la separación del agua y del aceite, el tiempo de extracción duro 3 horas, el aceite esencial se depositó en frasco ámbar y se cerró herméticamente luego se almaceno en refrigeración para su uso.

Preparación de las concentraciones de aceite esencial

Una vez obtenida el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), se utilizó aceite esencial de muña puro (100%) trabajándose a 2 concentraciones 25% y 50%. para eso se procedió a realizar las diluciones utilizando como solvente el dimetilsulfóxido

(DMSO). Las concentraciones obtenidas se colocaron en tubos de ensayo protegidos con papel aluminio para evitar la exposición a la luz, lo cual puede alterar la composición química del aceite esencial.

Fórmula para obtener la concentración de Aceites esenciales.

CONCENTRACIÓN FINAL DE LOS ACEITES ESENCIALES

Volumen aceite esencial	Volumen DMSO	Volumen final	Concentración %
1.25 ml	3.75 ml	5ml	25%
2.50 ml	2.50 ml	5ml	50%

DMSO: Dimetilsulfóxido

b) Material Bacteriológico:

Aislamiento del microorganismo.

Para el aislamiento del cultivo de *Escherichia coli*, en la placa se aplicó el método de estrías cruzadas se procedió a la siguiente forma.

- Se desinfecto por completo el área de trabajo con hipoclorito de sodio, se prendió el mechero para eliminar microorganismos dispersos en el ambiente.
- Se realizó el trabajo cerca al mechero, se marcó la base de la placa Petri, especificando concentraciones, fecha y hora de trabajo.

- Se esterilizo el asa bacteriológica por método de flameo hasta llevar al rojo vivo.
- Se dejó enfriar el asa contando de 20 a 30 segundos, para luego proceder con el sembrado de la muestra *Escherichia coli*. Se incubo la placa petri, La incubación se realizó a 35 ± 2 °C por 24 horas.

Preparación del inóculo para *Escherichia coli*:

El inóculo bacteriano se preparó de acuerdo a las indicaciones establecidas por el Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI, 2011), tomando entre 1-2 colonias bien diferenciadas y morfológicamente similares de las bacterias previamente sembradas en placas petri, y luego suspendiéndolas en tubos de ensayo en caldo homólogo estéril, (solución salina estéril). para la comparación de patrón de turbidez de Mac Farland 0.5 se realizó en papel blanco con líneas negras para visualizar mejor la turbidez ⁽³¹⁾.

Método de difusión de discos.

El método más común en la evaluación de la actividad antimicrobiana es el ensayo Kirby – Bauer. Los discos empleados son impregnados del extracto de *Minthostachys mollis* en diferentes concentraciones para colocarlas en cada placa a una distancia establecida (2 cm). Al ser sometidos a un grado de incubación de 37°C en 24 h. Para *Escherichia coli*, el extracto difunde radialmente desde el disco a través del agar, la cual la concentración disminuye al extenderse y alejarse desde el punto de disco. Llega

a un punto en que el extracto con actividad antibacteriana no ejerce dicho efecto frente a la cepa. Al medir el diámetro del área de inhibición alrededor del disco, este puede clasificarse en diferentes categorías de sensible, intermedio o resistente ⁽³¹⁾.

Siembra de la muestra:

- Se utilizó un asa bacteriológica estéril, para obtener el inóculo de la solución preparada para tomar *Escherichia coli*.
- Se colocó el aplicador por encima del nivel del contenido o la muestra del tubo y se gira por las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo.
- En la superficie de la placa con el medio de cultivo, se sembró el inóculo de manera uniforme, en estrías en 3 direcciones, dejando la placa tapada entre 5 a 10 minutos para que la superficie del medio se seque.
- Después del sembrado de la bacteria en estudio, se colocó los discos en la superficie del agar dentro de la placa usando pinzas estériles, presionar los discos suavemente sobre el medio de cultivo para asegurar la adherencia al medio y el contacto sea uniforme.
- En la superficie de la placa se colocaron 4 discos en la periferia, con una medida de 2 cm de distancia entre disco y disco, para evitar que el halo de inhibición quede sobrepuesto.
- Finalmente se incubaron las placas con el sembrado inmediatamente a una temperatura 37°C.

Técnica de medición de halos de inhibición:

Para la lectura de los halos de inhibición se utilizó la regla de vernier después de 24 horas de incubación de los cultivos de *Escherichia coli*, referidos por el Instituto Nacional de Salud (INS) Ver anexo ⁽³¹⁾.

4.5. Plan de análisis

Para el análisis y tabulación de datos recolectados se utilizó el programa Excel 2013 los cuales fueron procesados a través del paquete estadístico IBM-SPSS-versión 20, donde se encuentran las pruebas estadísticas T-Student para dos grupos y el análisis de varianza ANOVA para la comparación de varios grupos (grado de confianza 95% - $\alpha \leq 0.5$). Los resultados que se obtuvieron de los grupos de estudios fueron presentados en tablas.

4.6. Matriz de consistencia

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación	Variables	Definición operacional	Indicadores /escala de medición	Plan de análisis
EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS DE <i>Minthostachys mollis</i> (MUÑA) FRENTE A <i>Escherichia coli</i> , COMPARADO CON NORFLOXACINO	¿Cuál es el efecto antibacteriano de hojas <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a <i>Escherichia coli</i> comparado con norfloxacino?	Objetivo general.	(HO)	Tipo de investigación. Cuantitativo	Independiente	Concentración de A.E.M	A.E.M	T-STUDENT y ANOVA
		Objetivos específicos.	(H1)		dependiente	de A.E.M <i>Mollis</i> 25% y 50 %	<i>Mollis</i> 25% A.E.M <i>Mollis</i> 50 %	
		-Comparar el efecto antibacteriano de las distintas concentraciones del aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a <i>Escherichia coli</i> .	El aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) NO tiene efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli</i> comparado con norfloxacino.	Diseño de investigación Experimental	Efecto Antibacteriano	Se determinó mediante la medición de	Variable cualitativa nominal	
		-Comparar el efecto antibacteriano de las distintas concentraciones del aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) frente a <i>Escherichia coli</i> , con norfloxacino.	El aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys mollis</i> (muña) SI tiene efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli</i> comparado con norfloxacino		In vitro de <i>Minthostachys mollis</i> (muña)	los halos de inhibición	Mm (milímetros) Variable cuantitativa de razón	

4.7. Principios éticos.

El presente trabajo de investigación se realizó respetando la normativa legal y los principios éticos, cumpliendo los procesos establecidos de acuerdo a las normas de bioseguridad, de la universidad católica Los Ángeles de Chimbote.

Protección a las personas: La persona en toda investigación es el fin y no el medio, por ello necesitan cierto grado de protección, el cual se determinará de acuerdo al riesgo en que incurran y la probabilidad de que obtengan un beneficio ⁽³²⁾.

Justicia: El investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas. El investigador está también obligado a tratar equitativamente a quienes participan en los procesos, procedimientos y servicios asociados a la investigación ⁽³²⁾.

Integridad científica: Alude al correcto procedimiento de la práctica de la ciencia, y connota honestidad, transparencia, justicia y responsabilidad. Por tanto, transmite las ideas de totalidad y consistencia morales ⁽³²⁾.

Consentimiento informado y expreso: En toda investigación se debe contar con la manifestación de voluntad, informada, libre, inequívoca y específica; mediante la cual las personas como sujetos investigadores o titular de los datos consienten el uso de la información para los fines específicos establecidos en el proyecto ⁽³²⁾.

V. RESULTADOS.

5.1.RESULTADOS.

TABLA 1. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) a concentraciones de 25% y 50% frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacino a las 24 horas.

GRUPOS	PROMEDIOS DE HALOS DE INHIBICIÓN	DESVIACIÓN ESTANDAR	SIG (P)**
DMSO	6mm	± 0.00	
Norfloxacino 10 ug	36.3 mm	± 1.24	0.000
A.E. <i>Minthostachys mollis</i> 25%	29.45mm	± 3.38	
A.E. <i>Minthostachys mollis</i> 50%	32.35mm	± 1.93	

****P (<0.05); PRUEBA ANOVA.**

A.E: Aceite Esencial

DMSO: Dimetilsulfóxido

TABLA 2. Comparación del efecto antibacteriano in vitro de dos concentraciones del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (25% y 50%) y norfloxacino en cultivo de *Escherichia coli*.

GRUPOS COMPARADOS	SIGNIFICANCIA (p) *
A.E <i>Minthostachys mollis</i> al 25% vs Norfloxacino (10 Ug)	0.040
A.E <i>Minthostachys mollis</i> al 50 % vs Norfloxacino (10 Ug)	0.011
A.E <i>Minthostachys mollis</i> al 25% vs A.E <i>Minthostachys mollis</i> al 50 %	0.135

***P (<0.05); PRUEBA T-STUDENT.**

A.E: Aceite Esencial

5.2. Análisis de resultados

Teniendo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Escherichia coli* comparado con norfloxacino. Se obtuvo como resultado que el efecto antibacteriano del aceite esencial *Minthostachys mollis* es menor que el norfloxacino, pero sí tiene efecto frente a la bacteria estudiada.

Aunque no se encontraron muchos estudios previos que determinen el efecto antibacteriano del aceite de *Minthostachys mollis* frente a *Escherichia coli*, sí se obtuvieron referencias a nivel internacional y nacional que muestran efecto antibacteriano por parte del aceite esencial de la planta frente a *Escherichia coli*. Estas investigaciones coinciden con los resultados obtenidos, por ejemplo, Bejarano Meléndez ⁽¹⁹⁾. Demuestra en su estudio que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* inhibe el crecimiento de cepas *Escherichia coli* ATCC 25922.

Un aporte importante fueron los resultados del estudio de Torrenegra M, quien demostró que el aceite de *Minthostachys mollis* tuvo efecto antibacteriano importante frente a *Escherichia coli* y otras bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, a una concentración inhibitoria mínima de 500 ug/ml y 600 ug/ml respectivamente. Concluyendo que el efecto antibacteriano de la planta se debía a su gran contenido de monoterpenos oxigenados con reconocida actividad antibacteriana, como son el carvacrol y el timol ^(13,33).

Para Aigaje A ⁽¹²⁾. Demuestra que al evaluar la actividad antimicrobiana que poseen los aceites esenciales en un su estudio observó un alto efecto antibacteriano frente a cepa *Porphyromonas gingivales* donde se obtuvo mayor eficacia con la concentración al 25 y 100%. concordando con esta investigación ya que los halos de inhibición

presentaron los siguientes promedios: 29.45 mm y 32.35mm correspondientes a las concentraciones 25%, 50% del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) en *Escherichia coli* comparado con norfloxacino.

En la tabla 01, se observa que la prueba ANOVA para comparar los grupos indican un nivel de significancia de 0.000 es decir el Valor P es menor que el alfa (0.000) es decir existe diferencia estadística altamente significativa en los resultados obtenidos entre los grupos de experimentación. se acepta la hipótesis afirmativa de la investigación. Que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* si tiene efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli*.

En la tabla 02, se muestra la comparación con la prueba T – Student; a las 24 horas donde el valor de la significancia es de (0.011) por lo que lo que significa que los valores obtenidos entre el grupo experimental 02 *Minthostachys mollis* (muña) al 50 % muestran una diferencia significativa no muy lejana en comparación con el estándar (norfloxacino). Para los valores obtenidos en el grupo experimental 01 *Minthostachys mollis* (muña) al 25 % con un valor de significancia es de (0.040) muestran una diferencia estadísticamente significativa en comparación con el estándar (norfloxacino).

La comparación de los 2 grupos de estudio con la prueba T – Student; a las 24 horas donde el valor de la significancia es de (0.135) por lo que lo que significa que los valores obtenidos entre el grupo experimental 01 *Minthostachys mollis* (muña) al 25 % no muestran una diferencia estadísticamente significativa en comparación con experimental 02 *Minthostachys mollis* (muña) al 50 %.

Finalmente, los resultados obtenidos en este estudio demuestran que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* inhibe el crecimiento de cepas *Escherichia coli* esta actividad antimicrobiana, de la *Minthostachys mollis* (muña) son propiedades apreciables debido a que los aceites esenciales pueden actuar como desacopladores, los cuales interfieren en la translocación de los protones sobre la membrana y consecuentemente interrumpir la fosforilación del ADP. Los compuestos terpenoides pueden servir como un ejemplo de agentes liposolubles las cuales afectan la actividad enzimática catalizadoras a nivel de la membrana ^(12,33).

El carvacol es uno de los componentes más importantes de esta actividad más notables, pues basa su mecanismo en desintegrar los precursores grasos, enlenteciendo el intercambio de sustancias a través de la membrana. Este compuesto acaba las reservas ATP bacterianas ocasionando un pésimo metabolismo. Otro componente, el cinaldehído, inhibe enzimas como carboxilasa y proteasas al bloquear la vía respiratoria de las bacterias impidiendo el tránsito normal del potasio y modificando el pH. Carvacrol es capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias gram negativas De esta manera se sigue evidenciando sosteniendo que el aceite esencia de *Minthostachys mollis* son una buena fuente natural y disponible que posibilitara desarrollar diferentes formas farmacéuticas con actividad farmacológico ^(19,33).

VI. CONCLUSIONES.

- El aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) a concentraciones de 25 % y 50 %, tiene efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacino.
- El aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) al 50 % presentó mayor efecto antibacteriano, comparado con el aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) al 25 % frente a *Escherichia coli*.
- El control farmacológico norfloxacino 10 ug, fue quien presentó mayor efecto antibacteriano comparado con las concentraciones 25% y 50% del aceite esencial de hojas *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Escherichia coli*.

6.1. RECOMENDACIONES.

- Continuar en futuras investigaciones con el estudio de la planta *Minthostachys mollis* ya que demostró tener actividad antibacteriana.
- Realizar estudios de composición química del aceite esencial de aceite de *Minthostachys mollis* de diferentes regiones del Perú para determinar el componente que produzca efecto antibacteriano en cepas puras de *Escherichia coli*.
- Utilizar este recurso fitoquímico como producto complementario a los tratamientos antibacterianos de enfermedades originadas por *Escherichia coli*

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Pozo G. Uso de las plantas medicinales en la comunidad del Cantón Yacuambi durante el periodo Julio - diciembre 2011 [Internet]. Loja: Universidad Técnica Particular de Loja, Facultad de Ciencias Biológicas; 2014. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6523/3/Pozo_Esparza_Gladys_Maria.pdf
2. Solís P, Tapia L. Prácticas relacionadas con el uso de plantas medicinales en el trabajo de parto y puerperio puesto de salud Miramar región la libertad abril 2015 [Internet]. Trujillo: Universidad Privada Antenor Orrego, Facultad Ciencias de la Salud; 2015. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/1121/1/SOLIS_PAOLA_PLANTAS_MEDICINALES_PARTO.pdf
3. Tello G. “Etnobotánica de plantas con uso medicinal en la comunidad de Quero, Jauja, Región Junín” [Internet]. Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina, Facultad Ciencias - Biológicas; 2015. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1886/F70.T64T.pdf?sequence=1>
4. Mejía K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonia Peruana [Internet]. Lima: Uldemolins Editores; 2000. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>

5. Benjamín G. Infecciones emergentes y re-emergentes en el Perú [Internet]. trabajo de incorporación a la academia nacional de medicina como académico de número 11 -abril - 2002. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: http://www.Acadnacmedicina.org.pe/publicaciones/anal_2000/XI_INFECCIONESEMERGENTESY REEMERGENTESENELPERU.pdf
6. Hernández C, Aguilera M, Castro G. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México [Internet]. MICROBIO. Enero 2011. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2011/ei114f.pdf>
7. Mosquito S, Ruiz J, Bauer J, Ochoa T. mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea [Internet]. Rev Peru Med Exp Salud Pública. Noviembre 2011; 28(4):648-56. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v28n4/a13v28n4.pdf>
8. Bueno G. Factores asociados a la infección por *Escherichia coli* y *Klebsiella sp* productoras de betalactamasas de espectro extendido en pacientes hospitalizados del Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión - Callao: setiembre 2008-diciembre 2009 [Internet]. Lima: universidad nacional mayor de san marcos, facultad de medicina humana; 2010. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3281/1/Bueno_bg.pdf
9. Farinas M, Martínez L. Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores [Internet]. ELSEVIER DOYMA. Mayo 2013; 31(6):402–409. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en:

https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/eimc/seimc_eimc_v31n06p402a409.pdf

10. EMPRES Boletín de enfermedades transfronterizas de los animales [Internet]. [consultado 05 julio de 2017]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i2530s/i2530s03.pdf>
11. Morejón M. *Escherichia coli* multirresistentes [Internet]. Revista Cubana de Urología. 2013, [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: <http://www.Medigrafic.com/pdfs/revcuburo/rcu-013/rcu131b.pdf>
12. Aigaje A, Zurita M. Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis* [Internet]. Revista científica dominio de las ciencias. Enero 2017. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: <file:///C:/Users/HOLA/Downloads/DialnetEfectividadAntimicrobianaDelAceiteEsencialDeMintho-5802909.pdf>
13. Torrenegra M, Granados C, Durán M, León G y Col. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis* [Internet]. Mayo 23 de 2016. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v20n1/v20n1a08.pdf>
14. Huari G. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans* [Internet]. Lima: Universidad Nacional Mayor de

- San Marcos, Facultad de Odontología; 2014. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: http://200.62.146.130/bitstream/cybertesis/3680/1/Huari_gg.pdf
15. Quichca J. Grado de eficacia del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*. estudio comparativo in vitro. lima 2016. [Internet]. Universidad privada NORBERT WIENER. [Consultado 24 febrero 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1203/TITULO%20%20Quichca%20Mendoza%2C%20Juan%20Carlos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Abanto Machuca M, Pérez Marchena R. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis*, Griseb “muña” en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Cajamarca 2017. [Internet]. Universidad privada Antonio Guillermo Urrelo. Tesis optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico. [Consultado 17 febrero 2019]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/352/FYB0082016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
17. González J, Asmat A, Saavedra C. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Streptococcus mutans* [Internet]. Boletín de investigación UPAO. [consultado 05 julio 2017]. Disponible en: <http://www.upao.edu.pe/investigacionupao/?a=iniver9889>
18. Alaba W, Jiménez C. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC

- 29212 [Internet]. Rev. Simiykita. Enero-junio 2015.1 (1):15-22. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: file:///C:/Users/HOLA/Downloads/47116631PB%20(1).pdf
19. Bejarano Meléndez J. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con furazolidona. [Internet]. Tesis para obtener el título profesional de médico cirujano, Trujillo-Perú 2018 [Consultado 17 enero 2019]. Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/25385/bejarano_mj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
20. Cañigueral S, Dellacassa E. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de dependencia o Factores de Desarrollo? [Internet]. Revista ResearchGate. Enero 2003, [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Salvador_Canigueral/publication/233967128_Plantas_Medicinales_y_FitoterapiaIndicadores_de_Dependencia_o_Factores_de_Desarrollo/links/02bfe50d791c40f415000000.pdf
21. Muñoz F. Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado. [En línea]. Barcelona: Mundi-Prensa Libros, 1996. [Consultado 05 de julio 2017]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=WmX5TibuSrIC&printsec=frontcover&h=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

22. Stashenko E. Aceites esenciales. [Internet]. Santander: Universidad Industrial de Santander, CENIVAM. Primera edición. El año del 2009. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: <http://cenivam.uis.edu.co/cenivam/documentos/libros/1.pdf>
23. Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales extraídos de Plantas Medicinales y Aromáticas [Internet]. Servicio Nacional de Aprendizaje SENA [consultado 09 julio 2017]. Disponible en: http://repositorio.sena.edu.co/bitstream/11404/1144/1/ACEITES_ESENCIALES_EXTRAIDOS_DE_PLANTAS_MEDICINALES_Y_AROMATICAS.pdf
24. Jorge E, Vidal G. *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC): Una causa frecuente de diarrea infantil [Internet]. Salud en Tabasco, vol. 9, núm. abril 2003. [Consultado 05 julio 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/487/48709108.pdf>
25. Faleiro P. Formación de biopelículas por “*Escherichia coli*” y su correlación con factores de virulencia: prevención y actividad de antimicrobianos frente a organismos planctónicos y asociados a biopelículas [Internet]. Madrid: universidad complutense de Madrid, Facultad de Farmacia; 2010. [Consultado 09 julio 2017]. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/9780/1/T31422.pdf>
26. Chaves E, Martínez L, Cedillo M, Gil C y Col. Identificación de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas en diferentes ambientales [Internet]. Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología, vol. 27, núm. 3, julio-septiembre 2007.

[Consultado 09 julio 2017]. Disponible en: [http://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2007/ei073b .pdf](http://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2007/ei073b.pdf)

27. Ignacio J. Epidemiología y etiología de la infección urinaria comunitaria en adultos. sensibilidad antimicrobiana de los principales Uropatógenos y significado clínico de la resistencia [Internet]. artículos ALOS JI. 2005 23(4) 3-8. [Consultado 09 julio 2017]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscien-tificos/ otrosdeinteres/seimc-dc2013-LibroInfecciondeltractoUrinario.pdf>
28. Brooks G, Butel J, Morse S, Microbiología médica De Jawets, Melnick y Adelberg. 18a ed. Editorial el manual moderno: México. 2005.
29. Guiza D, Rincón L. Estudio del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* combinado con inactivación térmica, sobre cepas de *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus* [Internet]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. 2007. [Consultado 09 julio 2017]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis101.pdf>
30. Maguna F, Romero AM, Garro OA, Okulik N. Actividad Antimicrobiana de un grupo de terpenoides [Internet]. Universidad Nacional del NORDESTE, Facultad de Agroindustria; 2006. [Consultado 09 julio 2017]. Disponible en: <http://200.45.54.140/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-057.pdf>

31. Ministerio de Salud del Perú. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. Instituto Nacional de Salud. Lima - 2002. [Consultado 09 julio 2017]. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>

32. Comité institucional de ética para la investigación, versión 001, aprobado por el consejo universitario con resolución N° 0108-2016-CU-ULADECH católica. Chiclaya, Perú 2016. [Citado 20 de enero 2019]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-deetica-para-la-investigacion-v001.pdf>

33. Garcia P. Mecanismo de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismo de interés en alimentos. [Internet]. Universidad las Américas Mexico 2008. [Consultado 26 febrero 2019]. Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2\(2\) -Garc%C3%ADa-Garcia-et-al-2008a.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2(2) -Garc%C3%ADa-Garcia-et-al-2008a.pdf)

ANEXOS.

TABLA 03: Determinación de la significancia utilizando PRUEBA T – STUDENT de muestras independientes entre los grupos estándar y experimental 01 a las 24 horas

	T- STUDENT	Gl	Sig. (bilateral)
H24	3.924	8	0.040

FUENTE: SOFTWARE ESTADÍSTICO IBM SPSS 20.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

TABLA 04: Determinación de la significancia utilizando PRUEBA T – STUDENT de muestras entre los grupos estándar y experimental 02 a las 24 horas

	T- STUDEN T	gl	Sig. (bilateral)
H24	3.305	8	0.011

FUENTE: SOFTWARE ESTADÍSTICO IBM SPSS 20.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN.

TABLA 05: Determinación de la significancia utilizando PRUEBA T – STUDENT de muestras independientes entre los grupos experimental 01 y experimental 02 a las 24 horas

	T- STUDE NT	GI	Sig. (bilateral)
H24	1.664	8	0.135

FUENTE: SOFTWARE ESTADÍSTICO IBM SPSS 20.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

TABLA 06: Prueba ANOVA para encontrar la significancia de los grupos de estudio.

H24	F	Sig.
Inter-grupos	214..076	0.000
Intra-grupos		

FUENTE: SOFTWARE ESTADÍSTICO IBM SPSS 20.0 SOBRE LOS DATOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

CUADRO 01: Grupo control (negativo) del efecto antibacteriano in vitro de hojas *Minthostachys mollis* (muña) en *E coli*. comparado con norfloxacino.

Grupo control Negativo DIMETIL SULFXIDO (DMSO)						
Dimetil Sulfoxido	Disco 1	Disco 2	Disco 3	Disco 4	Media	Desviación Estándar
Placa 01	6	6	6	6	6	0
Placa 02	6	6	6	6	6	0
Placa 03	6	6	6	6	6	0
Placa 04	6	6	6	6	6	0
Placa 05	6	6	6	6	6	0

FUENTE: DATOS OBTENIDOS POR LA INVESTIGADORA

En el grupo control negativo los halos de inhibición corresponden al tamaño del disco (6mm) es decir el solvente de dilución del aceite esencial (DMSO), la bacteria tuvo un crecimiento normal, no presenta efecto antibacteriano frente a la cepa de *Escherichia coli* utilizada en la presente investigación.

CUADRO 02: Grupo farmacológico (norfloxacino) del efecto antibacteriano in vitro de hojas *Minthostachys mollis* (muña) en *E coli*. comparado con norfloxacino.

Grupo Farmacológico (NORFLOXACINO)					
NORFLOXACINO	Disco 1	Disco 2	Disco 3	Media	Desviación Estándar
Placa 01	33	37	34	34.67	2.08
Placa 02	36	36	36	36	0
Placa 03	34	41	38	37.67	3.51
Placa 04	37	34	32	34.33	2.52
Placa 05	39	37	34	36.67	2.52

FUENTE: DATOS OBTENIDOS POR LA INVESTIGADORA

En el estándar farmacológico se muestran un promedio entre 34 y 37 mm en el halo de inhibición (Sensidiscos de Norfloxacino 10mg/disco) que según el reporte del Instituto Nacional de Salud (INS) para ser considerado sensible el cultivo debe tener un rango de inhibición de 28 – 35 mm que en este caso se encuentra dentro de dicho rango ⁽³³⁾

CUADRO 03: Grupo experimental 01 *Minthostachys mollis* (muña) al 25 % del efecto antibacteriano in vitro de hojas *Minthostachys mollis* (muña) en *E. coli* comparado con norfloxacino.

Control experimental 01 <i>Minthostachys mollis</i> (muña) 25 %						
Experimental 1 (muña) 50						Desviación
%	Disco 1	D. 2	Disco 3	Disco 4	Media	Estándar
Placa 01	21	27	21	26	23.75	3.43
Placa 02	30	30	28	28	29	1.41
Placa 03	32	32	31	31	31.5	0.80
Placa 04	32	32	30	30	31	0.93
Placa 05	32	32	32	32	32	0

FUENTE: DATOS OBTENIDOS POR LA INVESTIGADORA

CUADRO 04: Grupo experimental 02 *Minthostachys mollis* (muña) al 50 % del efecto antibacteriano in vitro de hojas *Minthostachys mollis* (muña) en *E. coli* comparado con norfloxacino.

Control experimental 02 <i>Minthostachys Mollis</i> (Muña) 50 %							Desviación
Experimental 02 (Muña) 50 %	Disco 1	Disco 2	Disco 3	Disco 4	Media	Estándar	
Placa 01	32	32	32	32	32	0	
Placa 02	33	33	30	30	31.5	1.73	
Placa 3	33	33	33	20	29.75	6.5	
Placa 04	35	35	34	32	34	1.4	
Placa 05	34	34	35	35	34.5	0.57	

FUENTE: DATOS OBTENIDOS POR LA INVESTIGADORA

En el caso de los halos de inhibición reportados para los grupos experimentales experimental 01 *Minthostachys mollis* (muña) AL 25 % y experimental 02 *Minthostachys mollis* (muña) AL 50 % los promedios de halos de inhibición se encuentran entre 24-32 mm y 30-34mm respectivamente valores que se encuentran dentro del rango establecido como sensible en comparación con Norfloxacino según el INS ⁽³³⁾ para esta cepa.

CUADRO 05: Resumen de los promedios de los grupos que forman la investigación del efecto antibacteriano in vitro de hojas *Minthostachys mollis* (muña) en *E. coli*. comparado con norfloxacino.

RESUMEN DE LOS PROMEDIOS DE LAS PLACAS						
Promedio Total	Promedio Placa 1(mm)	Promedio Placa 2(mm)	Promedio Placa 3(mm)	Promedio Placa 4(mm)	Promedio Placa 5(mm)	Media
Negativo	6	6	6	6	6	6
Farmacológico	36.67	36	37.67	34.33	36.67	36.3
Control experimental 1	23.75	29	31.5	31	32	29.45
Control experimental 2	32	31.5	29.75	34	34.5	32.35

FUENTE: DATOS OBTENIDOS POR LA INVESTIGADORA

En el caso de los halos de inhibición reportados en la Tabla de resumen los promedios de halos de inhibición por grupos experimentales siendo el de mayor tamaño el correspondiente al estándar farmacológico seguido por el Experimental 02 *Minthostachys mollis* (muña) al 50 % los promedios de halos de inhibición se encuentran dentro del rango establecido como sensible en comparación con Norfloxacino según el INS para *E. coli*

Imagen 01: límites de los diámetros de los halos de inhibición para el control de calidad de INS.

Tabla 13. Límites aceptables (mm) de los Diámetros de los Halos de Inhibición – Límites de Control en Pruebas de Disco Difusión

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC 5218	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 25212
Amikacina	30 mg	19-26	20-26	18-26	-	-
Amoxicilina/Ácido clavulánico	20/10 mg	19-25	28-36	-	18-22	-
Ampicilina	10 mg	16-22	27-35	-	-	-
Ampicilina/sulbactam	10/10 mg	20-24	29-37	-	13-19	-
Azitromicina	15 mg	-	21-26	-	-	-
Aztreonam	30 mg	28-36	-	23-29	-	-
Cefaclor	30 mg	23-27	27-31	-	-	-
Cefalotina	30 mg	15-21	29-37	-	-	-
Cefazolina	30 mg	23-29	29-35	-	-	-
Cefepime	30 mg	29-35	23-29	24-30	-	-
Ceftidina	5 mg	23-27	-	-	-	-
Cefoperazona	75 mg	28-34	24-33	23-29	-	-
Cefotaxima	30 mg	29-35	25-31	18-22	-	-
Cefoxitina	30 mg	23-29	23-29	-	-	-
Ceftazidima	30 mg	25-32	16-20	22-29	-	-
Ceftriaxona	30 mg	29-35	22-28	17-23	-	-
Cefuroxima	30 mg	20-26	27-35	-	-	-
Cloranfenicol	30 mg	21-27	19-26	-	-	-
Ciprofloxacina	5 mg	30-40	22-30	25-33	-	-
Citidamicina	2 mg	-	24-30	-	-	-
Doxiciclina	30 mg	18-24	23-29	-	-	-
Eritromicina	15 mg	-	22-30	-	-	-
Espartoxacina	5 mg	30-38	27-33	21-29	-	-
Estreptomina	10 mg	12-20	14-22	-	-	-
Estreptomina	300 mg	-	-	-	-	14-19
Gentamicina Q	10 mg	19-26	19-27	16-21	-	-
Gentamicina	120 mg	-	-	-	-	16-22
Imipenem	10 mg	26-32	-	20-28	-	-
Kanamicina	30 mg	17-25	19-26	-	-	-
Levofloxacina	5 mg	29-37	25-30	19-26	-	-
Meropenem	10 mg	28-34	29-37	27-33	-	-
Ácido Nalidixico	30 mg	22-28	-	-	-	-
Nitrofurantoina	300 mg	20-25	18-22	-	-	-
Norfloxacina	10 mg	28-35	17-28	22-29	-	-
Ofloxacina	5 mg	29-33	24-28	17-21	-	-
Oxacilina	1 mg	-	18-24	-	-	-
Penicilina	10 unidades	-	26-37	-	-	-
Rifampicina	5 mg	8-10	26-34	-	-	-
Estreptomina Q	10 mg	12-20	14-22	-	-	-
Telcoplanina	30 mg	-	15-21	-	-	-
Tetraciclina	30 mg	18-25	24-30	-	-	-
Trimetoprim/Sulfametoxazol	1.25/23.75 mg	24-32	24-32	-	-	-
Vancomicina	30 mg	-	17-21	-	-	-

Imagen 02: Certificación de la planta *Minthostachys mollis* (muña), en el herbarium truxillense (HUT)



Procedimientos de la extracción del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muña), y cultivo de *Escherichia coli*.



Imagen 03: Recolección de la muestra vegetal muña, provincia de Gran CHimu en el distrito de Cascas sayapullo, cruz pampa



Imagen 04: Selección de las hojas en buen estado, para luego ser lavadas y secadas



Imagen 05: Extracción del aceite esencial en el equipo de clevenger



Imagen 06: el aceite esencial se depositó en frasco ámbar y se cerró herméticamente luego se almaceno en refrigeración para su uso.



Imagen 07: Materiales e instrumentos de laboratorio



Imagen 08: Cepa *E. Coli* comparado con la escala de Mac Farland 0.5



Imagen 09: Preparación de agar Mueller Hinton



Imagen 10: Agregado de agar Mueller Hinton 20 ml a cada placa para el sembrado de *E. Coli*

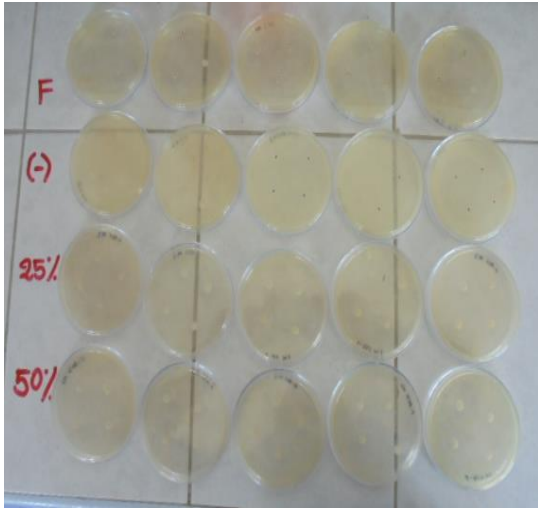


Imagen 11: las 20 placas divididos en 4 grupos listos para llevar a la incubadora a 37 °



Imagen 12: las 20 placas fueron llevadas a la incubadora a 37 ° por 24 horas



Imagen 13: Retiro de las placas de la incubadora después de las 24 horas



Imagen 14: Halos de inhibición de los grupos



Imagen 14: Lectura de los halos inhibición con el vernier