



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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE *Mentha spicata* L. “HIERBA BUENA” Y  
*Piper aduncum* L. “MATICO” EN CEPAS CLÍNICAS DE  
*Staphylococcus aureus***

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

**AUTORES:**

BACH. NEPO CABREJOS, SOLEDAD VERONICA  
BACH. VASQUEZ ROJAS, ANA NEIDA

**ASESOR:**

MG. FLORES LÓPEZ, OSCAR BERNUY

**LIMA-PERÚ**

**2021**

## **Dedicatorias**

A Dios, por darme la fuerza, su amor infinito y bondad para sostenerme cada día en cada paso que doy y permitirme tener una nueva esperanza todos los días.

A mi familia, por todo lo que me brindan cada día, por ser el motivo que me impulsan a seguir desarrollándome profesionalmente, a todas aquellas personas que en alguna manera me alientan e hicieron posible con su apoyo poder realizar esta investigación, infinitas gracias a todos.

**Soledad Veronica Nepo Cabrejos.**

Primeramente, a Dios por guiarme en el camino y permitirme terminado mi carrera satisfactoriamente.

A mis padres Jorge y Octavila por ser siempre mi apoyo y mi guía para lograr mis metas, mis hermanos por darme fortaleza para seguir adelante.

**Ana Neida Vásquez rojas**

## **AGRADECIMIENTO**

Expresamos nuestro sincero agradecimiento muy especial:

A Dios Padre Celestial sobre todas las cosas.

A nuestros padres por ser los principales promotores de nuestros sueños, por su confianza y apoyo incondicional, gracias por cada consejo y enseñanza que sirvieron de guía en nuestra vida universitaria.

A la Universidad María Auxiliadora por permitirnos ser parte de ella y abrirnos sus puertas para lograr el objetivo que nos trazamos al inicio de nuestra vida universitaria.

A todos los profesores de la Universidad Alas Peruanas por ser parte de nuestra formación profesional.

Al Microbiólogo Clínico Juan Valle Oquendo por brindarnos sus conocimientos científicos y experiencia para guiarme durante el desarrollo de la tesis y al Mg. Flores López, Oscar Bernuy y al Qf. Miguel Ángel Inocente Camones por el apoyo y guía en la culminación de este trabajo de investigación.

Nuestros más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que colaboraron desinteresadamente de una u otra manera al desarrollo y término de esta tesis.

## Índice General

<b>Resumen</b> .....	8
<b>Abstract</b> .....	9
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	10
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	14
2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	14
2.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO. ....	14
2.3. VARIABLES DE INVESTIGACIÓN. ....	15
2.4. TÉCNICA E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS (VALIDACIÓN DE LOS INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS).....	15
2.5. PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	16
2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	19
2.7. ASPECTOS ÉTICOS.....	19
<b>III. RESULTADOS</b> .....	21
<b>IV. DISCUSIÓN</b> .....	29
4.1. Discusión de resultados.....	29
4.2. Conclusiones.....	31
4.3. Recomendaciones.....	32
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	33
<b>ANEXOS</b> .....	38

## Índice de Tablas

Tabla N°01. Aplicación del método ANOVA para las hipótesis planteadas.....	25
Tabla N°02. Aplicación del método t-student para las hipótesis específicas.....	26
Tabla N°03. Prueba de muestras independientes _prueba t para la igualdad de medias.....	28

## Índice de Figuras

Figura N° 021 Demostración en gráficos de la actividad antibacteriana de la hierba buena y matico en cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	21
Figura N° 022 Promedio de Halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de <i>Mentha spicata</i> en cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	22
Figura N° 023 Promedios de los halos de inhibición del <i>Piper aduncum L</i> en cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	23
Figura N° 04 Comparación de la “hierba buena” y “matico” en relación al efecto antibacteriano de las cepas clínicas de <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	24
Figura N° 05. Recolección de las muestras botánicas .....	46
Figura N° 06. Preparación del extracto hidroalcohólico (maceración).....	47
Obtención de las diferentes concentraciones de <i>Mentha spicata L.</i> (hierba buena) y <i>Piper aduncum L.</i> (matico) .....	48
Figura N° 07. Preparación del medio de cultivo .....	48
Figura N° 08. Preparación de las de las placas Petri .....	49
Figura N° 09. Crecimiento de colonias aisladas de <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	49
Figura N° 10. Colocación de extractos en discos sobre la siembra en placas con cepas de <i>S. aureus</i> .....	50
Figura N° 11. Lectura de resultados en 24 horas de incubación de <i>Staphylococcus aureus</i> con discos de <i>Mentha spicata L</i> .....	50

## Índice de Anexos

Anexo A. Operacionalización de Variables .....	39
Anexo B. Ficha de recolección de datos .....	40
Anexo C. Certificación Taxonómica .....	41
Anexo D. Constancia de participación en el proceso de evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Mentha spicata</i> L. (hierba buena) y <i>Piper aduncum</i> L. (matico) .....	42

## RESUMEN

**Objetivo:** Demostrar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L, “hierba buena” y *Piper aduncum* L “matico” en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

**Material y método:** Se utilizó el método de maceración, se evaluó la determinación de la actividad antibacteriana mediante el método de difusión en agar con discos impregnados con los extractos a concentraciones de 100, 75 y 50% sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, se realizaron 10 repeticiones para cada extracto y se empleó vancomicina como control positivo, las lecturas se realizaron 24 horas después de la incubación de las muestras.

**Resultados:** Los resultados obtenidos indicaron que las hojas de *Mentha spicata* L, "buena hierba" y *Piper aduncum* L "matico" ejercen un efecto inhibitor sobre las cepas de estudio. El extracto hidroalcohólico de hierba buena presentó un halo de inhibición del 100% de 17,2 mm, al 75% un halo de 29,9 mm y al 50% un halo de 41,42 mm. El extracto hidroalcohólico del matico presentó un halo de inhibición del 100% de 27,3 mm, al 75% un halo de 39,59 mm y al 50% un halo de 45,54 mm sobre la cepa clínica en estudio, observándose que los extractos hidroalcohólicos al 50% de ambas especies vegetales muestran un mayor halo de inhibición.

**Conclusión:** Se concluye que ambas especies vegetales tienen efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, presentando mayor efecto *Piper aduncum* L “matico” que la *Mentha spicata* L, “hierba buena”

**Palabras claves:** *Mentha spicata*, *Piper aduncum*, actividad antibacteriana, *Staphylococcus aureus*, vancomicina.

## ABSTRACT

**Objective:** To demonstrate the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of *Mentha spicata* L, "good grass" and *Piper aduncum* L "matico" in clinical strains of *Staphylococcus aureus*.

**Material and method:** The maceration method was used, the determination of antibacterial activity was evaluated by means of the agar diffusion method with discs impregnated with the extracts at concentrations of 100, 75 and 50% on *Staphylococcus aureus* strains, 10 repetitions were made for each extract and vancomycin was used as a positive control, the readings were made 24 hours after the incubation of the samples.

**Results:** The results obtained indicated that the leaves of *Mentha spicata* L, "good grass" and *Piper aduncum* L "matico" exert an inhibitory effect on the study strains. The hydroalcoholic extract of good grass presented a 100% inhibition halo of 17.2mm, at 75% a halo of 29.9mm and at 50% a halo of 41.42mm. The hydroalcoholic extract of the matico presented a 100% inhibition halo of 27.3mm, at 75% a halo of 39.59 mm and at 50% a halo of 45.54 mm on the clinical strain under study, observing that the hydroalcoholic extracts at 50% of both plant species show a greater inhibition halo.

**Conclusion:** It is concluded that both plant species have antibacterial effect on *Staphylococcus aureus*, with *Piper aduncum* L "matico" having a greater effect than *Mentha spicata* L, "good grass" in relation to inhibition halos.

**Key words:** *Mentha spicata*, *Piper aduncum*, antibacterial activity, *Staphylococcus aureus*, vancomycin.

## I. INTRODUCCIÓN.

En los últimos años la frecuencia de las infecciones por *Staphylococcus aureus* en pacientes hospitalizados se ha visto incrementado, siendo una de las causantes de mortalidad a nivel mundial. *S. aureus* una bacteria oportunista gram positiva, que se encuentra principalmente en la piel, fosas nasales y otras mucosas del hombre.

Se han realizado estudios en nuestro país que revelan constantes infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*. En los hospitales de alta complejidad la resistencia de esta bacteria es alta. Asimismo, se identifican diferentes factores de riesgo entre los cuales tenemos, la estadía duradera en un hospital y el empleo permanente de antibióticos.

Al aumentar la resistencia bacteriana los tratamientos serán más costosos, por la cual es imprescindible ver un tratamiento alternativo, como lo es el uso de plantas medicinales. Una de las vías de fácil acceso para el tratamiento de *Staphylococcus aureus* es el uso de especies medicinales tales como la hierba buena (*Mentha spicata* L.) y el matico (*Piper aduncum* L.), conocidas por sus propiedades farmacológicas, su bajo costo y sobre todo al alcance de la población.

*Staphylococcus aureus* presenta una variabilidad en la epidemiología en todo el mundo y efecto en la morbimortalidad tanto intrahospitalario como en la comunidad. Este microorganismo se encuentra diseminado en el ambiente ya que posee características particulares de virulencia y resistencia contra antibióticos lo cual significa un problema importante de salud, siendo las infecciones cutáneas las más expuestas lo cual representan una mayor preocupación de salud<sup>(1)</sup>.

A nivel mundial el 50% de los habitantes son portadores de *Staphylococcus aureus* en fosas nasales y en un 30% en piel y el tracto gastrointestinal. Por ello, al romper los mecanismos de defensas, el organismo queda expuesto a bacterias, hongos, parásitos, virus, entre otros<sup>(2)</sup>.

Los infectados por *Staphylococcus aureus* se contagian por la cepa que se desarrolla en sus fosas nasales, las cepas pueden proporcionar el contagio entre

los pacientes del hospital con los de la comunidad. También es la encargada de ocasionar intoxicaciones por la ingesta de toxinas en los alimentos.

Los microorganismos logran ingresar por contacto y manipulación de los alimentos en heridas infectadas de personas portadoras asintomáticas. Recientemente, las afecciones causadas por alimentos es la segunda causa en países como España, Chile y Colombia<sup>(3)</sup>.

La primera cepa de *Staphylococcus aureus* resistente a la vancomicina, se descubrió en el hospital de clínicas de la Universidad de Sao Paulo (Brasil) notificándose a la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y a la Organización Mundial de la Salud (OMS) como el primer caso en América Latina<sup>(4)</sup>.

En un estudio realizado en el Hospital Provincial Docente Belén de Lambayeque, se encontró que los trabajadores de dicho nosocomio eran portadores nasofaríngeos de *Staphylococcus aureus*. Del total de muestras tomadas en dicho hospital el 20% de cultivos fueron positivos para *Staphylococcus aureus*<sup>(5)</sup>.

Esta investigación tiene como propósito de estudio, facilitar un tratamiento para las enfermedades causadas por este microorganismo. Hoy en día las terapias naturales y alternativas forman parte de los tratamientos de diferentes enfermedades.

Entre las cuales una de las plantas más empleadas es el matico, ya que entre sus componentes tiene varios tipos de compuestos, tales como los alcaloides; que favorecen la cicatrización de todo tipo de heridas ya sea superficiales o internas.

Por otro lado, la hierba buena posee diversos componentes como: minerales, flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, etc. Con propiedades antibacterianas, insecticidas, cicatrizantes y además un producto refrescante tópico.

En base a lo expuesto anteriormente, se consigue como pregunta de investigación lo siguiente:

- ¿Cuál es la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de *Mentha spicata* L. “hierba buena” y *Piper aduncum* L. “matico” en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*?

Siendo las preguntas específicas las siguientes:

- ¿Qué actividad antibacteriana tiene el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L “hierba buena”, en concentración al 50%,70%,100% en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*?
- ¿Qué actividad antibacteriana tiene el extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico”, en concentraciones al 50%,70%,100% en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*?
- ¿Cuál será la concentración del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L. “hierba buena” y *Piper aduncum* L “matico”, en relación a la actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*?

Los extractos son productos vegetales elaborados a base de disolventes vaporizables como son: éter ,agua o alcohol, que utilizados en conjunto, tienen por finalidad, obtener una consistencia fluida ,blanda o seca<sup>(6)</sup>. El método de extracción que utilizaremos será la maceración que consiste en usar un disolvente que cubra la muestra, este método tiene como ventaja que las propiedades de la planta se mantengan intactas.

*Piper aduncum* o comúnmente “matico” es una especie vegetal que pertenece al género *Piper* (Piperaceae) posee aproximadamente 2000 especies, de las cuales solo 500 se reportan en nuestro país<sup>(7)</sup>. Sus hojas presentan compuestos como: taninos, alcaloides, saponinas, flavonoides, fenoles entre otros<sup>(8)</sup>.

A esta especie se le atribuyen múltiples propiedades, tales como: cicatrizantes, ayuda al malestar digestivo, úlceras estomacales, diarrea, colitis, infecciones hepáticas y de la vesícula; heridas internas y golpes. Externamente es usado en lavados de heridas y lavados vaginales<sup>(9)</sup>.

*Mentha spicata* o “hierbabuena” conocida por sus propiedades medicinales: antiespasmódicas, antisépticas, analgésicas, antiinflamatorias y estimulantes. Por otro lado, la hierbabuena es el resultado de la unión de dos especies de menta, la menta negra y la menta blanca<sup>(10)(11)</sup>.

*Staphylococcus* es un género de bacterias anaerobias Gram-positivas en forma de racimos de uva, que mide alrededor de 0.5 y 1.5 micras<sup>(4)</sup>. Es una bacteria muy

resistente que podemos encontrarla en el agua, aire, residuos , superficies de las industrias alimentarias , máquinas, siendo su principal reservorio los animales y humanos<sup>(12)</sup>.

Las zonas que más se colonizan son: las lesiones cutáneas, el tracto respiratorio y el tracto urinario. Las heridas quirúrgicas en un 10- 28%, bacteremia 10-21%, y en la neumonía una de las infecciones más comunes sobre todo en los pacientes ventilados, encontrándose en un 15-40%. Por otro lado, las infecciones de partes blandas, urinarias, intraabdominales, cardiovasculares y osteomielitis son las de menos concurrencia<sup>(13)</sup>.

*Staphylococcus aureus*, es un huésped que incrementa el número de infecciones, entre los cuales son: el impétigo, dermatitis exfoliativa y afecciones de la piel; foliculitis, abscesos (forúnculos), celulitis y tejido blandos; osteomielitis, neumonía, sepsis, endocarditis, síndrome de shock toxico estafilocócico o fascitis necrotizante. Afecta asimismo a las mucosas como la piel en la región de: axilas, vagina, perineo y en mucosas orofaríngea<sup>(14)</sup>.

La vancomicina es un fármaco perteneciente al grupo de las betalactamasas, de elección para el tratamiento de afecciones producidas por los diferentes tipos de bacterias como es el *S. aureus* meticilino resistentes (MRSA), *Staphylococcus coagulasa negativos*, *Staphylococcus epidermidis* (MRSE)<sup>(15)</sup>.

De acuerdo con la situación problemática y marco teórico tenemos los siguientes antecedentes:

Zelada J (2019) demostrar el efecto antibacteriano in vitro que posee el aceite esencial de hojas de *Mentha spicata* (hierba buena) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, concluyendo así que el aceite esencial de las hojas de *Mentha spicata* si tiene efecto antibacteriano in vitro frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. Presentando este un 75% similar efecto que ciprofloxacino<sup>(16)</sup>.

Chuquimango S (2017) evaluar el efecto antibacteriano “in vitro” del aceite esencial de *Piper angustifolium* (Matico) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*. Determinando que el aceite esencial de matico sí tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*<sup>(17)</sup>.

Tipula M (2016) evaluar el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de hojas del *Piper angustifolium* “matico” sobre cepas de *Candida albicans* comparada con la nistatina in vitro. Determinando que la dosis de nistatina de 300 microgramos y la dosis al 12% de extracto hidroalcohólico de hojas del *Piper angustifolium* tienen efecto antifúngico en las primeras 24 horas<sup>(18)</sup>.

Mendoza M (2019) evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial del *Piper aduncum* “matico” comparado con oxacilina 1ug sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Concluyendo que el aceite esencial del *Piper aduncum* si tiene efecto antibacteriano sobre *S. aureus* pero no supera el halo de inhibición de la oxacilina<sup>(19)</sup>.

Flores K (2017) comparar la actividad antifúngica “In vitro”, de aceite esencial y extracto alcohólico de *Mentha piperita* (Hierba buena), mediante un estudio microbiológico sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231. Determinando que el aceite esencial de la *Mentha piperita* tiene mejor efecto antifúngico en función del diámetro del halo de inhibición<sup>(20)</sup>.

La resistencia bacteriana es una problemática a nivel mundial, el uso irracional de antibióticos proporciona este tipo de resistencia originando que el tratamiento con fármacos antibacterianos pierda su eficacia.

El uso irracional de los antibióticos ha producido como resultado que las bacterias se hagan multirresistentes. Las infecciones producidas por estas bacterias necesitan de atención urgente, ya que pueden aumentar el riesgo de complicaciones y producir la muerte a los pacientes<sup>(21)</sup>.

Debido a la resistencia bacteriana de *Staphylococcus aureus*, se ha visto la necesidad de realizar un estudio para lograr un tratamiento adecuado para esta bacteria.

En esta investigación se demostrará si los extractos hidroalcohólicos *Mentha spicata* L. “hierba buena” y *Piper aduncum* L. “matico” tiene actividad antibacteriana en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*, logrando así obtener un tratamiento alternativo para estas infecciones.

Es de suma importancia esta investigación ya que busca encontrar una solución para las infecciones causadas por esta bacteria, utilizando como base la medicina

alternativa con dos especies muy conocidas hierbabuena y matico que se encuentran al alcance de la población y de muy bajo costo.

Si demostramos que *Mentha spicata* L. “hierba buena” y *Piper aduncum* L “matico”, tiene significativa acción antibacteriana sería de gran aporte para nuestra sociedad, contribuyendo en mejorar la salud.

Según el objetivo planteado en el estudio es:

- Demostrar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L, “hierba buena” y *Piper aduncum* L “matico” en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

Siendo los objetivos específicos los siguientes:

- Determinar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L. “hierba buena” en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
- Determinar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L. “matico” en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
- Comparar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L. “hierba buena” y *Piper aduncum* L. “matico” en relación al efecto antibacteriano de las cepas clínicas *Staphylococcus aureus*.

Según los objetivos de estudio, se plantea como hipótesis general lo siguiente:

- El extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* “hierba buena” y *Piper aduncum* L “Matico” tiene efecto frente a las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
- El extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* “hierba buena” y *Piper aduncum* L “matico” no tiene efecto frente a las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

Siendo las hipótesis específicas las siguientes:

- El extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* “hierba buena” tiene efecto frente a las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
- El extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* “hierba buena” no tiene efecto frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

- El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico” tiene efecto frente a las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
- El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico” no tiene efecto frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
- El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico” presenta mayor efecto que el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* “hierba buena” a diferentes concentraciones.
- El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico” presenta igual efecto que el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* “hierba buena” a diferentes concentraciones.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El enfoque de la investigación es cuantitativo con diseño experimental, porque se recolectó datos para probar la hipótesis, con base en la medición numérica y realizar el análisis estadístico. Es prospectivo porque se recolectó datos después de iniciada la investigación. El diseño es experimental, porque se manipuló la variable independiente.

El nivel de investigación es explicativo: Porque su interés se centra en la explicación causal de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Mentha spicata* L. (hierbabuena) y *Piper aduncum* L. (matico) en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*

### 2.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO.

La población de estudio estuvo conformada por 2 kg de Hojas de *Mentha spicata* L. (hierba Buena) y *Piper aduncum* L. (matico) procedentes del centro poblado Santa Clara-Batangrande, departamento de Lambayeque, provincia de Ferreñafe. De clima árido, con una temperatura máxima promedio de 21°C y 28°C y una superficie de 53km<sup>2</sup>.

### 2.3. VARIABLES DE INVESTIGACIÓN.

El presente estudio tiene como variables:

**Variable independiente:** El extracto hidroalcohólico de Hojas *Mentha spicata* L. (hierba Buena) y *Piper aduncum* L. (matico).

Definición conceptual: Solución líquida de *Mentha spicata* L. (hierba Buena) y *Piper aduncum* L. (matico) obtenida por maceración que contiene metabolitos de la planta obtenidos con solvente polar, el cual contienen las propiedades medicinales de la planta.

Dimensiones: concentraciones (mg/mL)

Indicadores (%): concentraciones de los extractos 100, 75 y 50%.

**Variable dependiente:** actividad antibacteriana.

Definición conceptual: La actividad antibacteriana es la acción de una sustancia que impide el crecimiento microbiano.

Dimensiones: diámetro del halo de inhibición.

Indicadores: Escala de sensibilidad según Duraffourd

Sensibilidad Nula (-): < 8mm

Sensible (+): >8mm ≤14mm

Muy sensible (++) :>14-20mm

Sumamente Sensible (+++) :> 20mm

### 2.4. TÉCNICA E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS (VALIDACIÓN DE LOS INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS)

#### - Técnica de recolección de datos:

La técnica que se utilizó fue la maceración, la cual fue utilizada para la preparación del extracto hidroalcohólico de hojas de *Mentha spicata* L. (hierba Buena) y *Piper aduncum* L. (matico). Las hojas de hierba buena y matico fueron cortadas y

tuvieron contacto directo con el solvente hasta llegar al punto de equilibrio de la droga , el tiempo de maceración puede variar de 7 a 10 días<sup>(22)</sup>.

Se utilizó la prueba difusión en agar para determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Mentha spicata L.* (hierba Buena) y *Piper aduncum L.* (matico) en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*, sobre placas con agar Mueller-Hinton, previamente inoculadas con el microorganismo en estudio. Sobre las placas se colocó discos de papel filtro impregnados con el extracto hidroalcohólico en concentraciones de 100%,75% y 50%. Al estar en contacto con la superficie húmeda del medio de cultivo las diferentes concentraciones del extracto se difundieron por gradiente de concentración<sup>(23)</sup>.

#### **- Instrumentos de recolección de datos**

Con relación al instrumento de recolección se utilizó la ficha de recolección de datos de la evaluación microbiológica del extracto hidroalcohólico de hojas de *Mentha spicata L.* (hierba Buena) y *Piper aduncum L.* (matico) (Anexo B).

#### **- Validez y confiabilidad de instrumento de recolección de datos**

La evaluación de la actividad antimicrobiana se llevó a cabo en el laboratorio Centro de Diagnóstico Microbiológico Especializado (CEDIM) – Lambayeque Para la presente evaluación se empleó el método difusión de discos basado en el método Kirby-Bauer para la determinación preliminar de la actividad antibacteriana y así demostrar la inhibición de los extractos<sup>(24)</sup>.

La preparación del inóculo se comparó con la escala turbométrica de Mc Farland 0.5, la cual es aceptada universalmente para este tipo de ensayo.

Para la realización de este análisis se trabajó con cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

## **2.5. PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **2.5.1 Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos**

Para la realización del trabajo de investigación se solicitó la carta de presentación a la Universidad María Auxiliadora y se gestionó el permiso de acceso a los laboratorios, así como la gestión y pagos correspondientes en los laboratorios externos para el desarrollo microbiológico.

## 2.5.2 Aplicación de instrumentos de recolección de datos

### - La obtención de la materia prima

Se recolectó la especie *Mentha spicata* L. (hierba Buena) y *Piper aduncum* L. (matico) procedentes de Santa clara perteneciente al departamento de Lambayeque, provincia de Ferreñafe, distrito de Pítipo.

### - Clasificación taxonómica

Obtenida la muestra se procedió a realizar la certificación taxonómica en el Herbario de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo (Anexo C).

### - Selección y sanitización del recurso vegetal

Después de haber obtenido la materia prima *Mentha spicata* L. (hierba Buena) y *Piper aduncum* L. (matico), se procedió a la selección de las hojas que se encontraron en mejor estado, luego se lavó con abundante agua e hipoclorito de sodio al 0.5%, después se procedió a realizar el secado al medio ambiente colocando las hojas sobre un papel craft durante 24 horas y luego a la estufa a 37°C. Posteriormente fueron cortadas y/o trituradas para obtener el tamaño de la partícula optimo, con el objetivo de obtener un tamaño homogéneo de las partículas, las cuales fueron colocadas en frascos de vidrio ámbar en un lugar fresco y oscuro<sup>(25)</sup>.

### - Preparación del extracto hidroalcohólico

La preparación del extracto, se llevó a cabo en el laboratorio de la Universidad Maria Auxiliadora.

Las hojas de las especies vegetales, fueron lavadas y secadas, para luego ser picadas y colocadas en un envase ámbar, inmediatamente se le agrego una solución de alcohol al 70%, y se dejó macerar por un periodo de 7 días, en agitación constante en un ambiente fresco y oscuro. Trascurrido el tiempo, se filtró 3 veces con papel Whatman N°3, llevándolo a estufa a 40°C para sequedad total, con el fin de evaporar los compuestos volátiles, culminado el proceso se realizaron las diferentes concentraciones <sup>(26)</sup>.

### - Ensayo microbiológico

La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó en el laboratorio Centro

de Diagnóstico Microbiológico Especializado (CEDIM) – Lambayeque. Para la evaluación se utilizó el método de difusión en agar con disco según Kirby Bauer, el ensayo para cada dilución se hizo diez veces<sup>(27)</sup>.

La preparación del inóculo fue comparada con la escala turbométrica de McFarland, la cual es utilizada generalmente para este tipo de ensayo<sup>(28)</sup>.

Para la realización de este trabajo se utilizó cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

- **Preparación del inóculo:** De un tubo con cultivo del microorganismo de estudio se seleccionó 3 colonias bien aisladas y de igual morfología con crecimiento entre las 18 y 24 horas, se transfirió tocando la parte superior con un asa Kohl a un tubo de 5 mL de caldo estéril de Mueller-Hinton, incubamos el cultivo a 35°C por un tiempo de 60 minutos hasta que se produzca el crecimiento bacteriano.

Se diluyó el cultivo en solución salina estéril hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland, obteniéndose una suspensión aproximadamente de  $1 \times 10^8$  UFC/mL<sup>(14)</sup>.

- **Preparación de Concentraciones:** El extracto fue resuspendido en agua estéril, obteniéndose una solución madre (100%), y a partir de la cual se preparó las diluciones de 75% y 50%, necesarias para el desarrollo de la investigación.

- **Inoculación de las placas:** Posteriormente alcanzada la suspensión bacteriana de turbidez de 0.5 Mac Farland, se inoculó sobre la superficie de placas Petri con agar Mueller Hinton; para lo cual se utilizó un hisopo estéril el cual fue embebido con la suspensión bacteriana varias veces y presionándolo firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo y poder estriarlo sobre el agar en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo<sup>(29)</sup>.

- **Aplicación de los discos:** Se esterilizaron discos de papel filtro (Whatman) N° 3, de 6mm de diámetro en autoclave a 120°C por 15 minutos. Sobre los medios de cultivo conteniendo el inóculo bacteriano se colocó con ayuda de

pinzas estériles los discos impregnados con las respectivas concentraciones al 100%, 75% y 50% del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L. (hierba buena) y *Piper aduncum* L. (matico) 2 discos en forma equidistante en cada placa con el inóculo bacteriano, se dejó reposar 5 minutos para llevar a incubación. Así mismo se colocó disco de vancomicina 30mcg para el control positivo<sup>(29)</sup>.

- **Incubación:** Las placas fueron incubadas por un período de 24 horas a una temperatura de 35°C +/- 1<sup>(29)</sup>.
- **Medición de diámetro de la zona de inhibición sobre el crecimiento bacteriano:** Transcurrido 24 horas del periodo de incubación, cada placa se examinó y midió el diámetro de cada zona libre de crecimiento bacteriano mediante una regla, expresándose en milímetros.

## 2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

La información que se obtuvo en cada halo de inhibición con cada concentración, fue procesada en la base de datos en el programa SPSS 25 versión para Windows, determinándose el análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza de 95% y la prueba de significación de Tukey para comparar las diferencias entre las medias<sup>(30)</sup>.

## 2.7. ASPECTOS ÉTICOS

Esta investigación fue realizada in vitro, por lo tanto, no fue necesario solicitar consentimiento informado alguno, esto debido a que no participaron personas como parte de la muestra dentro de la investigación; la experimentación se realizó a través de un procedimiento en el cual se aplicó el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L. (hierba buena) y *Piper aduncum* L. (matico) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. Por tal motivo, no existió falta alguna, ni fueron vulnerados los derechos de las personas o la comunidad, durante el proceso de la investigación se tomaron las medidas de protección específicas de bioseguridad durante la ejecución de la investigación.

Esta investigación aportará beneficios con información importante sobre la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L. “hierba buena” y *Piper aduncum* L. “matico” en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*, el cual servirá como material referencial para los profesionales químicos farmacéuticos, incluyendo la población de estudiantes.

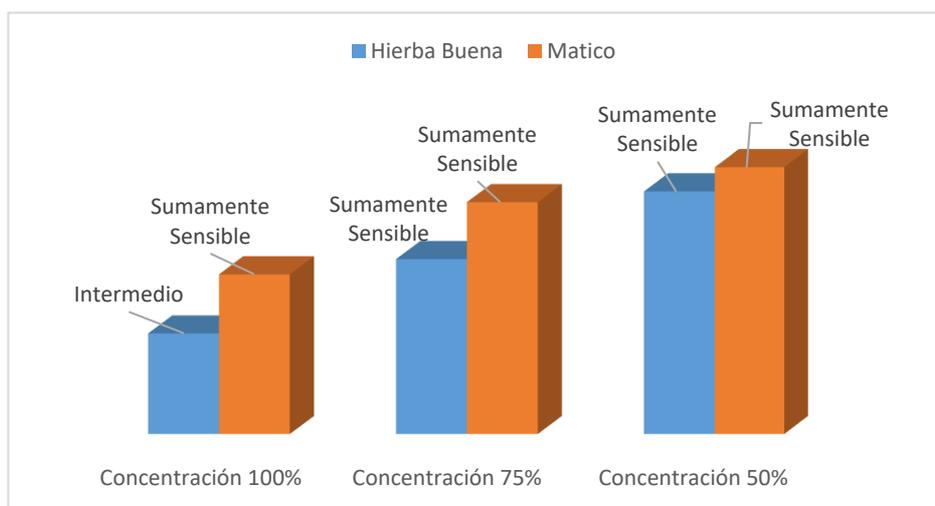
### III. RESULTADOS

A continuación, se presenta los datos obtenidos sobre la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Mentha spicata L.* (hierba buena) y *Piper aduncum L.* (matico) a concentraciones de 100%, 75%, y 50% frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

La actividad antibacteriana se evaluó a través del método de difusión en agar, con discos impregnados a las diferentes concentraciones del extracto. El diámetro de cada disco se muestra a continuación con resultados positivos.

Figura N° 01

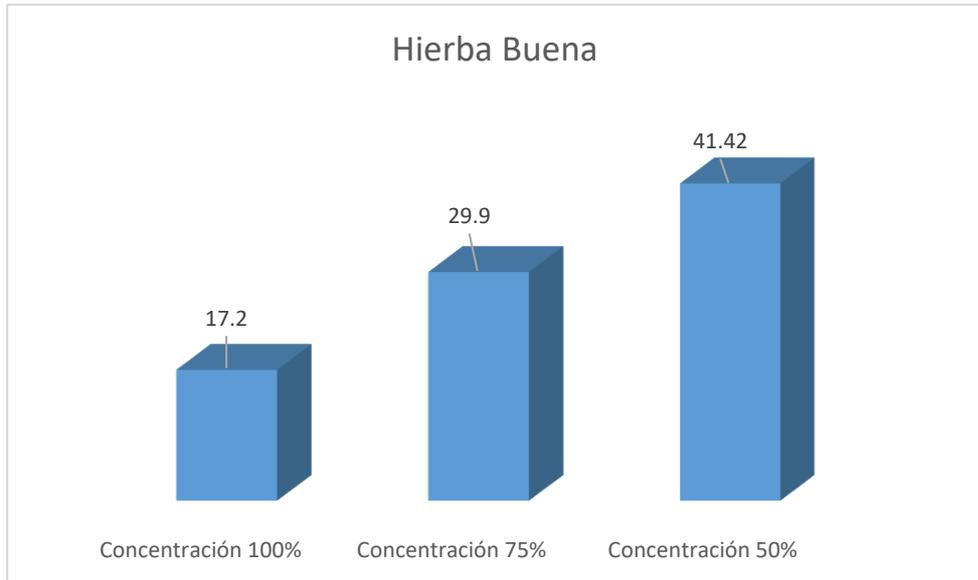
**Demostración en gráficos de la actividad antibacteriana de la hierba buena y matico en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.**



En el presente trabajo de investigación al demostrar la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólico de *Mentha spicata L.*, “hierba buena” y *Piper aduncum L.* “matico” en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*, se observa que en las concentraciones al 100% el efecto es intermedio para el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata L.* y Sumamente Sensible para *Piper aduncum L.* Además, en las concentraciones del 75% y 50% el efecto es Sumamente Sensible tanto para los extractos hidroalcohólico de *Mentha spicata L.* y *Piper aduncum L.* en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

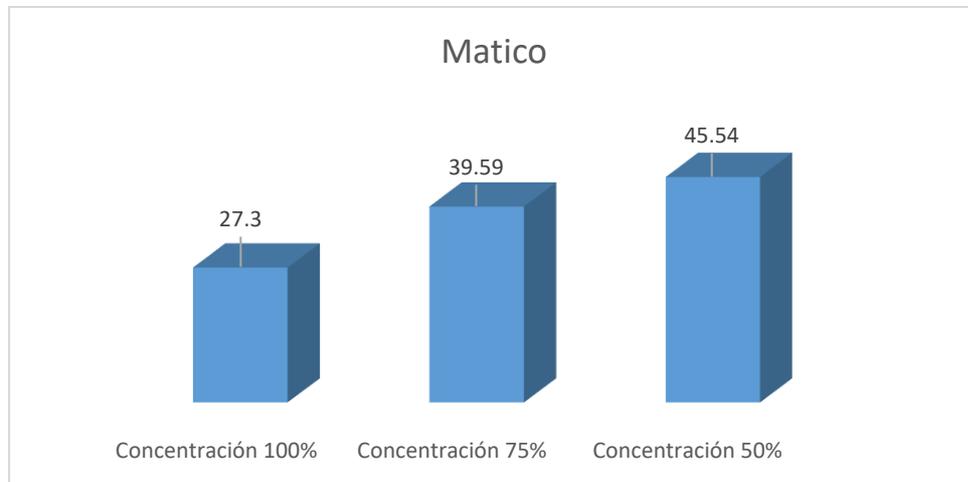
**Figura N° 02**

**Promedio de Halo de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.**



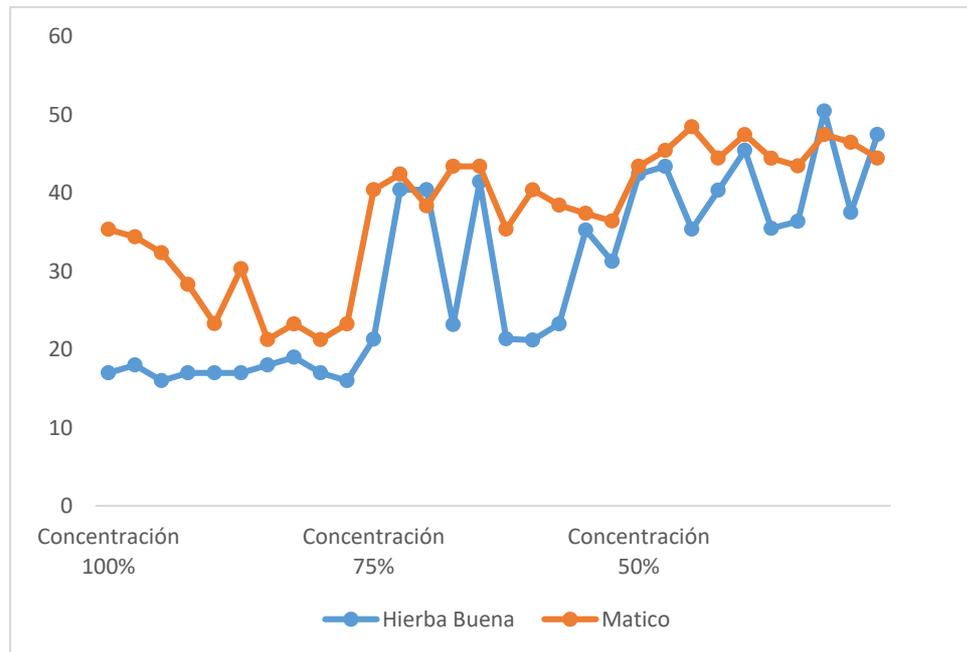
En el siguiente gráfico se observa los promedios de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L, los cuales en concentraciones al 100% se encuentra un valor de 17.2 mm. que representa al efecto Intermedio, en concentraciones al 75% el valor es de 29.9 mm con efecto Sumamente Sensible y en concentración al 50% el valor de 41.42 mm con efecto Sumamente sensible.

**Figura N° 03. Promedios de los halos de inhibición del *Piper aduncum* L en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus***



Al obtener los promedios de los halos de inhibición de *Piper aduncum* Muestran que en concentración al 100% se encuentra un valor de 27.3 mm con efecto Sumamente Sensible, en concentraciones al 75% el valor de 39.59 mm con efecto Sumamente Sensible y en concentraciones al 50% un valor de 45.54 mm.

**Figura N° 04. Comparación de la “hierba buena” y “matico” en relación al efecto antibacteriano de las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.**



Al comparar la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de *Mentha spicata L.* “hierba buena” y *Piper aduncum L.* “matico”, se observa que el *Piper aduncum L* presentó mayor efecto en las diferentes concentraciones.

### Contrastación de hipótesis

Nos encontramos con una variable numérica en los tres grupos de concentración, contrastaremos las hipótesis para verificar si existen diferencia entre las medias, para eso aplicaremos el análisis del método ANOVA. Para aplicar dicho método deben cumplirse los requisitos: los datos tienen que cumplir una distribución normal, los valores deben ser independientes (no deben estar relacionados), cumplir el principio de homocedasticidad y los datos debieron haberse recogido de manera aleatoria.

Para cada grupo de concentración y el extracto se aplicará la prueba de t-student para determinar la diferencia significativa entre las medias de estos dos grupos.

## Hipótesis General

H0: El extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L “hierba buena” y *Piper aduncum* L “matico” no tiene efecto frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

H1: El extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* “hierba buena” y *Piper aduncum* L “Matico” tiene efecto frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

**Tabla N°01. Aplicación del método ANOVA para las hipótesis planteadas**

Promedio	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	317,525	1	317,525	37,142	,000
Dentro de grupos	153,882	18	8,549		
Total	471,407	19			

Se puede observar en la Tabla, al aplicar el método ANOVA para la hipótesis planteada, hallamos que Si existe relación significativa entre los grupos mencionadas p. valor=0.000 ( $p < 0.05$ ) por lo que se toma la decisión de aceptar la hipótesis del investigador por ende rechazando la hipótesis nula.

## Hipótesis Específicas

Ho: El extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L “hierba buena” no tiene efecto frente a cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

H1: El extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L “hierba buena” tiene efecto frente cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

Ho: El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico” no tiene efecto frente a las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

H1: El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico” tiene efecto frente a las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

Estadísticas de grupo					
	Extracto	N	Media	Desviación estándar	Media de error estándar
c100	Hierba buena	10	17,2000	,91894	,29059
	Matico	10	27,2950	5,50375	1,74044
c75	Hierba buena	10	29,8990	8,79716	2,78191
	Matico	10	39,5910	2,86746	,90677
c50	Hierba buena	10	41,4220	5,30837	1,67866
	Matico	10	45,5420	1,79811	,56861

**Tabla N° 02. Aplicación del método t-student para las hipótesis específicas**

Prueba de muestras independientes										
		Prueba de Levene de calidad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
<u>c100</u>	Se asumen varianzas iguales	37,780	,000	-5,721	18	,000	-10,09500	1,76453	-13,80215	-6,38785
	No se asumen varianzas iguales			-5,721	9,501	,000	-10,09500	1,76453	-14,05477	-6,13523
<u>c75</u>	Se asumen varianzas	27,509	,000	-3,312	18	,004	-9,69200	2,92596	-15,83921	-3,54479

	zas iguales									
	No se asumen varianzas iguales			- 3,312	10,891	,007	- 9,69200	2,92596	- 16,13986	- 3,24414
c50	Se asumen varianzas iguales	11,616	,003	- 2,325	18	,032	- 4,12000	1,77234	- 7,84356	- ,39644
	No se asumen varianzas iguales			- 2,325	11,038	,040	- 4,12000	1,77234	- 8,01925	- ,22075

Se puede observar en la Tabla, al aplicar el método t-student para las hipótesis específicas, hallamos que, Si existe relación significativa entre las 3 concentraciones, dando como resultados p\_valor=0.000, 0.004 y 0.032 ( $p < 0.05$ ); por lo que se toma la decisión de aceptar la hipótesis del investigador (El extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L “hierba buena” tiene efecto frente cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*. Y el extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico” tiene efecto frente a las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*).

Ho: El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico” presenta igual efecto que el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L “hierba buena” a diferentes concentraciones.

H1: El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico” presenta mayor efecto que el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L “hierba buena” a diferentes concentraciones.

**Tabla N° 03 Prueba de muestras independientes**

	Prueba de Levene de calidad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
								Inferior	Superior
promedio Se asumen varianzas iguales	2,643	,121	-6,094	18	,000	-7,96900	1,30759	-10,71615	-5,22185
No se asumen varianzas iguales			-6,094	15,206	,000	-7,96900	1,30759	-10,75279	-5,18521

Se puede observar en la Tabla, aplicando el método t-student y al comparar hipótesis específica: El extracto hidroalcohólico de *Piper aduncum* L “matico” presenta mayor efecto que el extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L “hierba buena”, hallamos que Si existe relación significativa encontrando como resultados p-valor=0.000 ( $p < 0.05$ ); por lo que se toma la decisión de aceptar la hipótesis del investigador o alternativa.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusión de resultados

Esta investigación tuvo como objetivo demostrar la actividad antibacteriana de los extractos hidroalcohólicos de la hierba buena y matico, por lo cual se preparó los extractos en las concentraciones de 100%,75%y 50%.

La técnica utilizada fue la maceración para la extracción de los principios activos de las especies vegetales en estudio y el método de Difusión en agar Kirby Bauer nos permitió comprobar la actividad antibacteriana<sup>(22)(23)</sup>.

Estadísticamente los datos obtenidos de los análisis de medias ANOVA (Tabla 04) determinaron que los resultados de esta investigación fueron altamente significativos, observándose un  $p < 0.05$  (0.000) lo que indica que existe diferencia estadística en los diferentes grupos de estudio.

En cuanto al objetivo general se evidencio en el (grafico 1) que los resultados obtenidos en concentración al100% el efecto es Intermedio para hierba buena y Sumamente Sensible para matico. Además, en las concentraciones al 75% y 50% el efecto es Sumamente Sensible para las dos plantas en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.

Para el análisis de la actividad antibacteriana frente a la cepa clínica utilizamos tres concentraciones del extracto hidroalcohólico en el cual se determinó que el matico presentó una actividad antibacteriana sumamente sensible para *Staphylococcus aureus* con halos de imbibición al 100% de 27.3 mm, al 75% de 39.59 mm y al 50% de 45.54mm.estos datos contrastan con estudios realizados por Chuquimango S<sup>(17)</sup>, quien en su estudio evaluó el efecto antibacteriano de las concentraciones al 25%,50%,75 y 100% del aceite esencial del matico sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aureginosa* donde se obtuvieron un halo de inhibición de 20.10 al 75% sumamente sensible y CMI del 100% fue 0 y en *Pseudomona aureginosa* fue muy sensible ya que al 100% tubo un halo de 16.8 mm y CMI del 75% fue 0.

Por otro lado, los resultados obtenidos por Mendoza M<sup>(19)</sup>, son diferentes ya que utilizaron aceite esencial del *Piper aduncum* “matico” para evaluar el efecto antibacteriano comparado con oxacilina 1 ug sobre *Staphylococcus aureus* ATCC

25923 obteniendo resultados de halos inhibitorios para el 75% con 13.70 mm al 100% el halo de inhibición fue de 16.50 valores considerados como eficaces en relación al patrón CSI (>12mm), sin embargo, no supera el halo de inhibición del medicamento oxacilina con 30.60 mm. A las concentraciones de 50% y 25% no se observó efecto antibacteriano.

Por otro lado, la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de la hierba buena presento al 100% un halo de inhibición de 17.2mm, al 75% 29.9mm y al 50% de 41.42mm, siendo sumamente sensible al 75% y 50%. Otro estudio similar realizado por Zelada J<sup>(16)</sup> administró el aceites esencial de *Mentha Spicata* (Menta) en las concentraciones del 45% y 75% obteniendo como resultados un efecto antibacteriano frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*.

Por otro lado la investigación realizada por Flores K<sup>(20)</sup> compara la actividad antifúngica "In vitro", del aceite esencial y extracto alcohólico del *Mentha piperita* (Hierba buena), mediante un estudio microbiológico sobre cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, evidenciando que el efecto antifúngico del extracto alcohólico de *Mentha piperita* fue mayor que del aceite esencial de dicha especie.

Finalmente podemos evidenciar que existe diferencia en los resultados obtenidos en nuestra investigación, comparado con los antecedentes citados debido al método empleado para extracción de los principios activos. Teniendo en cuenta otros factores como la zona de recolección, la temperatura, clima. Ante lo expuesto anteriormente ambas especies poseen efecto antibacteriano y antimicótico, logrando así demostrar que son de gran utilidad como tratamiento alternativo junto con los antibióticos.

## 4.2. Conclusiones:

- Los extractos hidroalcohólicos de *Mentha spicata* (hierba buena) y *Piper aduncum* (matico) al 50% presentaron mayor halo de inhibición frente al control positivo de vancomicina sobre las cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*.
- Frente a la cepa de *S. aureus* el extracto de *Mentha spicata* al 75% presentó un halo de inhibición de 29.9 mm y el extracto de *Piper aduncum* al 75% presentó un halo de inhibición 39.59 demostrando tener una actividad antibacteriano sumamente sensible.
- Según la escala de Durafford los extractos hidroalcohólicos de Hierba buena al 100% presentó un halo de inhibición al 17.2mm y Matico al 100% presentó un halo de inhibición 27.3 mm demostrando un efecto sumamente sensible para el matico y un efecto intermedio para hierba buena.
- Se demostró estadísticamente que el extracto hidroalcohólico de matico tuvo mayor efecto antibacteriano en comparación a la hierba buena frente a las cepas de *Stapylococcus aureus*.

### 4.3. Recomendaciones

- Si no se realiza una correcta técnica de extracción del principio activo puede influir en los resultados.
- Continuar con el estudio microbiológico de las especies *Mentha spicata* L. (hierba Buena) y *Piper aduncum* L. (matico) utilizando otro tipo de bacterias para probar su actividad antibacteriana frente a otro tipo de microorganismos (hongos o parásitos) con la finalidad de evaluar otros efectos, que puede poseer estas plantas.
- Se recomienda hacer análisis fitoquímico a las plantas en estudio para determinar sus principales componentes que le dan el efecto antibacteriano, ya que por motivos de la pandemia no pudimos realizar este estudio y solo se consideró referencias otros trabajos.
- Se debería realizar otros estudios con otros antibióticos para comparar su efecto y así poder combatir las infecciones causada por *Staphylococcus aureus*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Choque Yapu M. Efecto antibacteriano del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano) comparado con oxacilina, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC29213. 2018;1–5. Available from: [https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25871/choque\\_ym.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25871/choque_ym.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
2. García EC, García González R, Salazar Schettino PM. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev latinoam patol clin med lab* [Internet]. 2014;61(1):28–40. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
3. Mercado M, Ávila J, Rey M, Montoya M, Gamboa A, Carrascal A, et al. Brotes por salmonella spp., *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* asociados al consumo de pollo. *Biomedica* [Internet]. 2012;32(3):355–64. Available from: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84324092008>
4. Zendejas G, Avalos H, Soto M. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades de patogenicidad, métodos de identificación. *Rev Biomed* [Internet]. 2014;25(3):129–43. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>
5. Aguilar F, Niño J, Moreno M. Portadores nasofaríngeos *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* en personal de salud del hospital provincial docente Belén de Lambayeque. *Rev Exp en Med del Hosp Reg Lambayeque* [Internet]. 2015;1(2):47–51. Available from: <http://rem.hrlamb.gob.pe/index.php/REM/article/view/17/15>
6. Calisaya Chambi S, Coaquira Mamani N. Efecto inhibitorio del extracto de ajo (*Allium Sativum*) vs té verde (*Camelia Sinensis*) sobre *Streptococcus mutans* a las 24 y 48 horas, Puno - 2018. 2000;2006–11. Available from: [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/10252/Calisaya\\_Sara\\_Coaquira\\_Nuria.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/10252/Calisaya_Sara_Coaquira_Nuria.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
7. Ingaroca Tejeda SP, Castro Luna AJ. Composición química, actividad antioxidante y efecto fungistático sobre *Candida albicans* del aceite esencial

- de Piper aduncum L. "matico." Repos Tesis - UNMSM [Internet]. 2018;1–10. Available from: [https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/8812/Ingaroca\\_ts.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/8812/Ingaroca_ts.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
8. Alania V, Rodrigo A, Delgado T, Marlene D. Actividad diurética del extracto etanólico de las hojas de matico (Buddleja globosa) en ratas. 2018; Available from: [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/4159/TESIS\\_TITO\\_RODRIGO.PDF?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/4159/TESIS_TITO_RODRIGO.PDF?sequence=1&isAllowed=y)
  9. Gavilanes Espin Y. "Comprobación de la eficacia clínica del extracto de matico (Piperangustifolium) en la evolución de la cicatrización de heridas de la mucosa bucal en pacientes que acuden a la unidad de atención odontológica uniandes ". 2017;1–14. Available from: <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/7341/1/PIUAODONT052-2017.pdf>
  10. HIERBABUENA: historia, origen taxonomía, características. [Internet]. [cited 2020 Feb 6]. Available from: [https://hablemosdeflores.com/hierbabuena/?fbclid=IwAR2TpMEZPow8rXVO7eCPlekL\\_INU-VLnKGM2MabS2R0n7QAYPFLL\\_\\_8IGEk](https://hablemosdeflores.com/hierbabuena/?fbclid=IwAR2TpMEZPow8rXVO7eCPlekL_INU-VLnKGM2MabS2R0n7QAYPFLL__8IGEk)
  11. Villanueva Suarez L. Análisis del comportamiento de los procesos inflamatorios en deportistas de 8 a 14 años de edad de la federación deportiva del guayas, para la propuesta de un gel apartir de la Menta spicata (HIERBABUENA). 2015; Available from: [http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8184/1/BCIEQ-T-0097Villanueva Suarez Luis Alfonso.pdf](http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8184/1/BCIEQ-T-0097Villanueva%20Suarez%20Luis%20Alfonso.pdf)
  12. Nekazaritzako Elikagaien, Segurtasunerako EF. Staphylococcus aureus. 2013;(2):81–3. Available from: [http://www.elika.net/datos/pdfs\\_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf](http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf)
  13. Borraz Ordás C. Epidemiología de la resistencia a meticilina en cepas de Staphylococcus aureus aislados en hospitales españoles. Patología (Mex)

- [Internet]. 2006;2003–5. Available from:  
[http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/42524/1/CBO\\_TESIS\\_DOCTORAL.pdf](http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/42524/1/CBO_TESIS_DOCTORAL.pdf)
14. Baca BT, Renee M. Actividad antibacterina in vitrio del extracto hidroalcohólico de *Musa cavendishii* Lamb . ( PLÁTANO MORADO ) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 . 2020; Available from:  
[http://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/UMA/278/INFORME\\_FINAL\\_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/UMA/278/INFORME_FINAL_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  15. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha tecnica Vancomicina pfizer 1000mg polvo para concentrado para solucion para perfusion efg. 2015;7(9):27–44. Available from:  
<http://www.aemps.gob.es>
  16. Zelada Becerra JJ. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *mentha spicata* (menta) frente a *staphylococcus aureus*. Univ Catol los Angeles Chimbote [Internet]. 2019;1–30. Available from:  
[http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/10993/EFFECTO\\_HALOS\\_ZELADA\\_BECERRA\\_JESSICA\\_JANETH.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/10993/EFFECTO_HALOS_ZELADA_BECERRA_JESSICA_JANETH.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  17. Chuquimango Fuentes S. Actividad antibacteriana “in vitrio” del aceite esencial de *Piper angustifolium*(matico)sobre cepas de *Staphylococcus aureus* metilicilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*. 2017; Available from:  
[http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9502/ChuquimangoFuentes\\_S.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9502/ChuquimangoFuentes_S.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  18. Tipula Deza M. Efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de hojas del *Piper angustifolium* “matico” sobre cepas de *Candida albicans* comparada con la nistatina, estudio in vitro. 2016; Available from:  
[https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/596/tipula\\_dm.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/596/tipula_dm.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  19. Mendoza rodriguez maria del pilar. Efecto antibacteriano del aceite esencial

- de Piper aduncum “ MATICO ” Sobre Staphylococcus aureus ATCC 25923 comparado con oxacilina ,estudio invitro. 2019; Available from: [https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/29993/mendoza\\_rm.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/29993/mendoza_rm.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
20. Flores Colcha KF. Actividad antifúngica“in vitro ” de aceite esencial y extracto alcohólico de Mentha piperita “ HIERBA BUENA ” sobre Candida albicans cepa ATCC 10231. 2017; Available from: <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/4482/1/UNACH-EC-FCS-ODT-2017-0036.pdf>
  21. Gonzáles Mendoza J, Maguiña Vargas C, Gonzáles Ponce F de M. La resistencia a los antibióticos. Acta Medica Peru. 2019;36(2):145–51.
  22. Saavedra Nizama F, Borja NA, Rocha GG, Infante AA, Teixeira BJ, Casalino AR. Análisis por espectroscopía uv y ftir de macerados acuosos y alcohólicos de Aloe vera L. y Aloe barbadensis miller .Interacción con sales inorgánicas. 2010;76(3):242–60. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/3719/371937618006.pdf>
  23. Hudzicki J. Protocolo de prueba de susceptibilidad de difusión en disco de Kirby-Bauer. Am Soc Microbiol [Internet]. 2009;(December 2009):23. Available from: <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>
  24. Neira Llerena JE. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de las plantas medicinales utilizados por los pobladores de tuctumpaya, quequeña y chiguata ,frente a bacterias Gram positivas :Staphylococcus aureus – Streptococcus pneumoniae causantes. 2014;1–45. Available from: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/6899/BInellje.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  25. Zavaleta-Espejo G, Zavaleta-Castro C, Saldaña-Jiménez J, Aguilar-Sánchez A. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Piper angustifolium (Piperaceae) sobre Proteus mirabilis. Rev Investig la Univ Le

- Cordon Bleu [Internet]. 2019;6(1):77–84. Available from: <https://revistas.ulcb.edu.pe/index.php/REVISTAULCB/article/view/125/262>
26. Martínez Solís I, castillo garcía I. Manual de fitoterapia. 2007;39. Available from: <https://www.elsevier.com/books/manual-de-fitoterapia/castillo-garcia/978-84-9022-747-3>
  27. Ramírez Aristizábal LS, Marín Castaño D. Metodologías para evaluar in vitria la actividad antibactiana de compuestos de origen vegetal. 2009; Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/849/84916714049.pdf>
  28. Puentes Contreras EE, Torres Casanova S. "Efecto antibacteriano in vitrio del extracto etanólico de las raíces de Zingiber officinale roscoe(kion) y Curcuma longa L.(palillo)frente a cepas de Staphylococcus aureus. 2018;1–68. Available from: [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2859/TESIS\\_P UENTE CONTRERAS EMA EDITH - TORRES CASANOVA SHIRLEY JEANETTE.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2859/TESIS_P UENTE CONTRERAS EMA EDITH - TORRES CASANOVA SHIRLEY JEANETTE.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
  29. Pedrique M. Determinación de la sensibilidad de las bacterias a los antibioticos(antibiograma). 2002;9. Available from: [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/10 \\_Antibiograma.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10 _Antibiograma.pdf)
  30. Villardón JLV. Introducción al analisis d la varianza. :1–20. Available from: [https://www.academia.edu/4164782/anova\\_3](https://www.academia.edu/4164782/anova_3)

# ANEXOS

**ANEXO A. Operacionalización de las variables**

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES (%)	UNIDAD DE MEDIDA /PUNTO DE CORTE
Extracto hidroalcohólico de <i>Mentha spicata</i> L. (hierba Buena) y <i>Piper aduncum</i> L. (matico)	Solución líquida de <i>Mentha spicata</i> L. (hierba Buena) y <i>Piper aduncum</i> L. (matico) obtenida por maceración.	Concentraciones (mg/mL).	100% 75% 50%	Porcentajes
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES (%)	UNIDADES DE MEDIDA /PUNTO DE CORTE
Actividad antimicrobiana.	Capacidad de inhibir el crecimiento microbiano.	Existencia o ausencia de Halo de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Nula Sensible. Intermedio Sumamente sensible	(< 8 mm) (8-14 mm) (14-20 mm) (> 20 mm)

## Anexo A. Ficha de recolección de datos

Evaluación de la actividad antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L. “hierba buena” y *Piper aduncum* L. “matico” en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*”

CEPA	<i>Staphylococcus aureus</i>											
Concentración del extracto hidroalcohólico de (hierba buena y matico) (%)	Halos de inhibición (mm)											
	n											
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10		
100%												
75%												
50%												

**Fuente:** Elaboración Propia. 2021.

**n:** Número de ensayos microbiológicos.

**x:** Promedio.

## ANEXO C. Certificación Taxonómica



**HERBARIO  
PEDRO RUIZ GALLO**  
UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



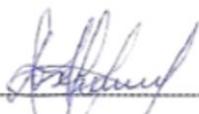
### CONSTANCIA

LA DIRECTORA DEL HERBARIO PRG DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO, QUE SUSCRIBE,

Hace constar:

Que, las señoritas: **Ana Neida Vásquez Rojas** y **Soledad Veronica Nepo Cabrejos** Bachilleres en Farmacia y Bioquímica de la Universidad Maria Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, ha hecho llegar al Herbario PRG 06 muestras botánicas, como parte de su investigación: **Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico *Mentha spicata* "Hierba buena" y *Piper aduncum* L. "Matico" en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus***, las que han sido revisadas e identificadas como *Mentha spicata* L. (Hierba buena) perteneciente a la familia Lamiaceae Martinov y *Piper aduncum* L. (Matico) perteneciente a la familia Piperaceae Giseke.

Lambayeque, 14 de enero del 2020.

  
MSc. Josefa Escurra Puicón



**ANEXO D. Constancia de participación en el proceso de evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de hojas de *Mentha spicata* L. (hierba buena) y *Piper aduncum* L. (matico)**

**CEDIM**

**CENTRO DE DIAGNOSTICO MICROBIOLÓGICO  
LABORATORIO ESPECIALIZADO**

**CONSTANCIA DE EJECUCION DE ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS DE LA TESIS**

Se otorga la presente constancia a las bachilleres SOLEDAD VERONICA NEPO CABREJOS, identificado con el DNI 16798333 y ANA NEIDA VASQUEZ ROJAS , identificada con el DNI 47290955 de la Universidad Maria Auxiliadora de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica , por haber realizado y culminado satisfactoriamente la parte experimental de la tesis **“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Mentha spicata* L. “HIERBA BUENA” Y *Piper aduncum* L. “MATICO” EN CEPAS CLINICAS DE *Staphylococcus aureus***, en el Laboratorio Especializado CEDIM con el conocimiento de su asesor MSc.QF FLORES LOPEZ OSCAR BERNUY.

Chiclayo 20 de diciembre del 2020

  
Juan Valle Oquendo  
MICROBIÓLOGO CLÍNICO  
Microbiólogo clínico Juan Valle Oquendo  
Instituto de Salud H.N.A.A.



**CENTRO DE DIAGNOSTICO MICROBIOLÓGICO  
LABORATORIO ESPECIALIZADO  
ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS  
INFORME N° 01-2020**

**1. IDENTIFICACION DEL SOLICITANTE**

NOMBRES Y APELLIDOS: Soledad Veronica Nepo Cabrejos  
Ana Neida Vásquez Rojas  
DNI: 16798333  
47290955  
Universidad: María Auxiliadora  
Facultad: Ciencias de la Salud  
Escuela Profesional: Farmacia y Bioquímica

**2. IDENTIFICACION DE LA MUESTRA**

Ingrediente Activos: Extracto hidroalcohólico de hojas de *Mentha spicata L.*  
(Hierba buena) y *Piper aduncum L.* (Matico)  
Diluyente: Agua estéril  
Cantidad: 20 ml de cada extracto  
Cepas Utilizadas: Cepas Clínicas de *Staphylococcus aureus*  
Fecha de análisis: 12-12-2020  
Fecha del reporte: 13-12-2020

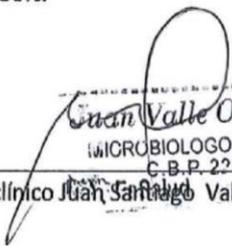
**3. MÉTODO DE ANÁLISIS:**

Evaluación microbiológica in vitro. Método de difusión en agar por discos

- 3.1. Método de cultivo: Agar Mueller Hinton
- 3.2. Inoculo: 0.5 Mc Farland ( $1 \times 10^8$  UFC/ml)
- 3.3. Discos: Papel filtro Whatman N° 01, de 6 mm de diámetro
- 3.4. Repetición: 10 repeticiones por cada concentración de extracto
- 3.5. Tiempo de incubación:  $24 \pm 2$  horas a  $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  en aerobiosis.

**4. DATOS DEL ENSAYO**

- 4.1. Concentración del extracto hidroalcohólico de hojas de *Mentha spicata L.* (Hierba buena) y *Piper aduncum L.* (Matico). Según protocolo trabajado según las concentraciones de los dos extractos 100%, 75% y 50%.

  
MICROBIÓLOGO CLÍNICO  
C. B. P. 2236  
Microbiólogo clínico Juan Santiago Valle Oquendo

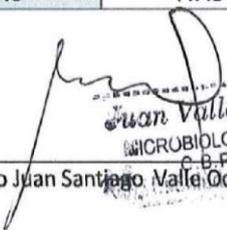
**5. RESULTADOS**

5.1 Evaluación microbiológica in vitro del extracto hidroalcohólico de hojas de *Mentha spicata* L. (Hierba buena) y *Piper aduncum* L. (Matico). Método difusión de agar por discos. Halos de inhibición en milímetros (mm).

CEPAS CLINICAS DE <i>Staphylococcus aureus</i> n°	Extracto hidroalcohólico de <i>Mentha spicata</i> L. (hierba buena)		
	100%	75%	50%
1	17.16	21.31	42.42
2	18.16	40.41	43.39
3	16.15	40.40	35.36
4	17.15	23.17	40.34
5	17.16	41.43	45.44
6	17.18	21.34	35.47
7	18.17	21.19	36.36
8	19.18	23.25	50.47
9	17.15	35.25	37.51
10	16.17	31.24	47.46

CEPAS CLINICAS DE <i>Staphylococcus aureus</i> n°	Extracto hidroalcohólico de <i>Piper aduncum</i> L. (matico)		
	100%	75%	50%
1	35.34	40.40	43.41
2	34.38	42.40	45.42
3	32.35	38.34	48.44
4	28.30	43.40	44.45
5	23.28	43.40	47.45
6	30.31	35.37	44.43
7	21.25	40.39	43.45
8	23.25	38.43	47.45
9	21.24	37.38	46.47
10	23.25	36.40	44.45

n = número de repeticiones

  
 Juan Valle Oquendo  
 MICROBIOLOGO CLINICO  
 C.B.P. 2236  
 Microbiólogo clínico Juan Santiago Valle Oquendo

## Antibiograma de la Cepa Clínica *Staphylococcus aureus*

Cliente de bioMérieux

Informe clínico

Estado 13-nov-2020 15:26 CST

Nombre del paciente

N° paciente:

Localización BC1

N° de examen: 293465H

N° de aislamiento: 1

Cantidad de organismo

Organismo seleccionado: *Staphylococcus aureus*

Origen: S

Recogida: 29-oct-2007 0950

<b>Comentarios:</b>	
---------------------	--

<b>Información de identificación</b>	Tiempo de análisis: 4.30 horas	Estado: Final
Organismo seleccionado	99% Probabilidad Bionúmero: 010402063761031	<b>Staphylococcus aureus</b>
<b>Mensajes de análisis de ID</b>		

Información de sensibilidad	Tiempo de análisis: 8,93 horas	Estado: Final			
Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación
Beta-Lactamasa	POS	*	Resistencia inducible a clindamicina	NEG	-
Detección de cefoxitina	POS	*	Entromicina	>= 8	R
Bencilpenicilina	>= 0.5	R	Clindamicina	>= 8	R
Ampicilina			Gunupratina/Dalopratina	<= 0.25	S
Oxacilina	>= 4	R	Linezolid	1	S
Gentamicina de nivel alto (sinergia)			Vancomicina	<= 0.5	S
Estreptomina de nivel alto (sinergia)			Tetraciclina	<= 1	S
Gentamicina	>= 16	R	Figeciclina	<= 0.12	S
Ciprofloxacino	>= 8	R	Nitrofurantoina	<= 16	S
Levofloxacino	4	R	Rifampicina	<= 0.5	S
Moxifloxacino	1	I	Trimetoprima/Sulfametoxazol	<= 10	S

== Antibiótico deducido \* = AES modificado \*\* = Usuario modificado

<b>Conclusiones de AES</b>	
Nivel de confianza:	Coherente

  
**Juan Valle Oquendi**  
 MICROBIOLOGO CLINICO  
 C.B.P. 2238  
 - SAN CARLOS - CAL

Figura N° 05. Recolección de las muestras botánicas



Limpieza de las muestras botánicas *Mentha spicata* L. (hierba buena) y *Piper aduncum* L. (matico)



**Figura N° 06. Preparación del extracto hidroalcohólico (maceración)**



**Preparación de diluciones de extractos al 100%, 75%, y 50% impregnados en discos de papel Whatman N° 3**



Obtención de las diferentes concentraciones de *Mentha spicata* L. (hierba buena) y *Piper aduncum* L. (matico)



Figura N° 07. Preparación del medio de cultivo



Figura N° 08. Preparación de las de las placas Petri



Figura N° 09. Crecimiento de colonias aisladas de *Staphylococcus aureus*.

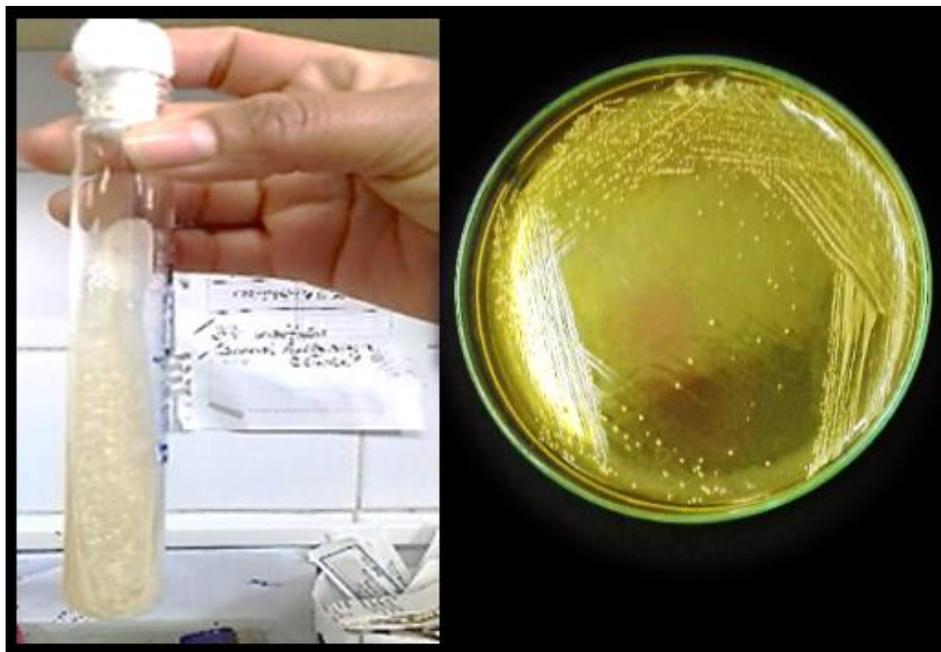


Figura N° 10. Colocación de extractos en discos sobre la siembra en placas con cepas de *S. aureus*



Figura N° 11. Lectura de resultados en 24 horas de incubación de *Staphylococcus aureus* con discos de *Mentha spicata* L

