



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

EFFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO
Y METANÓLICO DE *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb. "Muña"
FRENTE A *Escherichia coli* ATCC 25922, 2022

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTORES

Bach. GARCÍA GÓMEZ, BAKER JARRY
Bach. TANTALEAN MARIN, LESLY

ASESOR

Mg. FLORES LÓPEZ, ÓSCAR
<https://orcid.org/0000-0002-0527-5551>

LIMA – PERÚ
2022

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Lesly Tantalean Marín , con DNI **44762486** en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TÍTULO PROFESIONAL de “Químico Farmacéutico” de título “EFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y METANÓLICO DE *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb. "Muña" FRENTE A *Escherichia coli* ATCC 25922, 2022”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

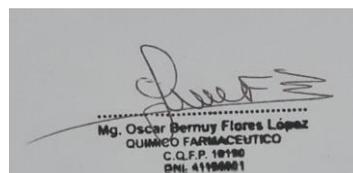
Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de **15 %** y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

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

Lima, 02 de noviembre del 2023



Lesly Tantalean Marín
44762486



Mg. Oscar Bernuy Flores López
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C.O.F.P. 18190
DNI. 41196881

Mg. Oscar Bernuy Flores López
41196881

1. Tantalean Marín Lesly
2. 44762486
3. Título profesional de Químico Farmacéutico
4. EFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y METANÓLICO DE *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb. "Muña" FRENTE A *Escherichia coli* ATCC 25922, 2022
5. Porcentaje de similitud de 15%

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Baker Jarry García Gómez , con DNI 03234629 en mi condición de autor de la tesis presentada para optar el presentada para optar el TÍTULO PROFESIONAL de “Farmacia y Bioquímica” de título “EFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y METANÓLICO DE *Minthotaschys mollis* (Benth.) Griseb. "Muña" FRENTE A *Escherichia coli* ATCC 25922, 2022”, AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 15 % y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

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

Lima, 02 de noviembre del 2023

Baker Jarry García Gómez
López 03234629

Mg. Oscar Bernuy Flores López
QUÍMICO FARMACÉUTICO
C. Q. F. P. 18190
DNI: 41196881

Mg. Oscar Bernuy Flores
41196881

6. García Gómez Baker Jarry
7. 03234629
8. Título profesional de Químico Farmacéutico
9. EFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y METANÓLICO DE *Minthotaschys mollis* (Benth.) Griseb. "Muña" FRENTE A *Escherichia coli* ATCC 25922, 2022
10. Porcentaje de similitud de 15 %

TESIS EFECTO ANTIBACTERIANO in vitro

INFORME DE ORIGINALIDAD

15%

INDICE DE SIMILITUD

15%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.uoosevelt.edu.pe

Fuente de Internet

9%

2

hdl.handle.net

Fuente de Internet

4%

3

repositorio.uma.edu.pe

Fuente de Internet

2%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 1%

Excluir bibliografía

Activo

DEDICATORIA

Con todo mi corazón a mis padres y esposo quienes con su apoyo incondicional hicieron lo posible para lograr mis sueños.

Lesly Tantalean Marin

A Dios, por ser nuestro guía y hacer posible que lograra con éxito nuestras metas plasmadas y brindarnos salud y bienestar en nuestras vidas.

Con amor y cariño a mi amada esposa, Juanita Yarlaque, a mi amado hijo Luisao García y mi cuñada Flor Yarlaque por aconsejarme cada día y ser mi fuente de motivación.

A mis queridos padres Floro García y Dina Gómez; a mis hermanos quienes con sus palabras de aliento e inspiración me motivan a seguir superándome para que la vida nos depare un futuro mejor.

Jarry Baker García Gómez

AGRADECIMIENTO

A la universidad por habernos aceptado y ser parte de ella, además de abrir los puentes para la culminación de nuestro proyecto de tesis.

A los diferentes asesores que brindaron sus conocimientos y apoyo para seguir adelante.

Al Q.F. Martín Silva Romero, por brindarnos su conocimiento y guía en el desarrollo de nuestra tesis.

A nuestros compañeros de la universidad por su amistad y apoyo moral que nos brindaron y alentarnos en nuestra carrera profesional

Los autores

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	2
I. INTRODUCCIÓN	3
II. MATERIALES Y MÉTODOS	8
2.1 Enfoque y diseño de investigación	8
2.2 Población, muestra y muestreo	8
2.3 Variables de investigación	9
2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos	9
2.5 Plan de recolección de datos	9
2.6. Métodos de análisis estadísticos	11
2.7 Aspectos éticos	11
III. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS	12
1.1. ¡Error! Marcador no definido.	
1.2. ¡Error! Marcador no definido.	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14

INDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del <i>Menthoclasys mollis</i> "muña" al 100% y 50% sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	22
Tabla 2. Efecto antibacteriano in vitro del extracto metanólico del <i>Menthoclasys mollis</i> "muña" al 100% y 50% sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	23
Tabla 3. Comportamiento normal de los grupos de tratamientos	24
Tabla 4. Análisis de la Varianza (ANOVA)	25
Tabla 5. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	25
Tabla 6. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	26

INDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico, metanólico de <i>Minthothaschys mollis</i> "muña" sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	21
Figura 2. Especie vegetal en estudio - <i>Minthothaschys mollis</i> "Muña"	45
<i>Figura 3.</i> Recolección de la muestra vegetal	46
<i>Figura 4.</i> Aplicación de los criterios de inclusión y exclusión en la selección de la planta	47
<i>Figura 5.</i> Lavado y desinfección de la muestra vegetal	47
<i>Figura 6.</i> Secado y deshidratación de la planta en estufa	48
Figura 7. Pulverizado y tamizado de las hojas de <i>Minthothaschys mollis</i> "Muña"	48
Figura 8. Proceso de maceración de las hojas de la planta	49
Figura 9. Filtración del macerado de la planta	50
Figura 10. Evaporación del solvente en estufa	51
Figura 11. Preparación de los extractos a diferentes concentraciones	52
Figura 12. Activación de la cepa bacteriana	52
Figura 13. Preparación del inóculo a escala de 0.5 McFarland	53
Figura 14. Sembrado en placa del inóculo	54
Figura 15. Aplicación de los extractos	55
Figura: 16. Incubación de placas	55

INDICE DE ANEXOS

	Páginas
Anexo A. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	38
Anexo B. Matriz de consistencia	39
Anexo C. Operacionalización de las variables	41
Anexo D. Certificado de la especie vegetal en estudio	42
Anexo E. Certificado de calidad de la especie microbiológica	43
Anexo F. Evidencias fotográficas del estudio	45

RESUMEN

Las infecciones producidas por las bacterias siempre ha sido una problemática mundial que se ha mantenido en constante lucha, pero la resistencia bacteriana se ha convertido en una situación de alarma donde las bacterias llevan la ventaja; en tal sentido, encontrar alternativas de solución en las plantas medicinales es una de las formas de superar este problema, razón por la cual se planteó el presente trabajo de investigación.

Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico y metanólico de *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb. "muña" frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

Método: La investigación se basó en un estudio de enfoque cuantitativo, de corte transversal, con diseño experimental con un grupo control; la población de estudio estuvo conformada por la especie vegetal *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb. "muña" obtenida del distrito de Jaén, departamento de Cajamarca, de la cual se tomó una muestra de 2 kilogramos mediante muestreo no probabilístico por conveniencia, los extractos se obtuvieron mediante la técnica de maceración y el efecto antibacteriano se evaluó mediante la técnica de difusión en pozo; el análisis estadístico se realizó con un nivel de confianza del 95%.

Resultados: Los extractos etanólicos de *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb. "muña" al 100% y 50%; obtuvieron halos de inhibición de 8,58 mm DS=0,38 y 8,52 mm DS=0,36 respectivamente; los extractos metanólicos al 100% y 50% obtuvieron halos de inhibición de 10,75 mm DS=0,31 y 8,99 mm DS=0,37 respectivamente; el análisis estadístico por medio ANOVA y Tukey encontró diferencia significativa entre los efectos antibacterianos de los extractos etanólico y metanólico, siendo mayor el efecto en el extracto metanólico.

Conclusión: Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico y metanólico de *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb. "muña" sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, además se demostró mayor efecto antibacteriano en el extracto metanólico

ABSTRACT

Infections caused by bacteria have always been a global problem that has been in constant struggle, however, one of the pathogenic properties of bacteria such as resistance has triggered an alarm situation where bacteria have the advantage; In this sense, finding alternative solutions in medicinal plants is one of the ways to deal with this problem, which is why this research was proposed.

Objective: To determine the in vitro antibacterial effect of the ethanolic and methanolic extract of *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" on *Escherichia coli* ATCC 25922.

Method: The research was based on a quantitative, cross-sectional study with an experimental design with a control group; the study population was made up of the plant species *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" obtained from the district of Jaén, department of Cajamarca, from which a sample of 2 kilograms was taken by means of a non-probabilistic demonstration for convenience, the extracts were obtained through the technique of maceration and antibacterial effect is evaluated by well diffusion technique; Statistical analysis was performed with a confidence level of 95%.

Results: The ethanolic extracts of *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb. "muña" at 100% and 50%; they acquired inhibition halos of 8.58 mm SD=0.38 and 8.52 mm SD=0.36, respectively; In the 100% and 50% methanolic extracts, there were inhibition halos of 10.75 mm SD=0.31 and 8.99 mm SD=0.37, respectively; Statistical analysis using ANOVA and Tukey found a significant difference between the antibacterial effects of the ethanolic and methanolic extracts, the effect being greater in the methanolic extract.

Conclusion: The in vitro antibacterial effect of the ethanolic and methanolic extract of *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" will be developed on *Escherichia coli* ATCC 25922, in addition, a greater antibacterial effect will be developed in the methanolic extract.

I. INTRODUCCIÓN

Los microorganismos siempre han vivido con el ser humano en aparente simbiosis; pero algunos producen enfermedades que pueden ocasionar la muerte de las personas¹. Entre los microorganismos que han producido enfermedades comunes y ocasionado grandes problemas en la salud de las personas tenemos a *Escherichia coli*, a pesar que la mayoría de las cepas son inofensivas y vive en simbiosis en la flora digestiva del hombre, algunas cepas pueden llegar a ser altamente mortales, produciendo como cuadros clínicos diarreas sanguinolentas, cólicos estomacales, vómitos y fiebre².

Existen informes a nivel mundial que registran la gravedad de las infecciones que produce *Escherichia coli*; tal ese el caso, que en el continente Africano esta bacteria manifiesta un índice de contagio de 0.6 infectados por cada 10,000 habitantes, según los ultimo informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) junto con la Organización de las Naciones Unidas (FAO); cifra que ve incrementada en la región Mediterranea con 136 infectados por cada 100,000 habitantes³.

Así mismo, las estadísticas del aumento de casos por infecciones de *Escherichia coli* en Europa y América han reportado más de 50 muertes y cuantiosos daños económicos como es el caso de Alemania con una pérdida de 1,3 millones de dólares en el campo agro y la zona industrial, dejando una deuda 236 millones de deuda económica en la Unión Europea⁴.

Talvez las infecciones más graves que produce esta bacteria se observa en los niños donde se han registrado cifras de 0,8 a 2 millones de muertes. A nivel de Latinoamérica, en Colombia se han registrado muertes por infecciones con esta bacteria en niños de 0,8 a 2 millones⁵.

En el Perú, diversos estudios sobre esta bacteria, han demostrado que la resistencia que esta produce va en aumento, especialmente en las regiones rurales de Moyobamba y Urubamba⁶.

Esta situación nos muestra un grave problema actual con respecto a *Escherichia coli* y el problema de salud que presenta en la sociedad, ya que las tasas de resistencia hacen infectivos el tratamiento farmacológico contra las enfermedades ocasionadas por esta bacteria, por tal motivo, el presente estudio busca encontrar en *Minthostachys mollis* "Muña" una planta que pueda utilizarse como parte de la terapia curativa o preventiva e infecciones ocasionadas por la bacteria en estudio.

En tal sentido, se expone el problema general del estudio: ¿Presentará efecto antibacteriano in vitro el extracto etanólico y metanólico de *Minthostachys mollis* "muña" frente a *Escherichia coli* ATCC 25922? Del mismo modo, se plantearon las preguntas secundarias:

- ¿Presentará efecto antibacteriano in vitro el extracto etanólico del *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922?
- ¿Presentará efecto antibacteriano in vitro el extracto metanólico de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922?
- ¿Cuál de los extractos etanólico o metanólico de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" presentará mayor efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli* ATCC 25922?

Minthostachys mollis (Benth.) Griseb (MUÑA) es una planta que pertenece a la familia Lamiaceae, la cual presenta metabolitos activos como mentona pulegona, limoneno, beta caryofileno, bornyl acetato, entre otros. Estudios han identificado que la esencia extraída de esta especie vegetal en Ecuador determinó 19 metabolitos bioactivos mediante el cromatografo de gases acoplado a masas, entre estos metabolitos principales con un porcentaje de 29.34 ± 3.94% de neomentol, 24.00 ± 5.23% de mentona, 20.55 ± 3.33% de mentol y 8.96 ± 1.65% de piperitona⁷.

De la misma manera, otros estudios revelan que la esencia aromática de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb (MUÑA) obtenido por destilación de las hojas de *Minthostachys mollis* y analizada por GC y GC/MS, encontraron un aproximado

de veintiocho sustancias químicas que constituyen el 95% de la esencia. El componente principal fue la pulegona (75,2-79,3%)⁸.

Así mismo, *Escherichia coli* es un bacilo gram negativo, no forma espora y presenta movimientos debido a que presenta flagelos peritricos, tiene un tamaño aproximado de 0,5 micras de ancho por 3 micras de largo, son catalasas positivos y oxidasa negativos reducen los nitratos a nitritos y producen vitamina B y K, son comensales comunes de la flora intestinal del ser humano y animales, ha sido empleado en numerosas investigación en el campo médico sobre todo en la biotecnología del ADN recombinante⁹.

Rosembach en 1884, caracterizó por primera vez a este microorganismo bajo la descripción taxonómica siguiente: Dominio: Bacteria, Filo: firmicutes, Clase: Bacilli, Orden: Bacillales, Familia: Staphylococcaceae, Género: *Staphylococcus*, Especie: *S. aureus*. *Escherichia coli*¹⁰.

A nivel internacional tenemos al trabajo de investigación de Campo M., et al (2019), los que tuvieron por objetivo “evaluar la composición química y actividad antibacteriana in vitro contra *Staphylococcus aureus* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb”; la esencia aromática fue obtenida de partes vegetativas como flores y hojas de la especie oriundas de la sierra de Ecuador, las cuales se llevaron a un equipo de hidrodestilación; la esencia que se obtuvo fue analizada en el cromatógrafo de gases, el cual detecto una serie de metabolitos activos como: neomentol (32%), pulegona (28%), mentona (19%), geraniol (24%) y el citronelol (14,9%). En referencia a la actividad antibacteriana la esencia fue probada contra *Staphylococcus aureus* mediante el método Kirby-Bauer, visualizando en la placa Petri la formación de una zona de inhibición de 24mm y 26mm, lo que quiere decir que la Muña presenta actividad contra *S. aureus*¹¹.

López R. et al (2019), mediante su publicación propusieron “determinar el efecto conservante del aceite de *Minthostachys mollis* para prolongar la vida de las carnes de las hamburguesas”, para obtener el aceite se hizo uso de la técnica de hidrodestilación por arrastre de vapor, el aceite fue incorporado a las hamburguesas

en diferentes porcentajes, luego las muestras de hamburguesas fueron sembradas en cultivos nutritivos para observar la presencia de microorganismos como *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, observando que existió crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* en la muestra control negativo (sin aceite) y el crecimiento disminuyó en las muestras con aceite inversamente proporcional a la concentración del aceite, en ninguna muestra se observó presencia de *Salmonella*¹².

Además, Torrenegra M., et al (2017) en el estudio “evaluó la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*”, obtenida mediante hidrodestilación a partir de las hojas de la planta, el estudio fitoquímico del aceite se analizó mediante el Cromatógrafo de gases con detector de masas y la actividad antibacteriana se evaluó contra 3 bacterias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante la técnica de concentración mínima inhibitoria. Los resultados encontrados en la investigación demuestran que las tres bacterias estudiadas presentaron sensibilidad al aceite de muña, los compuestos identificados principalmente fueron el carvacrol y timol los cuales presentan reconocida actividad antibacteriana en numerosos estudios por lo que el estudio concluye que esta planta resulta ser promisorio para el tratamiento antibacteriano¹³.

A nivel nacional citaremos la publicación de Mayorga L. (2020) quien logró “determinar la capacidad antiinflamatoria y antibacteriana de un gel elaborado con el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) obtenida de la provincia de Puno”, la esencia se obtuvo por el método arrastre de vapor posteriormente se incorporó en la formulación farmacéutica de gel, el efecto antiinflamatorio se demostró aplicando la técnica de edema de pata y la determinación del efecto antibacteriano aplicando Kirby Bauer sobre *Staphylococcus aureus* TCC 25923 y *Escherichia coli* TCC 25922. Se mostraron la formación de zonas de inhibición de 9 mm para la concentración al 20%, 14 mm para el 40%, 16 mm para el 60%; 20 mm para el 80% y 25 mm para el 100%. El estudio confirmó que la formulación de la esencia

aromática de *Minthostachys mollis* (muña) se presenta como una alternativa antiinflamatoria y antibacteriana¹⁴.

También, Laura J. (2019), en su investigación sobre la “actividad antimicrobiana de los aceites de esenciales de *Eucaliptus globulus* (eucalipto) y *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Staphylococcus aureus* y *Coliformes fecales*”; la esencia aromática de las especies vegetales se extrajo por arrastre de vapor y para la evaluación antimicrobiana se aplicó la técnica difusión en disco. Los resultados obtenidos mostraron halos de inhibición para Coliformes fecales de 9.79mm, 10.74mm, 13.27mm para concentraciones al 25%, 50% y 75% respectivamente, frente a *Staphylococcus aureus* obtuvo halos de inhibición de 9.96mm, 10.74mm, 13.15mm para el 25%, 50% y 75% respectivamente, sin embargo al comparar los resultados se observó mayor efecto antibacteriano por parte del aceite de eucalipto contra estas bacterias¹⁵.

Por su parte, Mantilla S., Yupanqui E. (2018), mediante su trabajo de investigación lograron “determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*”, la esencia aromática fue obtenida por medio del método arrastre con vapor y la actividad inhibitoria utilizando la concentración mínima efectiva mediante el uso de pocillos de microcultivo en concentraciones de 320µg/mL, 160µg/mL, 80µg/mL, 40µg/mL, 20µg/mL, 10µg/mL, 5µg/mL y 2.5µg/mL. Se logró demostrar que la CMI que permite un crecimiento de los microorganismos del estudio corresponde a 40µg/mL para *Listeria monocytogenes* y 80µg/mL *Staphylococcus aureus*¹⁶.

Por lo tanto, se formula por objetivo general: Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico y metanólico de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. Del mismo modo, se plantearon los objetivos secundarios:

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto metanólico de *Minthoaschys mollis* "muña" al 100% y 50% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

Comparar el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólico y metanólico de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Así mismo, se formula la hipótesis del estudio: El extracto etanólico y metanólico de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" presenta efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, del mismo modo, las hipótesis secundarias planteadas son:

El extracto etanólico de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" 100% y 50% presenta efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

El extracto metanólico de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" 100% y 50% presenta efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

El extracto etanólico de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que el extracto metanólico frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de investigación

El estudio en referencia fue enmarcado con un enfoque cuantitativo, en ese sentido los datos recolectados presentaron valores o cantidades que se emplearon para desarrollar el análisis estadístico respectivo¹⁷.

Asu vez, el diseño correspondiente de la investigación fue experimental ya que existió influencia directa del investigador en las variables de experimentación¹⁸.

De la misma manera, los resultados del estudio fueron recogidos durante el transcurso de la ejecución, es decir, después del planteamiento del estudio, considerándose prospectivo, asimismo fue transversal, porque la información se recolectó en un solo periodo de tiempo¹⁸.

2.2 Población, muestra y muestreo

La población de estudio la conformó la especie vegetal *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" de procedencia del distrito la encañada, departamento de Cajamarca.

La muestra por su parte comprendió 2 kilogramos de la planta *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb "muña.

El tipo de muestreo aplicado fue no probabilístico por conveniencia, debido a que se eligió con anticipación la zona de recolección teniendo en cuenta factores de acceso, facilidad y disponibilidad de la muestra. Los criterios tomados en cuenta para seleccionar dicha muestra fueron:

Criterios de inclusión:

- Identificación taxonómica
- Muestra obtenida del lugar de recolección
- Muestra recolectada de la planta
- Muestras frescas

Criterios de exclusión:

- Muestras sin identificación taxonómica
- Muestras contaminadas
- Muestras recolectadas del suelo

2.3 Variables de investigación

Variable independiente: Extracto etanólico y metanólico de *Minthotaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña".

Definición conceptual: Producto solido o pastoso que contiene los metabolitos secundarios de la planta¹⁹

Definición operacional: Maceración de las hojas de *Minthotaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" con solventes (etanol y metanol) con posterior filtración y evaporación.

Variable dependiente: Efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 *in vitro*

Definición conceptual: efecto de un agente sobre un microorganismo que promueve o produce inhibición en su desarrollo²⁰.

Definición operacional: Medición del diámetro de las zonas de inhibición por medio de un instrumento lineal pie de rey u otro instrumento de medición.

2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos

Uno de los métodos utilizados en el estudio para recopilar datos sobre el efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 fue Difusión en pozo, por lo tanto mediante la observación y un instrumento de medición se dio lectura al tamaño de los halos formados en las placas Petri con agar²¹.

Como instrumento empleado en la investigación para medir los halos de inhibición fue el vernier digital, además, se utilizó una ficha para recopilar y dejar registrados los datos.

2.5 Plan de recolección de datos

2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos

Se coordinó anticipadamente el momento de la recolección de la muestra *Minthotachys mollis* "muña", con el propietario del terreno de cultivo de donde se recolectó la muestra para solicitar los permisos respectivos.

Se recolectaron dos muestras completas, se prensaron con papel periódico y enviaron al profesional especializado en botánica para su clasificación taxonómica.

2.5.2. Recolección de la muestra vegetal

La muestra de "muña" fue recogida durante las primeras horas en la mañana en una cantidad suficiente para realizar los análisis (2 kilogramos), luego fueron colocadas sobre papel Kraft y llevadas al laboratorio para iniciar su tratamiento.

Luego se retiraron las hojas de las ramas y seleccionaron aquellas estén dentro de los parámetros de inclusión y exclusión, dichas muestras seleccionadas fueron lavadas con abundante agua corriente y desinfectadas con una solución de hipoclorito de sodio al 0.5% para desinfectarla, luego de 10 minutos serán lavadas nuevamente con agua potable.

Las hojas fueron colocadas en una mesa sobre papel Kraft para que sequen en temperatura ambiente por 2 días, posteriormente se colocaron dentro de la estufa a una temperatura de 40°C y por 8 horas, de esa manera se logra su completo secado.

Se retiraron las hojas de la estufa y trituraron manualmente, posteriormente fueron llevadas a un molino de cuchillas para pulverizar la muestra.

Se tamizó la muestra en un tamiz ATSM Nro. 30 y recolectó en un frasco ámbar.

2.5.3. Preparación de los extractos etanólico y metanólico:

Se pesaron 1200 gramos del pulverizado obtenido anteriormente y se colocaron en igual cantidad (600 gr) en dos frascos de 4 litros ámbar.

Se agregó 1200 ml de etanol y metanol a cada frasco respectivamente, etiquetaron y dejaron en maceración por 10 días, se agitó cada 12 horas por 10 minutos para uniformizar la mezcla.

Trascurrido este periodo de tiempo se filtraron las muestras y llevaron a estufa hasta la evaporación completa del solvente por un tiempo aproximado de 8 horas.

2.5.5. Reactivación de la cepa de *Escherichia coli*:

La reactivación de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 fue realizada de acuerdo con los protocolos recomendados por el proveedor de la cepa ATCC, para lo cual se reconstituyó la cepa liofilizada y realizaron hisopados de la cepa, en estrías en agar medio selectivo MacConkey en placa Petri.

Se llevaron a incubación a $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, luego de los cuales se retiró la placa y verificó el crecimiento bacteriano.

2.5.6. Evaluación de la actividad microbiológica de los extractos etanólicos y metanólicos:

Se extrajeron dos a tres colonias de la placa reactivada con la cepa, y fueron diluidas en 10ml de agua destilada, posteriormente se hicieron diluciones sucesivas hasta obtener una turbidez parecida al patrón de 0.5 según McFarland.

Después, se hizo un sembrado con la técnica de estrías en el agar Müller Hinton contenidos en las placas Petri, luego se perforó el agar con un sacabocado de 6 mm de diámetro para formar 4 pozos dentro de cada placa para introducir los extractos al 50% y 100%, en otra placa se perforaron dos pozos lo que servirán para colocar los controles negativo y positivo del estudio.

En cada grupo se colocaron 30ul de la muestra y se llevaron a incubación a $35\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

A través de la observación se visualizaron las zonas de inhibición y se procedió a medirse con el vernier digital, los datos obtenidos fueron registrados en la ficha de recolección de datos.

2.6. Métodos de análisis estadísticos

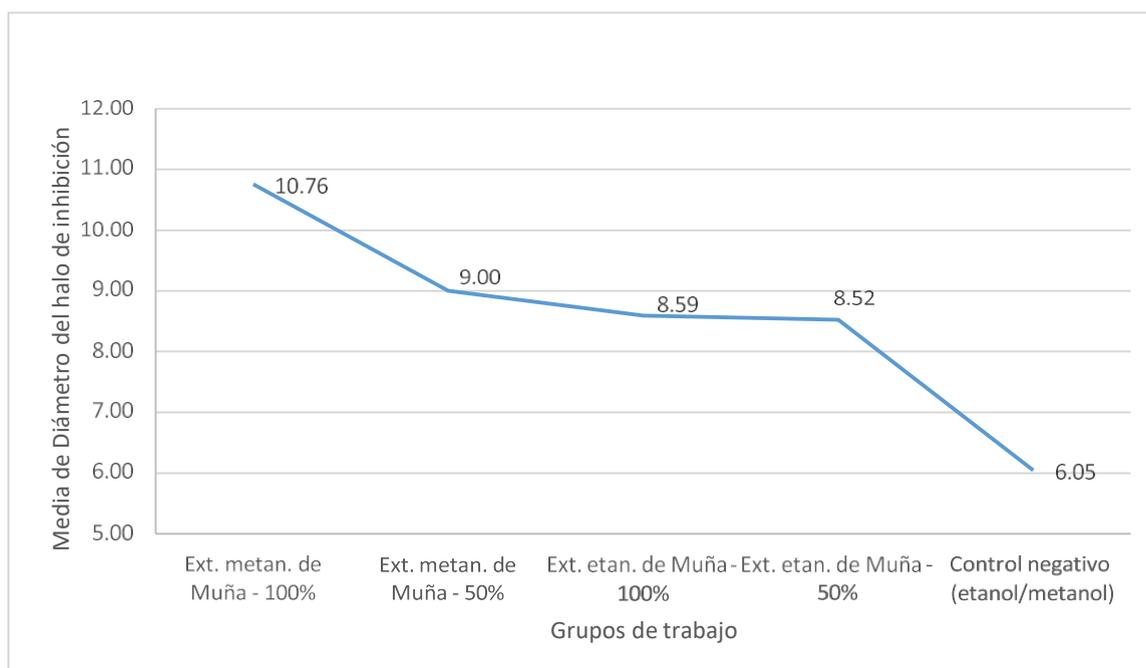
Los datos fueron procesados por medio de la estadística descriptiva e inferencial con un nivel de confianza del 95%, también, se aplicaron pruebas inferenciales de ANOVA y Tukey para la contrastación de la prueba de hipótesis.

2.7 Aspectos éticos

La investigación estuvo guiada por los principios éticos, por lo tanto se cumplió el Principio de no Maleficencia, en ese sentido, se tomaron las medidas necesarias para evitar lastimas o dañar irresponsablemente a los participantes o al medio ambiente con la eliminación de material incontaminado, para lo cual se emplearon equipos de protección personal necesarios y las muestras fueron eliminadas bajo protocolos de manejo de residuos sólidos biocontaminados^{22,23}.

III. RESULTADOS

Figura 1. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico, metanólico de *Minthotashys mollis* "muña" sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.



Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la Figura 1, se observa el efecto antibacteriano de los extractos etanólico y metanólico de *Minthotashys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, según el tamaño del halo de inhibición formado por estos, se puede apreciar una mayor zona de inhibición en los extractos metanólicos comparados con los extractos etanólicos; de igual manera, existe un efecto antibacteriano de los extractos sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 lo que se demuestra al comparar las zonas inhibitorias formados por el control negativo.

Tabla 1. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *Minthotaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922

Diámetro del halo de inhibición	Descriptivos							
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media Límite inferior	Límite superior	Mín	Máx
Ext. etan. de Muña - 100%	15	8,58	0,38	0,09	8,37	8,80	8,12	9,48
Ext. etan. de Muña - 50%	15	8,52	0,36	0,09	8,32	8,72	7,86	9,23
Control negativo (etanol/metanol)	15	6,04	0,33	0,03	5,97	6,11	5,89	6,27
Total	75	8,58	1,54	0,17	8,22	8,93	5,89	11,46

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la tabla 1, se demuestra los resultados obtenidos a partir de los datos recolectados para los grupos de los extractos etanólicos de *Minthotaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50%; el valor promedio obtenido de halos de inhibición para los extractos etanolicos fueron de 8,58 mm DS=0,38 para el 100% y de 8,52 mm DS=0,36 para el 50%, adiconalmente, el control negativo (etanol) fue de 6,04 mm DS=0,33; por lo que, se atreve a indicar que el extracto etanolico presenta efecto antimicótico sobre *Escherichia coli* ATCC 25922

Tabla 2. Efecto antibacteriano in vitro del extracto metanólico del *Minthotashys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922

Diámetro del halo de inhibición	Descriptivos							
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media Límite inferior	Límite superior	Mín	Máx
Ext. metan. de Muña - 100%	15	10,75	0,31	0,08	10,58	10,93	10,21	11,46
Ext. metan. de Muña - 50%	15	8,99	0,37	0,09	8,79	9,20	8,52	9,56
Control negativo (etanol/metanol)	15	6,04	0,33	0,03	5,97	6,11	5,89	6,27
Total	75	8,58	1,54	0,17	8,22	8,93	5,89	11,46

En la tabla 2, se comprueban los estadígrafos obtenidos a partir de los datos recolectados para los grupos de los extractos metanólicos de *Minthotashys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50%; el valor promedio obtenido de halos de inhibición para los extractos etanolicos fueron de 10,75 mm DS=0,31 para el 100% y de 8,99 mm DS=0,37 para el 50%; también, el control negativo (etanol) fue de 6,04 mm DS=0,33; por lo que, se atreve a indicar que el extracto etanolicos presenta efecto antimicótico sobre *Escherichia coli* ATCC 25922

Hipótesis de contrastación:

H1: El extracto metanólico *Minthotashys mollis* (Benth.) Griseb "muña" tiene mayor efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 que el extracto etanólico

H0: El extracto metanólico *Minthotashys mollis* (Benth.) Griseb "muña" no tiene mayor efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 que el

extracto etanólico

Tabla 3. Comportamiento normal de los grupos de tratamientos

Grupos de trabajo	Sh piro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Ext. metan. de Muña - 100%	0,975	15	0,921
Ext. metan. de Muña - 50%	0,912	15	0,144
Ext. etan. de Muña - 100%	0,913	15	0,152
Ext. etan. de Muña - 50%	0,969	15	0,838
Control negativo (etanol/metanol)	0,880	15	0,347

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

En la tabla 3, se puede observar el análisis realizado mediante el programa estadístico SPSS ver. 26, mediante la prueba de Shapiro-Wilk la cual permite determinar si los grupos de datos analizados presenten una distribución normal con un nivel de confianza del 95%; se observa que los niveles de significancia obtenida en la tabla superan el valor referencial de 0,05; por lo tanto, se confirma que todos los grupos de datos presentan una distribución.

Tabla 4. Análisis de la Varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	170,045	4	42,511	399,846	0,000
Dentro de grupos	7,442	70	0,106		
Total	177,487	74			

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

Se observa en la tabla 4, la prueba de ANOVA también conocida como análisis de la varianza, esta prueba permite determinar si existe diferencia significativa entre los grupos de datos analizados al comparar sus valores promedios obtenidos de los halos de inhibición y sus desviaciones estándar, al respecto se observa un valor $p=0,00$; lo cual indica que existe diferencia significativa entre los grupos de datos analizados, por lo cual se sugiere ampliar el estudio mediante la prueba de Tukey.

Tabla 5. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

Diámetro del halo de inhibición					
HSD Tukey ^a					
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Control negativo (etanol/metanol)	15	6,04			
Ext. etan. de Muña - 50%	15		8,52		
Ext. etan. de Muña - 100%	15		8,58		
Ext. metan. de Muña - 50%	15			8,99	
Ext. metan. de Muña - 100%	15				10,75
Sig.		1,000	0,982	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.

Fuente: SPSS ver. 26

Interpretación:

La tabla 5, se puede apreciar la aplicación de la prueba estadística paramétrica de Tukey; la cual permite determinar de manera comparativa en primer lugar el efecto antibacteriano de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al comparar los resultados obtenidos con el control negativo, así mismo, se muestran los efectos comparativos de ambos extractos (etanólico y metanólico), observándose que los extractos etanólicos de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" presentan efecto antibacteriano similar, a su vez estos presentan menor efecto antibacteriano que los extractos metanólicos al 50% y 100%, confirmando la hipótesis del estudio.

Conclusión:

Del análisis del efecto comparativo de los extractos etanólico y metanólico, se confirma que el extracto metanólico de *Minthoaschys mollis* "muña" presenta mayor efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 que el extracto etanólico, sin embargo, ambos presentan efecto antibacteriano

Tabla 6. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 15-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control negativo (etanol/metanol)	6,04			
Ext. etan. de Muña - 50%		8,52		
Ext. etan. de Muña - 100%		8,58		
Ext. metan. de Muna - 50%		8,99		
Ext. metan. de Muna - 100%		10,75		

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la tabla 6, se comparó las zonas de inhibición obtenidas por los grupos de trabajo, a la vez tomando como referencia la escala de Duraffourd, observándose que *Escherichia coli* ATCC 25922 presenta sensibilidad nula para el control negativo de metanol y etanol; así mismo se observa que esta bacteria es sensible a los todos los extractos etanólico y metanólico a las concentraciones estudiadas del 50% y 100%.

IV. DISCUSION

4.1. Discusion de resultados

Las infecciones bacterianas se han convertido nuevamente en una amenaza a nivel mundial y local en la vida del hombre, desde el descubrimiento de los antibióticos las tasas de mortalidad producto de las infecciones bacterianas disminuyeron en gran medida; sin embargo, la resistencia bacteriana nuevamente las ha puesto en la mira del sector salud, ocasionando además del incremento de la morbi-mortalidad, gastos económicos invaluable en los gobiernos. Una de las bacterias que protagoniza esta problemática es *Escherichia coli*, la cual presenta cepas altamente infectivas y mortales; en tal sentido, investigar alternativas de solución a problemas de salud es el fin de muchas investigación, por tal razón, el presente trabajo de investigación muestra a continuación los resultados encontrados en el estudio realizado en dos tipos de extractos, etanólico y metanólico los cuales fueron enfrentados a cultivos de *Escherichia coli* ATCC 25922 para determinar su efecto antibacteriano sobre esta bacteria; así mismo, se compara y discute resultados similares obtenidos en otras investigaciones.

Con respecto al objetivo general del estudio se logró determinar efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico y metanólico de las hojas de *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, dicho análisis se realizó mediante la comparación de los halos de inhibición obtenidos mediante el método de difusión en pozo de los extractos con el control negativo (etanol-metanol) y aplicando pruebas estadísticas para tener la certeza de dicha comparación.

El extracto etanólico del *Minthotachys mollis* "(Benth.) Griseb muña" al 100% y 50% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, obtuvo halos de inhibición de 8,58 mm DS=0,38 para el 100% y de 8,52 mm DS=0,36 para el 50%; por otro lado, el extracto metanólico del *Minthotachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% obtuvo halos de 10,75 mm DS=0,31 para el 100% y de 8,99 mm DS=0,37 para el 50%; al

comparar estos resultados con el control negativo (etanol) de 6,04 mm DS=0,33 se puede deducir que existe un efecto antibacteriano relativo en ambos extractos.

El análisis estadístico de los datos nos permitió confirmar el efecto antibacteriano de ambos extractos mediante las pruebas inferenciales de ANOVA y Tukey con una confianza del 95%, existiendo diferencias significativas entre los extractos metanólico y etanólico de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña"; sin embargo, no se observa diferencias significativas entre los extractos etanólicos de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 50% y 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, por otro lado, el efecto antibacteriano sobre esta bacteria se demostró ser superior en el extracto metanólico de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 50% y 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 comparado con el extracto etanólico, inclusive a la concentración más baja trabajada, lo que evidenciaría que el metanol empleados como solvente para extraer los metabolitos secundarios de *Minthoaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña" es más efecto que el etanol.

La comparación de la sensibilidad de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a los extractos evaluada mediante la escala de Duraffoourd mostró que esta bacteria presenta sensibilidad nula a el control negativo empleado (etanol - metanol), y es sensible a todos los extractos tanto metanólico como etanólicos a las concentraciones empleadas en el estudio.

La actividad antibacteriana del aceite esencial de esta planta también ha sido evaluada por Torrenegra M., et al (2017) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Escherichia coli* ATCC 25922, obteniendo resultados que confirman su actividad frente a estas bacterias, además atribuyen que unos de los metabolitos presentes en el aceite esencial son el carvacrol y timol los cuales tienen efecto antibacteriano demostrado, por otro lado, los resultados del estudio evidencia un leve efecto antibacteriano siendo mayor en el extracto metabólico, el cual tiene mayor afinidad para extraer principios lipofílicos que el etanol, esto confirmaría el efecto superior en el extracto metanólico.

Un estudio similar realizado en el aceite de flores y hojas de *Minthostachys mollis* Griseb por Campo M., et al (2019), contra *Staphylococcus aureus* encontró como metabolitos secundarios además neomentol (32,34 %), pulegona (28,42 %) y mentona (19,32 %), geraniol (24,93 %) y el citronelol (14,84 %) y demostró actividad antibacteriana mediante el método de difusión en disco con halos de 24 mm a 26 mm; se debe tener en cuenta al comparar ambos resultados que el aceite presentan evidentemente mayor efecto antibacteriano que los extractos metanólico y etanólico de la planta.

Así mismo, Laura J. (2019), en su investigación sobre la actividad antimicrobiana de los aceites de esenciales de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Staphylococcus aureus* y *Coliformes fecales*, observó halos de inhibición para *Coliformes fecales* de 9.79mm, 10.74mm, 13.27mm para las concentraciones de 25%, 50% y 75% respectivamente, frente a *Staphylococcus aureus* obtuvo halos de inhibición de 9.96mm, 10.74mm, 13.15mm para el 25%, 50% y 75% respectivamente, estos resultados se muestran superiores del mismo modo a los encontrados en nuestro estudio.

Por otro lado, se han realizado estudios aplicativos en el campo de los alimentos, como el trabajo realizado por López R., et al (2019), quienes evaluaron el efecto conservante en las carnes de hamburguesas del aceite de *Minthostachys mollis*, este estudio permitió demostrar disminución del crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Así mismo, otro estudio aplicado en formulaciones farmacéuticas fue realizado por Mayorga L. (2020) mediante la elaboración de un gel a base de aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) permitió demostrar el efecto antibacteriano mediante la técnica de Kirby Bauer sobre *Staphylococcus aureus* TCC 25923 y *Escherichia coli* TCC 25922 con la formación de halos de inhibición de halos de 9 mm para la concentración al 20%, 14 mm para el 40%, 16 mm para el 60%; 20 mm para el 80% y 25 mm para el 100% evidenciándose de igual manera como en otros estudios el poder antibacteriano de *Minthostachys mollis* (muña).

Las referencias encontradas del estudio refieren generalmente al aceite esencial *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb (muña) el cual si muestra numerosa literatura, razón por la cual se investigó sobre dos tipos de extractos de las hojas de la planta, al comparar nuestros resultados con otros estudios se evidencia que el aceite esencial presenta mayor efecto antibacteriano que los extractos estudiados; sin embargo, esto no motiva para que no se siga investigando estos extractos ya que si se encontró efecto antibacteriano y mediante técnicas de separación se puede potenciar el efecto de los extractos.

4.2. Conclusiones

Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante la valoración de los halos de inhibición formados de 8,58 mm DS=0,38 para el 100% y de 8,52 mm DS=0,36 para el 50%.

Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del extracto metanólico del *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante la valoración de los halos de inhibición formados de 10,75 mm DS=0,31 para el 100% y de 8,99 mm DS=0,37 para el 50%.

Al comparar el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólico y metanólico de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb "muña" frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 se demostró que ambos presentan efecto antibacteriano, siendo mayor el efecto del extracto metanólico de *Minthostachys mollis* "muña".

4.3. Recomendaciones

Evaluar el efecto antibacteriano de otros tipos de extractos y/o con diferentes métodos de extracción de *Minthothaschys mollis* (Benth.) Griseb "muña", así mismo, aplicarlo a diferentes tipos de bacterias u hongos.

Extender los análisis a estudios fitoquímicos y analíticos que determinen específicamente el tipo de metabolito que produce la acción antibacteriana.

Promover las investigaciones sobre los efectos antibacterianos y antimicóticos en especies vegetales a través de las universidades.

Fomentar el uso de las plantas medicinales como tratamiento alternativo inicial a diferentes infecciones o patologías.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Enfermedades infecciosas [Internet]. OMS. Disponible en: https://www.who.int/topics/infectious_diseases/es/
2. OMS | Brotes de origen alimentario: gestión de los riesgos. WHO. 2013;
3. OMS/FAO. Informe de la OMS/FAO sobre la evaluación del riesgo de E.coli productora de toxina Shiga [Internet]. Higiene Ambiental. 2018. Disponible en: <https://higieneambiental.com/higiene-alimentaria/informe-de-la-omsfao-sobre-la-evaluacion-del-riesgo-de-ecoli-productora-de-toxina-shiga>
4. Organización Panamericana de la Salud. Día Mundial de la Salud [Internet]. PAHO. 2015. Disponible en: https://www.paho.org/nic/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=datos-y-estadisticas&alias=694-boletin-informativo-sobre-inocuidad-de-los-alimentos&Itemid=235
5. Gómez O. Enfermedad diarreica aguda por Escherichia coli enteropatógenas. Rev Chil Infectología [Internet]. 2015;31(5):577-86. Disponible en: <https://www.scielo.cl/pdf/rci/v31n5/art10.pdf>
6. Alzamora MC, Echevarría AC, Ferraro VM, Riveros MD, Zambruni M, Ochoa TJ. Resistencia antimicrobiana de cepas comensales de Escherichia coli en niños de dos comunidades rurales peruanas. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 23 de septiembre de 2019;36(3):459. Disponible en: <https://rpmpesp.ins.gob.pe/index.php/rpmpesp/article/view/4366>
7. Alkire B, Tucker A, Maciarelo M. Tipo, *minthostachys mollis* (lamiaceae): an ecuadorian mint. Econ Bot 1994 481 [Internet]. enero de 2014 [citado 12 de marzo de 2022];48(1):60-4. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02901380>
8. Rojas LB, Usubillaga AN. Essential Oil of *Minthostachys mollis* Grisebach from Venezuela. <http://dx.doi.org/10.1080/1041290519959698503> [Internet].

2011 [citado 12 de marzo de 2022];7(2):211-3. Disponible en:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.1995.9698503>

9. FAO. Prevención de la E.coli en los alimentos. El Marco Gestión Cris para la Cadena Aliment [Internet]. 2011;4-13. Disponible en:
http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Preventing_Ecoli_es.pdf
10. Rosenthal M. Microbiología Médica. 7ma ed. Madrid - España: Elsevier; 2013.
11. Campo M, Ambuludí D, Cepeda N, Márquez I, San Martín D, Cuesta O. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb contra *Staphylococcus aureus* [Internet]. Revista Cubana de Farmacia. 2019. Disponible en:
<http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/183/175>
12. López R, Pino P, Zambrano T, Paredes R. Utilización de aceites esenciales de la planta tipo (*Minthostachys mollis*) para la conservación de carne de hamburguesa. Cienc Digit. 2019;3(2.6):332-48.
13. Torrenegra M, Granados C, Durán M, León G, Yáñez X, Martínez C, et al. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. Orinoquia [Internet]. 2017;20(1):69-74. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/896/89647074008.pdf>
14. Mayorga L. Elaboración de un gel antiinflamatorio y antibacteriano a base de Muña (*Minthostachys mollis*) realizado en el Laboratorio del Centro Médico Universitario Pedro P. Díaz de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. [Internet]. Universidad Nacional de San Agustín; 2020. Disponible en:
<http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/11152/UPmarulj1.pdf?sequence=3>
15. Laura J. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales de eucalipto (*Eucaliptus globulus*), muña (*Minthostachys mollis*) frente a *Staphylococcus aureus* y Coliformes fecales [Internet]. Universidad

Peruana Unión; 2019. Disponible en:
<http://repositorio.upeu.edu.pe/handle/UPEU/2671>

16. Mantilla S, Yupanqui E. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2018. Disponible en:
https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNIT_97947b21570e3f8f3ee4a865d2aceb3f/Details
17. Otero A. Criterios epistemológicos y metodológicos para la fundamentación de estudios sobre el desarrollo urbano regional en el Caribe Colombiano. En: Enfoques de Investigación [Internet]. 2018 [citado 13 de noviembre de 2021]. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/326905435_ENFOQUES_DE_INVESTIGACION/link/5b6b7f9992851ca650526dfd/download
18. Pavón P, Gogeochea M. Metodología de la Investigación II. Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias de la Salud [Internet]. 2014;44. Disponible en:
<http://sapp.uv.mx/univirtual/especialidadesmedicas/mi2/modulo1/docs/Diseñosde...pdf>
19. Morales M. Laboratorio tecnología farmacéutica III. Lima, Peru; 2015.
20. Carballo M, Guelmes E. Algunas consideraciones acerca de las variables en las investigaciones que se desarrollan en educación. *Rev Univ y Soc* [Internet]. 2016;8(1):140-50. Disponible en:
<http://scielo.sld.cu/pdf/rus/v8n1/rus20116.pdf>
21. Maye B, Miguel G. El antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer. *Biomedica*. 2018;35(1):103-9.
22. Zurita S, Urcia F. Manual De Procedimientos Técnicos Para El Diagnóstico Micológico [Internet]. 2017. 139 p. Disponible en:
[https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual de](https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual%20de)

procedimientos tecnicos para el diagnostico
micologico.final.pdf?sequence=1

23. Weldefort AA De, Fernández SEC. Manejo de Residuos Peligrosos/Biomédicos en los Laboratorios de Diagnóstico Universitarios. PAHO. 2016;

ANEXO

Anexo A. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Placa	Extracto metanólico de <i>Minthotaschys mollis</i> "muña"		Extracto etanólico del <i>Minthotaschys mollis</i> "muña"		Control Negativo
	100%	50%	100%	50%	
1	10,71	8,98	8,65	8,43	6,09
2	10,96	9,45	9,02	8,62	5,90
3	10,82	8,54	8,12	8,65	5,97
4	11,06	9,56	8,32	8,49	6,16
5	11,00	9,18	8,31	8,87	6,21
6	11,46	9,43	8,25	9,23	6,03
7	10,45	8,84	9,01	8,51	6,19
8	10,92	8,54	9,48	8,61	5,96
9	10,21	8,93	8,24	7,90	6,27
10	10,29	9,03	8,60	8,91	5,98
11	10,88	9,47	8,44	7,86	5,93
12	10,61	8,52	8,28	8,26	6,23
13	10,71	8,55	8,79	8,28	5,94
14	10,67	8,77	8,88	8,78	5,89
15	10,59	9,16	8,45	8,46	5,93

Anexo B. Matriz de consistencia

EFFECTO ANTIBACTERIANO in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO, METANÓLICO DE *Minthotachys mollis* "Muña" sobre SOBRE *Escherichia coli* ATCC 25922

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Presentará efecto antibacteriano in vitro el extracto etanólico y metanólico de <i>Minthotachys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico y metanólico de <i>Minthotachys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	El extracto etanólico y metanólico de <i>Minthotachys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" presenta efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Presentará efecto antibacteriano in vitro el extracto etanólico del <i>Minthotachys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico del <i>Minthotachys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50% frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	El extracto etanólico de <i>Minthotachys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" 100% y 50% presenta efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
¿Presentará efecto antibacteriano in vitro el extracto metanólico de <i>Minthotachys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50%	Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto metanólico de <i>Minthotachys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" al 100% y 50%	El extracto metanólico de <i>Minthotachys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" 100% y 50% presenta efecto antibacteriano in vitro frente a

frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<p>¿Cuál de los extractos etanólico o metanólico de <i>Minthotaschys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" presentará mayor efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?</p>	<p>Comparar el efecto antibacteriano in vitro de los extractos etanólico y metanólico de <i>Minthotaschys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>	<p>El extracto etanólico de <i>Minthotaschys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña" presenta mayor efecto antibacteriano in vitro que el extracto metanólico frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>

Anexo C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
Extracto etanólico, metanólico de <i>Minthotachys mollis</i> (Benth.) Griseb "muña"	Producto que contiene metabolitos secundarios de la planta	Solución obtenida por medio de la acción con alcoholes	Concentraciones	100 50	Ordinal	2	%
Efecto antibacteriano o in vitro sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Muerte o inhibición del crecimiento de la bacteria	Relación en función del tamaño del halo de inhibición formado	Diámetro del halo de inhibición	≤ 8mm 8mm a 14mm 15mm a 20mm > a 20mm	Ordinal	4	Nula Sensible Medio Muy sensible

Anexo D. Certificado de la especie vegetal en estudio

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

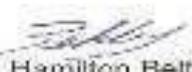
CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "MUÑA" proporcionada por los Bachilleres, LESLY TANTALEAN MARIN y BAKER JARRY GARCÍA GÓMEZ, Tesisistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Lamiales
Familia: Lamiaceae
Género: *Minthostachys*
Especie: *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb

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

Lima, 04 abril 2022


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton W. Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
C.R. 158

Anexo E. Certificado de calidad de la especie microbiológica



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0336 Lot Number: 335-508** Reference Number: ATCC® 25922™** Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L. Bowman Release Date: 2020/4/8
Performance	
Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough	Medium: SBAP
Microscopic Features: Gram negative straight rod	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	
<p><small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p>	
<p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p>	
<p><small>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p>	
<p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p>	
 ACCREDITED REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02	(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.
 ACCREDITED TESTING CERT #2655.01	(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Run Creation Date/Time: 2020-03-27T11:51:17.542 KLH

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

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-506	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

Anexo F. Evidencias fotográficas del estudio

Figura 2. Especie vegetal en estudio - *Minthotachys mollis* "Muña"



Figura 3. Recolección de la muestra vegetal



Figura 4. Aplicación de los criterios de inclusión y exclusión en la selección de la planta



Figura 5. Lavado y desinfección de la muestra vegetal



Figura 6. Secado y deshidratación de la planta en estufa



Figura 7. Pulverizado y tamizado de las hojas de *Minthotashchys mollis* "Muña"





Figura 8. Proceso de maceración de las hojas de la planta



Figura 9. Filtración del macerado de la planta



Figura 10. Evaporación del solvente en estufa



Figura 11. Preparación de los extractos a diferentes concentraciones



Figura 12. Activación de la cepa bacteriana



Figura 13. Preparación del inóculo a escala de 0.5 McFarland



Figura 14. Sembrado en placa del inóculo

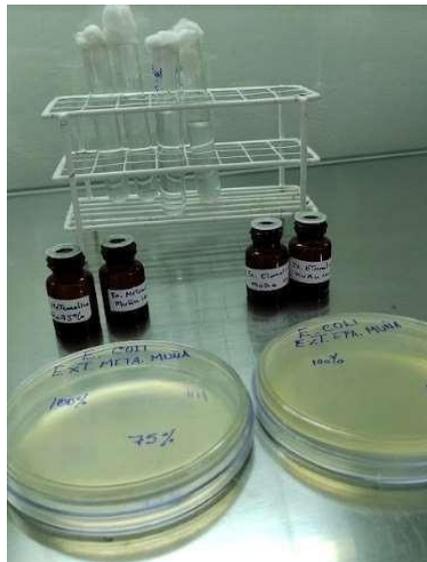


Figura 15. Aplicación de los extractos

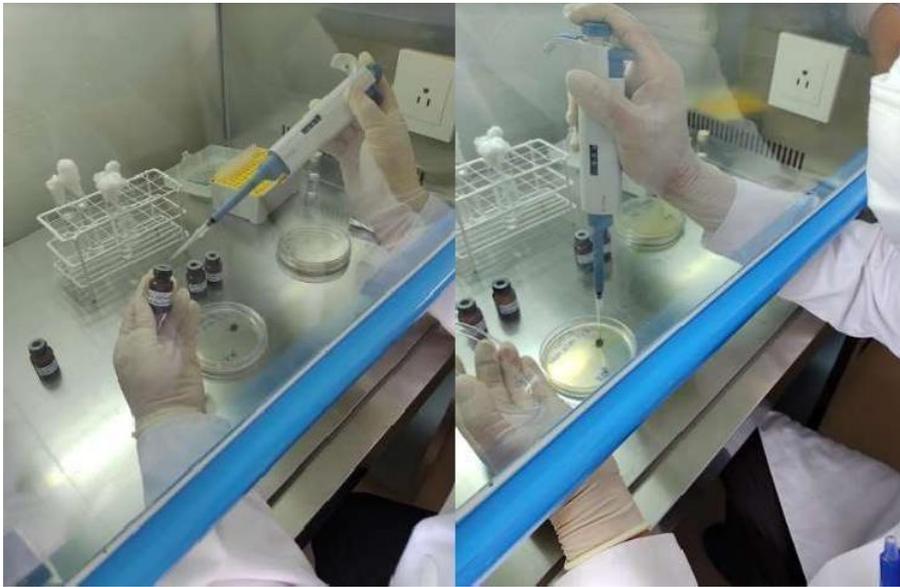


Figura 16. Incubación de placas



