

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica
Especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

Tesis

**Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha
spicata* L. sobre *Escherichia coli* Realizado en el
laboratorio de Blue Medical, Arequipa 2022**

Flor Vanessa Chunga Mamani
Sandra Lisbeth Guzman Gutierrez
Claudia Carmen Luque Mendoza

Para optar el Título Profesional de
Licenciada en Tecnología Médica con Especialidad
en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

Arequipa, 2023

Repositorio Institucional Continental
Tesis digital



Esta obra está bajo una Licencia "Creative Commons Atribución 4.0 Internacional" .

INFORME DE CONFORMIDAD DE ORIGINALIDAD DE TESIS

A : Dra. Claudia María Teresa Ugarte Taboada
Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud

DE : Mg. María Esther Lázaro Cerrón
Asesor de tesis

ASUNTO : Remito resultado de evaluación de originalidad de tesis

FECHA : 13 de Julio de 2023

Con sumo agrado me dirijo a vuestro despacho para saludarlo y en vista de haber sido designado asesor de la tesis titulada: "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Mentha spicata* L. SOBRE *Escherichia coli* REALIZADO EN EL LABORATORIO DE BLUE MEDICAL, AREQUIPA 2022", perteneciente al/la/los/las estudiante(s) Flor Vanessa Chunga Mamani, Sandra Lisbeth Guzman Gutierrez, y Claudia Carmen Luque Mendoza, de la E.A.P. de Tecnología Médica - Especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica; se procedió con la carga del documento a la plataforma "Turnitin" y se realizó la verificación completa de las coincidencias resaltadas por el software dando por resultado 18 % de similitud (informe adjunto) sin encontrarse hallazgos relacionados a plagio. Se utilizaron los siguientes filtros:

- Filtro de exclusión de bibliografía SI NO
- Filtro de exclusión de grupos de palabras menores (Nº de palabras excluidas: 30) SI NO
- Exclusión de fuente por trabajo anterior del mismo estudiante SI NO

En consecuencia, se determina que la tesis constituye un documento original al presentar similitud de otros autores (citas) por debajo del porcentaje establecido por la Universidad.

Recae toda responsabilidad del contenido de la tesis sobre el autor y asesor, en concordancia a los principios de legalidad, presunción de veracidad y simplicidad, expresados en el Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales – RENATI y en la Directiva 003-2016-R/UC.

Esperando la atención a la presente, me despido sin otro particular y sea propicia la ocasión para renovar las muestras de mi especial consideración.

Atentamente,



Asesor de tesis

DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD

Yo, Flor Vanessa Chunga Mamani, identificado(a) con Documento Nacional de Identidad No. 41846402, de la E.A.P. de Tecnología Médica - Especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias de la Salud la Universidad Continental, declaro bajo juramento lo siguiente:

1. La tesis titulada: "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Mentha spicata* L. SOBRE *Escherichia coli* REALIZADO EN EL LABORATORIO DE BLUE MEDICAL, AREQUIPA 2022 ", es de mi autoría, la misma que presento para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica con especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica.
2. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas, por lo que no atenta contra derechos de terceros.
3. La tesis es original e inédita, y no ha sido realizado, desarrollado o publicado, parcial ni totalmente, por terceras personas naturales o jurídicas. No incurre en autoplagio; es decir, no fue publicado ni presentado de manera previa para conseguir algún grado académico o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, pues no son falsos, duplicados, ni copiados, por consiguiente, constituyen un aporte significativo para la realidad estudiada.

De identificarse fraude, falsificación de datos, plagio, información sin cita de autores, uso ilegal de información ajena, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a las acciones legales pertinentes.

11 de julio del 2023.



Flor Vanessa Chunga Mamani

DNI. No. 41846402

DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD

Yo, Sandra Lisbeth Guzman Gutierrez, identificado(a) con Documento Nacional de Identidad No. 72312123, de la E.A.P. de Tecnología Médica - Especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias de la Salud la Universidad Continental, declaro bajo juramento lo siguiente:

5. La tesis titulada: ""EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Mentha spicata* L. SOBRE *Escherichia coli* REALIZADO EN EL LABORATORIO DE BLUE MEDICAL, AREQUIPA 2022 ", es de mi autoría, la misma que presento para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica con especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica.
6. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas, por lo que no atenta contra derechos de terceros.
7. La tesis es original e inédita, y no ha sido realizado, desarrollado o publicado, parcial ni totalmente, por terceras personas naturales o jurídicas. No incurre en autoplagio; es decir, no fue publicado ni presentado de manera previa para conseguir algún grado académico o título profesional.
8. Los datos presentados en los resultados son reales, pues no son falsos, duplicados, ni copiados, por consiguiente, constituyen un aporte significativo para la realidad estudiada.

De identificarse fraude, falsificación de datos, plagio, información sin cita de autores, uso ilegal de información ajena, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a las acciones legales pertinentes.

11 de Julio de 2023.



Sandra Lisbeth Guzman Gutierrez

DNI. No. 72312123

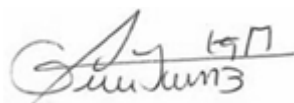
DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD

Yo, Claudia Carmen Luque Mendoza, identificado(a) con Documento Nacional de Identidad No. 71945618, de la E.A.P. de Tecnología Médica - Especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica de la Facultad de Ciencias de la Salud la Universidad Continental, declaro bajo juramento lo siguiente:

9. La tesis titulada: ""EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Mentha spicata* L. SOBRE *Escherichia coli* REALIZADO EN EL LABORATORIO DE BLUE MEDICAL, AREQUIPA 2022 ", es de mi autoría, la misma que presento para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica con especialidad en Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica.
10. La tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas, por lo que no atenta contra derechos de terceros.
11. La tesis es original e inédita, y no ha sido realizado, desarrollado o publicado, parcial ni totalmente, por terceras personas naturales o jurídicas. No incurre en autoplagio; es decir, no fue publicado ni presentado de manera previa para conseguir algún grado académico o título profesional.
12. Los datos presentados en los resultados son reales, pues no son falsos, duplicados, ni copiados, por consiguiente, constituyen un aporte significativo para la realidad estudiada.

De identificarse fraude, falsificación de datos, plagio, información sin cita de autores, uso ilegal de información ajena, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a las acciones legales pertinentes.

11 de Julio de 2023.



Claudia Carmen Luque Mendoza

DNI. No. 71945618

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Mentha spicata* L. SOBRE *Escherichia coli* REALIZADO EN EL LABORATORIO DE BLUE MEDICAL, AREQUIPA 2022

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

18%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

7%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

5%

★ es.slideshare.net

Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 15 words

Excluir bibliografía

Activo

Dedicatoria

A Dios, por darme salud, sabiduría y fuerza para lograr este proyecto.

A mis amados padres Fredy y Antonia.

Sandra Lisbeth.

A Dios, por brindarme la fuerza dedicación y constancia.

A mis padres Justo y Nila.

A mis queridas hermanas, Ana, Isabel y Rocío.

Flor Vanessa.

A Dios, por permitirme llegar tan lejos.

A mi amada madre Carmen.

A la memoria de mi amado padre Fermín.

Claudia Carmen.

Agradecimientos

A Dios, por habernos acompañado en todo momento.

A nuestra asesora de tesis Mg. María Lázaro Cerrón, quien supo guiarnos en la ejecución del proyecto.

A nuestras familias que son motor y motivo para seguir avanzando.

Al laboratorio Blue Medical, quien nos apoyó en la investigación.

A todas las personas que directa o indirectamente fueron parte de la culminación de este trabajo.

A la Universidad Continental y a la Escuela Profesional de Tecnología Médica, por abrirnos sus puertas para culminar satisfactoriamente nuestra carrera profesional.

Las autoras.

Índice

Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos	iii
Índice.....	iv
Índice de Tablas	vi
Índice de Figuras.....	vii
Resumen.....	viii
Abstract.....	ix
Introducción	x
Capítulo I Planteamiento del Estudio.....	11
1.1. Delimitación de la Investigación.....	11
1.1.1. Delimitación Territorial.....	11
1.1.2. Delimitación Temporal.	11
1.1.3. Delimitación Conceptual.....	11
1.2. Planteamiento del Problema.....	11
1.3. Formulación del Problema	12
1.3.1. Problema General.....	12
1.3.2. Problemas Específicos.....	12
1.4. Objetivos de la Investigación	13
1.4.1. Objetivo General.	13
1.4.2. Objetivos Específicos.....	13
1.5. Justificación de la Investigación.....	13
1.5.1. Justificación Teórica.	13
1.5.2. Justificación Práctica.....	14
Capítulo II Marco Teórico	15
2.1. Antecedentes de la Investigación	15
2.1.1. Antecedentes Internacionales.....	15
2.1.2. Antecedentes Nacionales.....	17
2.2. Bases Teóricas.....	18
2.2.1. Aceite Esencial de <i>Mentha spicata</i>	18
2.2.2. Criterios de un Aceite Esencial.	19
2.2.3. Clasificación de los Aceites Esenciales.....	19
2.2.4. Obtención de los Aceites Esenciales.....	20
2.2.5. <i>Mentha spicata</i> L. (Hierbabuena).....	21
2.3. Definición de Términos Básicos	27
Capítulo III Hipótesis y Variables.....	28
3.1. Hipótesis.....	28

3.1.1. Hipótesis General	28
3.1.2. Identificación de Variables.....	28
3.1.3. Operacionalización de Variables.....	28
Capítulo IV Metodología	30
4.1. Método, Tipo y Nivel de la Investigación	30
4.1.1. Método de la Investigación.	30
4.1.2. Tipo de la Investigación	30
4.1.3. Nivel de la Investigación.....	30
4.2. Diseño de la Investigación	30
4.3. Población y Muestra.....	31
4.3.1. Población.....	31
4.3.2. Muestra.....	31
4.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	31
4.4.1. Técnicas.....	31
4.4.2. Instrumentos de Recolección de Datos.	32
4.4.3. Procedimiento de la Investigación.	32
4.5. Consideraciones Éticas.....	37
Capítulo V Resultados	38
5.1. Presentación de Resultados	38
5.2. Discusión de Resultados.....	40
Conclusiones	44
Recomendaciones.....	46
Referencias Bibliográficas	48
Anexos	53

Índice de Tablas

Tabla 1. Propiedades de la <i>Mentha spicata</i>	22
Tabla 2. Matriz de operacionalización de variables.....	29
Tabla 3. Halos de inhibición del efecto antibacteriano de la <i>Mentha spicata L.</i> sobre la <i>Escherichia coli</i> enteropatógena.	38
Tabla 4. Estadística descriptiva obtenida de los halos de inhibición por grupo de análisis ...	39
Tabla 5. Indicadores	39

Índice de Figuras

Figura 1. Destilación por vapor.....	20
Figura 2. Clasificación taxonómica.	21
Figura 3. Distribución de sensible, intermedio y resistente.	39
Figura 4. Distribución de las medias de halos de inhibición por cada tratamiento.	40
Figura 5. Recolección de la <i>Mentha spicata</i>	63
Figura 6. Eliminación de las hojas en mal estado.	64
Figura 7. Extracción de aceite esencial por arrastre de vapor.	64
Figura 8. Proceso de la elaboración del aceite esencial de <i>Mentha spicata</i>	65
Figura 9. Halo de inhibición de Tween 0 % a las 48 horas.....	65
Figura 10. Halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 20 % a las 48 horas.	66
Figura 11. Halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 40 % a las 48 horas.	67
Figura 12. Halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 60 % a las 48 horas.	67
Figura 13. Halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 80 % a las 48 horas.	68
Figura 14. Halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 100 % a las 48 horas.	68
Figura 15. Halo de inhibición del control positivo cloranfenicol a las 48 horas.....	69

Resumen

El objetivo general del trabajo fue determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la *Mentha spicata L.* sobre la bacteria *Escherichia coli* realizado en el laboratorio Blue Medical de la ciudad de Arequipa en el 2022. La metodología señala que el enfoque utilizado es cuantitativo y aplicada, el nivel explicativo y diseño experimental. La técnica empleada fue la observación directa, y el formato de recolección de datos. La población estuvo conformada por 70 placas inoculadas por la bacteria *Escherichia coli* enteropatógena, donde la enfrentamos al aceite esencial de *Mentha spicata L.* En el grupo control se empleó el cloranfenicol, el muestreo fue censal (70 placas). Los resultados indican que en las concentraciones del 80 % y 100 % se logró un mayor efecto antibacteriano, el promedio del efecto antibacteriano al 100 % tuvo un halo de inhibición de $19,050 \pm 0,6852$ mm, al 80 % fue de $17,780 \pm 0,4131$ mm, el aceite 60 % obtuvo un valor promedio $16,500 \pm 0,5774$ mm, seguido del aceite al 40 % con $14,550 \pm 0,5986$ mm, terminando con el aceite al 20 % $11,700 \pm 0,9189$ mm. Por otro lado, el control negativo (Tween 80) 0 %, su halo de inhibición que obtuvo es de $7 \pm 0,0$ mm, y el control positivo cloranfenicol obtuvo un halo $26,50 \pm 0,527$ mm. En conclusión, el aceite esencial de *Mentha spicata L.*, tiene efecto antibacteriano sobre la *Escherichia coli* enteropatógena, se aprecia que los valores de los halos de inhibición mediante el método excavación placa, están entre los valores límite y sumamente sensible, para las concentraciones del 80 % y 100 %.

Palabras claves: aceite esencial, *Mentha spicata L.* *Escherichia coli*.

Abstract

The general objective of the work was to determine the antibacterial effect of the essential oil of *Mentha spicata L.* on *Escherichia coli* bacteria carried out in the Blue Medical laboratory in the city of Arequipa in 2022. The methodology indicates that the approach used is quantitative and applied, explanatory level and experimental design. The technique used was direct observation and the data collection format. The population consisted of 70 plates inoculated with enteropathogenic *Escherichia coli* bacteria, where we confronted them with *Mentha spicata L.* essential oil. Chloramphenicol was used in the control group, the sampling was census (70 plates). The results indicate that in the concentrations of 80 % and 100 % a greater antibacterial effect was achieved, the average antibacterial effect at 100 % had an inhibition halo of 19.050 ± 0.6852 mm, at 80 % was 17.780 ± 0.4131 mm, the 60 % oil obtained an average value of 16.500 ± 0.5774 mm, followed by the 40 % oil with 14.550 ± 0.5986 mm, ending with the 20 % oil with 11.700 ± 0.9189 mm. On the other hand, the negative control (Tween 80) 0 %, its inhibition halo obtained was 7 ± 0.0 mm, and the positive control chloramphenicol obtained a halo of 26.50 ± 0.527 mm. In conclusion, the essential oil of *Mentha spicata L.*, has antibacterial effect on enteropathogenic *Escherichia coli*, it can be seen that the values of the inhibition halos by the plate excavation method, are between the limit values and highly sensitive, for concentrations of 80% and 100%.

keywords: essential oil, *Mentha spicata L.* *Escherichia coli*.

Introducción

Las infecciones por *Escherichia coli* es un problema notable a nivel mundial, tanto en infecciones urinarias como en infecciones gastrointestinales que afecta la salud de la población como a la economía de la misma. El uso indiscriminado de antibióticos sin prescripción médica, en general la automedicación, el manejo a nivel de las boticas y/o farmacias, que expenden sus medicamentos por dosis, llevan a la resistencia a los antibióticos, al no cumplir con el tratamiento completo y sin la realización del aislamiento bacteriano mediante los cultivos y sus respectivos antibiogramas. Esta investigación presenta una alternativa natural al tratamiento de infecciones causada por la *Escherichia coli* (1).

Por lo tanto, se tomaron como base para nuestro estudio, una serie de antecedentes y hallazgos de investigaciones previas, que de alguna manera son relevantes para las variables de nuestro estudio a nivel internacional y nacional.

El problema general de la investigación es el siguiente ¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha spicata L.* contra *Escherichia coli* enteropatógena realizado en el laboratorio Blue Medical de la ciudad de Arequipa en el 2022?

La presente investigación se justifica en demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la *Mentha spicata L.*, ya que estos extractos y aceites, podrían ser una alternativa de tratamiento frente a los medicamentos ya empleados, con la finalidad de promover futuras investigaciones y utilizar los aceites esenciales como componente natural en procesos bacterianos.

El informe se estructuró de la siguiente manera: en el capítulo I se presentan las limitaciones de la investigación, el planteamiento y la formulación del problema general y específicos, el objetivo general y específicos, y las justificaciones teóricas y prácticas.

En el capítulo II se presenta el marco teórico, los antecedentes de investigación, los fundamentos teóricos y definiciones de términos básicos. En el capítulo III se expone la hipótesis, la identificación de variables y su operacionalización. El capítulo IV señala el marco metodológico, el método, tipo, nivel y diseño de investigación; la población, técnicas y equipo de recolección de muestras y datos, procedimientos de investigación y consideraciones éticas.

En el capítulo V se presentan los resultados y la discusión. Finalmente las conclusiones, recomendaciones y anexos.

La autoras.

Capítulo I

Planteamiento del Estudio

1.1. Delimitación de la Investigación

1.1.1. Delimitación Territorial.

La investigación se desarrolló en el laboratorio del Centro Médico Blue Medical de la ciudad de Arequipa, Perú.

1.1.2. Delimitación Temporal.

La investigación se realizó en los meses de abril a noviembre del 2022.

1.1.3. Delimitación Conceptual.

La investigación se concentró en la demostración del efecto bactericida del aceite esencial de la *Mentha spicata L.* sobre la *Escherichia coli* enteropatógena, haciendo uso de un grupo control en la que se enfrenta al cloranfenicol sobre la mencionada bacteria.

1.2. Planteamiento del Problema

Los antibióticos, son medicamentos que combaten las infecciones ocasionadas por bacterias, eliminando o inhibiendo su crecimiento y multiplicación. Se usan a nivel mundial, en la primera línea de batalla para combatir un sin número de enfermedades bacterianas (2).

Sin embargo, el mal uso de los antibióticos en el tratamiento de enfermedades ha ocasionado impacto en la población, determinando así la resistencia a los antibióticos y dando menos posibilidad a la población, conllevando a los diferentes cambios en el perfil de sensibilidad y resistencia antibiótica (2).

El problema de investigación surge de la necesidad de buscar una alternativa en la medicina complementaria y comprobar el efecto antibacteriano de plantas como el aceite

esencia de la *Mentha spicata L.*, en las cepas de la *Escherichia coli* enteropatógena, mediante la medición de los halos de inhibición, que determinarían la susceptibilidad del mismo, lo que podría resultar un beneficio para la salud y servir de base a futuras investigaciones (3).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la medicina tradicional y/o alternativa es con frecuencia subestimada en los servicios de salud. En algunos países, la medicina tradicional o medicina no convencional suele denominarse medicina complementaria. Durante el paso del tiempo, la medicina tradicional se ha utilizado para mantener la salud, y prevenir y tratar enfermedades, en particular enfermedades crónicas (4).

Actualmente, las contingencias en la medicación se ven considerablemente afectadas, en primer lugar, porque los antibióticos comunes, han hecho resistencia antibiótica en pacientes, dejando cada vez menos posibilidades de que un antibiótico haga efecto frente a una enfermedad (5). En el Perú, una de las bacterias con preponderante asistencia en hospitales y fuera de ellos, es la enterobacteria *Escherichia coli*, ejecutora de la mayor cantidad de enfermedades y que han originado cepas resistentes.

Desde periodos antiguos se ha empleado la medicina natural como elección eficiente, partiendo de la premisa en la que Alexander Fleming descubrió la penicilina a partir de un cultivo contaminado con la cepa de un hongo *Penicillium notatum* que inhibieron el crecimiento de una bacteria en aquel entonces, vemos la importancia de investigar las propiedades de plantas para el beneficio de la salud (6).

1.3. Formulación del Problema

1.3.1. Problema General.

¿Cuál es el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha spicata L.* contra *Escherichia coli* realizado en el laboratorio de Blue Medical de la ciudad de Arequipa en el 2022?

1.3.2. Problemas Específicos.

1. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 20 % a las 48 horas?
2. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 40 % a las 48 horas?
3. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata*

L. al 60 % a las 48 horas?

4. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata*

L. al 80 % a las 48 horas?

5. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata*

L. al 100 % a las 48 horas?

6. ¿Cuál es el efecto antibacteriano del cloranfenicol a las 48 horas?

1.4. Objetivos de la Investigación

1.4.1. Objetivo General.

Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la *Mentha spicata L.* sobre la bacteria *Escherichia coli* realizado en el laboratorio de Blue Medical de la ciudad de Arequipa en el 2022.

1.4.2. Objetivos Específicos.

1. Determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 20 % sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas.

2. Determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 40 % sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas.

3. Determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 60 % sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas.

4. Determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 80 % sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas.

5. Determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 100 % sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas.

6. Comparar el efecto antibacteriano del aceite *Mentha spicata L.* frente al antibiótico cloranfenicol sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas.

1.5. Justificación de la Investigación.

1.5.1. Justificación Teórica.

Esta investigación se realizó para determinar la capacidad antimicrobiana del aceite

esencial de la *Mentha spicata L.*, investigaciones anteriores han demostrado que los aceites, extractos etanólicos y extractos hidroalcohólicos, ayudan a demostrar la actividad antimicrobiana que tienen.

Existen investigaciones recientes, una de ellas comprobó la acción antibacteriana del extracto etanólico de la *Mentha spicata L.* frente la *Escherichia coli* (7).

Estos extractos y aceites pueden ser una alternativa frente a los medicamentos ya empleados con la finalidad de promover futuras investigaciones y utilizar aceites esenciales como componente natural en procesos bacterianos, por la elevada función microbiana y antioxidante que posee.

Durante los últimos años, productores químicos han utilizado los extractos y aceites como agente antimicrobiano, ya sea para prevenir el deterioro de los mismos o evitar el desarrollo de microorganismos. El aceite esencial de la *Mentha Spicata L.*, puede ser de ayuda ya que tiene características de antimicrobianas y antioxidantes.

1.5.2. Justificación Práctica.

La aplicación de aceites esenciales, como elemento antimicrobiano tiene gran importancia; ya que pueden utilizarse como medicina alternativa complementaria, y se podría considerar el uso de antimicrobianos naturales que a su vez sean rentables y seguros.

La presente investigación sobre la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de *Mentha Spicata L.*, tuvo como objetivo determinar la capacidad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, este estudio se realizó en el laboratorio del Centro Médico Blue Medical en los meses de abril a noviembre del 2022.

Capítulo II

Marco Teórico

2.1. Antecedentes de la Investigación

2.1.1. Antecedentes Internacionales.

Bucay en el 2018 (8) desarrolló la investigación titulada “Evaluación de la actividad antimicrobiana *in vitro* de *Mentha spicata* frente a *Cándida albicans*”. El objetivo fue determinar si hay algún efecto antimicrobiano significativo sobre la *Cándida albicans* haciendo uso de la planta menta. Aplicó el método analítico – científico, donde se encuestó a diferentes mercados haciendo un total de 700 personas sobre el uso que le daban a la menta, utilizó tres etapas de instrumentos: el cuestionario etnofarmacológico, la ficha de recolección del análisis fitoquímico y la ficha de recolección del análisis antimicrobiano resultado. En los resultados hubo una mayor efectividad en una concentración de 100 %, donde el promedio de los halos fue de 17,67 mm y 16,67 mm para aceite y extracto. Concluye que el resultado obtenido de la *Mentha spicata* convertida en aceite si posee efectos antimicrobianos sobre *Candia albicans*.

López en el 2017 (9) en su estudio titulado “Evaluación de la actividad bacteriostática de la oleorresina de cuatro especies americanas, hojas de achiote (*Bixa orellana, l.*), pimienta gorda (*Pimenta dioica*), hoja de aguacate (*Persea americana miller*) y hierbabuena (*Mentha spicata L.*) contra *Escherichia coli* en carne de res a escala laboratorio”, tuvo el objetivo de evaluar la capacidad bacteriana de las cuatro especies americanas contra la contaminación fecal de *E. coli*. La metodología fue de investigación cuantitativa, las muestras se realizaron en carne de res molida compradas en un supermercado local, se utilizaron como instrumento, la técnica del número más probable NMP para la presencia de *E. coli*. En los resultados de las hojas de achiote y aguacate con concentraciones al 0,5 % y 0,75 %, se logró observar su capacidad bacteriostática, la pimienta gorda hizo presencia de su capacidad bacteriostática al tercer día, pero al séptimo día pierde el efecto, en cambio la hierbabuena no tuvo problemas

en dar a conocer su capacidad bacteriostática. En conclusión, la hierbabuena (oleorresina) tiene efecto bacteriostático contra la *E. coli* aplicada en diferentes concentraciones a la carne de res molida en comparación con las tres especies restantes que obtuvo un impacto variable con *E. coli*.

Giler et al. en el 2020 (10), en su estudio titulado “Evaluación de la capacidad antimicrobiana y antioxidante de la mezcla de aceites esenciales, hierbabuena (*Mentha spicata*) y hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), frente a *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*”, tuvo como objetivo evaluar la capacidad antimicrobiana y antioxidante de mezclas de aceites esenciales de hierbabuena y hierbaluisa, frente a *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli*. La metodología empleada fue de tipo prospectivo, longitudinal, experimental, cuantitativo y bibliográfica. El resultado demostró que la mezcla 2 (50 uL h. luisa y 50 uL h. buena) es eficaz contra la *E. coli* (halo de 13,02 mm) y *Listeria monocytogenes* (Halo de 33,92 mm), mientras que la mezcla 1 (75ul H. luisa y 25ul h. buena) es ideal para inhibir *Salmonella typhimurium* (halo de 35,47 mm). En conclusión, las combinaciones de las mezclas esenciales tienen efecto antimicrobiano y antioxidante.

Morales en el 2020 (11), en su estudio “Efecto antimicrobiano, fisicoquímico y sensorial del aceite esencial de *Mentha Spicata* (Hierbabuena) incorporado en la formulación del queso Dip”, tuvo el objetivo de evaluar el efecto antimicrobiano, sensorial y fisicoquímico del aceite esencial elaborado de la *Mentha spicata*. El método fue experimental, se analizó el efecto antimicrobiano sobre los microorganismos patógenos de *Aspergillus niger* y *Escherichia. coli*. El resultado obtenido demostró que el aceite esencial de hierbabuena, logró obtener actividad bactericida en 1 024 ppm como CMI frente a *E. coli*, pero no logró obtener actividad biocida sobre *Aspergillus niger*. En conclusión, sugiere realizar más estudios de la planta y de otras especies aromáticas.

Borozan, et al. en el 2020 (12), en la investigación publicada “Evaluación comparativa de la actividad antibacteriana de cultivos (*Mentha spicata* var. *viridis*) y menta silvestre (*Mentha smithiana*) Especies”, plantearon como objetivo, comparar el efecto biológico de los extractos de la *Mentha spicata* var *viridis* y *Mentha smithiana*. Aplicaron la metodología experimental, utilizaron cultivos de *E. coli* y *Salmonella spp*, obtuvieron extractos alcohólicos con las diferentes partes de la planta (flores, raíces, hojas). Los resultados han demostrado que ambas especies lograron inhibir el crecimiento bacteriano, pero son de menor zona de inhibición que las causadas por los dos antibióticos empleados (ampicilina y ceftraxim). En conclusión, recomiendan el uso de extractos de flores y hojas de las dos especies (*Mentha*) debido a su actividad antimicrobiana.

2.1.2. Antecedentes Nacionales.

Sánchez et al. en el 2021 (13), publicaron la investigación “Efecto antibacteriano *in-vitro* de los extractos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Mentha spicata* (hierbabuena) sobre *Staphylococcus aureus*”, el objetivo fue evaluar la eficacia antibacteriana *in-vitro* del romero y hierbabuena convertidos en extractos etanólicos sobre *Staphylococcus aureus*. La investigación fue de tipo analítica, prospectiva de diseño experimental y transversal, su población de estudio fue microbiológica *Staphylococcus aureus*. El método por el cual se obtuvo el extracto del romero fue mediante la maceración por 10 días. Los resultados fueron: el etanólico de romero al 50 % frente al *Staphylococcus aureus*, tuvo un promedio de halo de inhibición de 24,89 mm y al 100 % fue de 26,88 mm; en cambio con el extracto etanólico de hierbabuena al 50 % obtuvo 8,57 mm y al 100 % fue de 13 mm. En conclusión, ambas especies vegetales en su forma de extracto etanólico al 50 % y 100 %, lograron tener el efecto antibacteriano contra *S. aureus*.

Nepo y Vásquez en el 2021 (14), desarrollaron un estudio titulado “Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L. (hierbabuena) y *Piper aduncum* l. (matico) en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*”. El objetivo fue comprobar el efecto antibacteriano del matico y hierbabuena (extracto hidroalcohólico) en cepas clínicas de *Staphylococcus aureus*. La naturaleza del estudio fue cuantitativa con un diseño experimental. La población de estudio consistió en 2 kg de hojas de matico y menta. El instrumento utilizado fue “la ficha de recolección de datos” de la evaluación microbiológica del extracto hidroalcohólico de las hojas de ambas plantas. Los resultados indicaron que ambas especies vegetales en sus diferentes concentraciones ejercieron efecto inhibitorio a la cepa de estudio, se observó que la concentración del 50 % con un halo de 45,54 mm, demostró tener un mayor halo de inhibición. En conclusión, la efectividad antibacteriana de ambas especies vegetales sobre el *S. aureus*, el matico presentó un mayor efecto inhibitorio que la hierbabuena.

Figuerola en el 2018 (15), en su investigación “Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha spicata* sobre *Escherichia coli* cepa 25922 comparado con Norfloxacin, *in vitro*”. El objetivo fue demostrar la capacidad antibacteriana del aceite de *Mentha spicata* sobre *E. coli* y además compararlo con norfloxacin; el estudio fue de tipo experimental; tuvo como población cultivos de *E. coli*. El método de Kirby Bauer determinó la actividad antibacteriana del aceite de *Mentha spicata*. El resultado obtenido demostró que el aceite a una concentración del 75 %, el halo de inhibición medio es de 8,9 mm, consiguió el efecto deseado frente a *E. coli*. En conclusión, ambos tratamientos presentaron el efecto antibacteriano sobre la cepa estudiada, donde el norfloxacin destacó un mayor efecto antibacteriano.

Fernández et al. en el 2021 (16), en su estudio titulado “Efecto antibacteriano de los extractos etanólico y acuoso de *Mentha spicata* (hierbabuena) sobre *Staphylococcus aureus*, tuvieron el objetivo de determinar la efectividad antibacteriana del extracto de hierbabuena sobre *Staphylococcus aureus*. El estudio fue de enfoque cuantitativo, experimental y de corte transversal. La población se conformó por hierbabuena. La conclusión señala que los extractos acuosos (50 %,75 % y 100 %) de hierbabuena, no tuvo efecto antibacteriano sobre *S. aureus*; sin embargo, con el extracto etanólico teniendo las mismas concentraciones, logró el efecto antibacteriano.

Mamani en el 2018 (17), desarrollaron el estudio titulado “Comparación de la inhibición hidroalcohólica de la *Mentha spicata* y la Nistatina para inhibir el crecimiento *in vitro* de *Cándida albicans*, Juliaca 2018”. Este fue de tipo cuantitativo, de nivel aplicativo, transversal y de diseño experimental. Se trabajó con 30 medios de cultivo, el objetivo fue evaluar la inhibición del crecimiento fúngico *in vitro* con el extracto hidroalcohólico de nistatina y la *Mentha spicata*, utilizaron como instrumento una ficha de recolección de datos. Los resultados refieren que la *Mentha spicata* al 70 %, inhibe un promedio de 7,27 mm mientras que la nistatina obtuvo el promedio de 14,8 mm. En conclusión, hay una diferencia significativa entre la *Mentha spicata* y nistatina aplicadas para la inhibición del crecimiento fúngico de *Cándida albicans*.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. Aceite Esencial de *Mentha spicata*.

Es un compuesto aromático volátil con olores y/o sabores distintivos, que son característicos según la planta de la que se ha elaborado. Durante miles de años, los aceites esenciales han sido utilizados como condimentos, ingredientes de perfumes y medicina popular, debido a sus diferentes propiedades biológicas y antimicrobianas (18).

La composición química del aceite de *Mentha spicata* es la carvona, esta tiene un esqueleto monoterpeno y forma parte del grupo funcional cetona, el aceite de *Mentha spicata* se obtiene de sus hojas y flores. En las hojas contiene L-carvona al 50-70 %, Felandreno, L-limoneno al 13-20 %, α y β -pineno al 2-5 %, acetato de dihidrocarveol, dipneo y cineol al 2 - 4 % (10).

El aceite esencial tiene actividad antibacteriana en mayor efecto cuando se realiza combinaciones y concentraciones, lo que permitirá aprovechar mejor el efecto deseado (10). El mecanismo de acción de los aceites esenciales se ve influenciada por su carácter hidrófilo o hidrófobo, el tipo de microorganismo de estudio el cual tiene una estrecha relación con

estructura de la pared celular y su membrana externa, hay un mayor efecto antibacteriano en las bacterias Gramnegativas en comparación con las bacterias Grampositivas, la susceptibilidad de las bacterias Gramnegativas tiene una mayor relación con su membrana externa. Sin embargo, hay otros estudios donde indican que hay un retardo del efecto, y para alcanzar el efecto deseado en ambos tipos de bacterias, solo se debe someter a un mayor tiempo al aceite esencial (19).

2.2.2. Criterios de un Aceite Esencial.

Los criterios son importantes para obtener una buena calidad de aceite esencial. Como primer paso es la selección de la planta y la manera en que lo recolectamos, son de gran importancia: se debe hacer una identificación de determinación taxonómica, la planta debe estar libre de pesticidas o de productos químicos. La extracción del aceite tiene que ser en condiciones rigurosas, controlando la temperatura y la presión. Para el almacenamiento se debe emplear los recipientes correctos adaptados a los aceites esenciales, el aceite no debe estar en contacto con la luz y debe estar almacenado a una temperatura que no supere los 25 grados centígrados. Los aceites esenciales son extractos frágiles (20).

2.2.3. Clasificación de los Aceites Esenciales.

Giler et al. en el 2020 (10), en su trabajo de investigación dio a conocer tres tipos de clasificación de aceites esenciales.

- **Consistencia.** Se clasifica en tres tipos, comenzando con las esencias (son líquidos, volátiles a una temperatura ambiente); el segundo es el bálsamo (son poco volátiles con consistencia espesa, inclinado a la polimerización), y el último son las oleorresinas (semisólida o sustancia líquida viscosa) (10).
- **Origen.** Puede ser natural que se obtiene directamente de la planta sin ninguna modificación, en el artificial se realizan diferentes mezclas esenciales de diversas plantas, y el sintético realiza una mezcla de diferentes productos químicos (saborizantes, esencias y sustancias aromáticas) debido a que son más económicas (10).
- **Naturaleza química.** La determinación es por su estructura química y una composición mayoritaria de terpenos. Los monoterpenoides (dos unidades de isopreno =10C), un ejemplo es la hierbabuena, sequiterpenoide (3 unidades de isopreno=15C) y el fenilpropanoides (10).

2.2.4. Obtención de los Aceites Esenciales.

Hay diferentes técnicas de extracción para los aceites esenciales, se logra obtener en forma líquida con una consistencia aceitosa, hidrofóbica con bajo peso molecular, se puede conseguir a partir de raíces, tallos, semillas y hojas (10).

- Destilación por vapor. Es la técnica más utilizada, debido a su alto rendimiento, pureza y es de una tecnología sofisticada (21).

La muestra a realizar es colocada en una cámara inerte, y posteriormente sometida a un vapor de agua sobrecalentado, haciendo que la esencia sea arrastrada para ser condensada y por decantación se separa el aceite del agua (21).

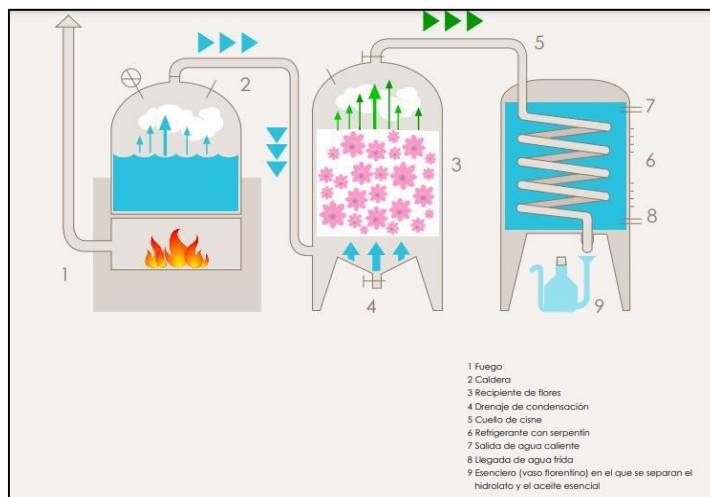


Figura 1. Destilación por vapor.

Fuente: Hevea L infinite vegetal (20).

- Solventes volátiles. La muestra debe estar molida y seca, la cual es sometida con solventes como cloroformo, alcohol, etc. Los solventes no obtienen una esencia pura porque solubilizan y separan otras sustancias como ceras y grasas (21).
- Enflorado. Se emplea para las plantas que tienen un aroma frágil, se realiza extendiendo una capa de la planta frágil entre dos capas de materia grasa, se va retirando la planta frágil y queda la grasa saturada con la fragancia, por último se elimina el excedente grasoso, de ahí se obtiene una esencia de muy buena calidad (20).
- Prensado en frío. Se emplea las cáscaras de cítricos, esta técnica usa prensas hidráulicas, se realiza una separación entre el aceite esencial y la pulpa por centrifugación (20).

2.2.5. *Mentha spicata* L. (Hierbabuena).

2.2.5.1. Descripción.

La *Mentha spicata* L. es una planta vivaz que mide de 30 a 50 cm, tiene un aroma suave. El tallo es ramificado, especialmente la parte media con una pubescencia dispersa de coloración rojizo y morado. Las hojas son subsésiles que tienen un peciolo de 1 a 1,5 mm de longitud, de 2 a 4 por 1 a 2 cm, son en forma de punta de lanza - lanceoladas, glabrescentes o glabras, con vellos dispersos sencillos en ambos lados, a veces solo en la nervadura en el lado opuesto. Las flores están en la parte terminal de las ramas del tallo, tienen forma puntiaguda de 3 a 5 cm por 5 a 8 mm, es estrecha y alargada, hojas en forma laminar de orilla ciliada. Las flores de color lila o violáceas, claras y pediceladas, el pedicelo es de 1 a 2 mm. El cáliz de 1,5 a 3 mm, en forma de embudo, la corola es de 2,5 a 4 mm, el lóbulo dorsal más amplio, con vellos pequeños. Sus fibras son estaminales de 4 mm, por lo general exertos, anteras elipsoides, las ramas son estigmáticas desiguales (22).

2.2.5.2. Taxonomía.

CLASE	<i>Equisetopsida c. agardh</i>
SUBCLASE	<i>Magnoliidae novák ex takht.</i>
ORDEN	<i>Lamiales bromhead</i>
FAMILIA	<i>Lamiaceae martinov</i>
GENERO	<i>Mentha L.</i>
ESPECIE	<i>Mentha spicata L.</i>

Figura 2. Clasificación taxonómica.

Fuente: Anexo 1.

2.2.5.3. Composición Química.

Las hojas de la *Mentha spicata* contienen aproximadamente de 19 a 23 % de polifenoles totales, en el cual también se encuentran de 59 a 67 % de eriocitrina, ácido rosmarinico 7 a 12 %, luteolina 7, O-rutinosido, hesperidina 6 a 10 %, ácido gálico y ácido cafeico (23).

Flavonoides 12 %, la cual está compuesta de rutina, apigenina, catequina, epicatequina, luteolina, miricetina y diosmetina. El aceite esencial 0,5 a 1 %, esya compuesto por L-carbona 50 a 70 %, Limoneno 13 a 20 %, Felandreno, α -y β -pineno 2 a 5 %, δ -pineno, mentol 35 a 45 %, mentona 15 a 20 %, isomentona 2 a 3 %, acetato de metilo 3 a 5 %, cineol 2 a 4 % (23).

El aceite de la *Mentha spicata* se obtiene por destilación de las hojas a vapor, es

ligeramente amarillo o incoloro, contiene carvona 57 a 71 %, es soluble a 25°C en un volumen igual de etanol 80 %, también se utiliza como saborizante y aromatizador, se usa ampliamente en la industria de la pasta de dientes, en lavados orales por sus propiedades carminativas (24).

2.2.5.4. *Distribución.*

La *Mentha spicata* o hierbabuena, es una planta oriunda del occidente (25), probablemente de Europa que fue traída al Perú en la conquista por los españoles, se aclimata en zonas cálidas, el cual tenga suelo medio hondo y tierra negra (26). En el Perú está distribuido en la costa, sierra y selva, esta planta fue cultivada desde tiempos lejanos en huertos y jardines domésticos (24).

2.2.5.5. *Usos.*

Tabla 1. Propiedades de la *Mentha spicata*.

Sistema	Acción farmacológica
Digestivo	Antiespasmódico Carminativo
Respiratorio	Antiséptico Antiinflamatorio
Piel y mucosas	Antiséptico

Fuente: INFOMED (2003)

Una de las plantas medicinales más usadas es la *Mentha spicata*. Sus hojas tienen un aceite fundamental, el cual su composición principal es de mentol. Sus principales características son: antiséptica, previene la contracción dolorosa del músculo liso intestinal, alivia la pared gastrointestinal, impulsa a apresurar la deglución y ayuda a estimular la secreción de la bilis. La hierbabuena también calma los dolores abdominales o espasmos intestinales y las náuseas. También ayuda con los parásitos intestinales y excita al sistema nervioso (22). Asimismo, se han realizado investigaciones del efecto antibacteriano y antiviral de las concentraciones de las hojas de la hierbabuena (27).

De manera tópica se utiliza en forma de una pasta blanca con gasas o cataplasma, también paños para poder tratar inflamaciones, reumatismo, piodermia y nódulos, para ello, se necesita la decocción de las hojas para poder aplicar en cataplasma para tratar tumores, endurecimientos y úlceras (26), también se usa para desaparecer los malos olores de los pies y lavar heridas (28).

2.2.5.6. *Contraindicaciones.*

Las hojas de la *Mentha spicata* en estudios, se han encontrado contraindicaciones en pacientes que presentan cálculos biliares, en estos casos presentan cólicos, debido al efecto

que causa esta planta, al activar la producción de la bilis (29).

El aceite de la *Mentha spicata* provoca oclusión de los conductos biliares, daño severo del hígado e inflamación de la vesícula biliar (29).

2.2.5.7. Toxicidad.

El aceite de la *Mentha spicata* es irritante y a veces presenta reacciones de hipersensibilidad en consumos constantes. Las reacciones que presentan son: rash cutáneo eritematoso, dolor de cabeza, bradicardia, ataxia, tremor muscular, acidez estomacal. Estas reacciones se presentan debido al mentol (30).

En niños menores de 2 años, la aplicación de sustancias que contengan mentol para el tratamiento del resfrío puede ocasionar colapso. No deben utilizar las personas que padezcan de obstrucción del tracto biliar, piedras en la vejiga, colecistitis, daño severo del hígado ya que se puede presentar empeoramiento del padecimiento (30).

También se ha observado una acción de bloqueo de los canales del calcio en animales, se han realizado estudios por lo cual se debe tener atención en las personas que emplean estos agentes con la misma actividad. Se debe usar con suma responsabilidad en los menores de edad, gestantes o en estado de lactancia y personas con hipersensibilidad (31).

Los efectos secundarios que se pueden presentar son: vómitos, náuseas, irritabilidad gastrointestinal (31), alergia. En estudios realizados en animales se presentaron daños cerebrales que ingirieron una sobredosis de aceite de *Mentha spicata* L. (30).

Sobredosis: se ha reportado casos de envenenamiento. La dosis mínima de mentol es aproximada en los 2 g; sin embargo, se ha reportado también que han sobrevivido a dosis superiores de 8 a 9g (32).

2.2.5.8. Enterobacterias.

Es un agente etiológico, sus características morfológicas principales es ser un bacilo gramnegativo, no formador de esporas, poseen unos flagelos peritricos que los hacen móviles, forman parte del gran grupo de los *Enterobacteriaceae*, son bacterias que se encuentran constantemente en muestras comunes de pacientes. Pródigamente dispersos en la naturaleza, y como lo sugiere el nombre de su familia, se localizan en el sistema digestivo de humanos y animales. Antes del comienzo de los antibióticos, las medidas inmunosupresoras y las quimioterapias, las enfermedades infecciosas producidas por enterobacterias estaban bien definidas (33).

2.2.5.9. Género *Escherichia*.

Esta bacteria específica para este estudio, converge considerablemente en la mayoría de laboratorios clínicos y hospitales, y fue relacionada con las principales enfermedades infecciosas, inclusive las más comunes, que dañan a cualquier tejido y sistema humano. Por otro lado, también se relacionan las infecciones urinarias que son tan comunes en pacientes de cualquier índole, sea género, edad etc. Denominaremos también a *E. coli* en heridas, neumonía en los pacientes hospitalizados, inmunosuprimidos y en muchos casos patológicos más. Actualmente se perciben más de 170 serotipos (33).

E. coli, se caracteriza por su estructura antigénica de superficie:

- Antígeno “O” (somático) constitución polisacárido.
- Antígeno “H” (flagelar) constitución polisacárido.
- Antígeno “K” (capsular) constitución proteica.

2.2.5.10. Gastroenteritis causada por *E. coli*.

Se conocen actualmente la existencia de clonas *E. coli*, que consiguen suscitar enfermedades gastrointestinales por seis mecanismos. Estas cepas incluyen (33):

- *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC).
- *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC).
- *Escherichia coli* enteroinvasiva (EIEC).
- *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC).
- *Escherichia coli* enteroagregante (EAEC).
- *Escherichia coli* difusamente adherente (DAEC).

2.2.5.11. *E. coli* Enteropatógena EPEC.

Estos grupos de clona de *Escherichia coli*, inicialmente comenzaron con la EPEC. Se describieron sus pruebas bioquímicas tales como; TSI, LIA, MIO, citrato, urea sorbitol, rojo de metilo, entre otras. También fueron especialmente importantes sus pruebas serológicas en aquellos centros o laboratorios que contaban con los sueros polivalentes; A, B, C de la EPEC, que producía en su estado positivo aglutinación. La EPEC se relaciona con niños menores de

2 años, esta población representa vulnerabilidad ante este tipo de clona, sin descartar que pacientes adultos también puedan padecerla, si estos pacientes conllevan una enfermedad crónica, son más vulnerables, especialmente los que tienen una inclinación hacia la diabetes. Se establece una manera de infección de la enfermedad conocida como: fecal-oral o comúnmente conocido como manos contaminadas, alimentos contaminados. Los síntomas iniciales que cursan los infectados son: diarrea aguda, que puede ser leve o grave, con vómito, fiebre mínima y mala absorción (34).

2.2.5.12. Características bioquímicas de identificación.

- Indol: positivo.
- Rojo de metilo: positivo.
- Voges Prokauer: negativo.
- Citrato: negativo.
- Urea: negativo.
- Fermentadores de ácidos mixtos: positivo.

2.2.5.13. Aislamiento e Identificación.

Es muy frecuente y común en los laboratorios, aislar la bacteria en muestras de heces, y utilizar agares selectivos para enterobacterias, el más solicitado es el agar de MacConkey o en eosina y azul de metileno (EMB), estos medios de cultivo van a dar al clínico la forma de identificación de *E. coli*, fundamentándonos en su morfología y completando su identificación básica con las pruebas bioquímicas y sus sueros polivalentes (35).

2.2.5.14. Epidemiología.

Según el boletín epidemiológico, la enfermedad diarreica aguda (EDA) sigue siendo un problema de salud pública, en especial hacia los países en desarrollo, las EDA según la Organización Mundial de la Salud, viene ocupando el segundo lugar con mayor causa de muertes en niños menores de 5 años. En el pasado las principales causas de muerte por diarrea eran por deshidratación grave y pérdida de líquidos, pero hoy en día es más común por infecciones bacterianas septicémicas (36).

En el 2020, según la encuesta Demográfica y de Salud Familiar (ENDES) 2020, en el Perú, la EDA sigue causando mortalidad en niños menores de cinco años, sin grandes

diferencias entre la zona urbana con 8 % y la rural con 8,9 % (36).

En el 2021 la Organización Panamericana de la Salud (OPS) dio a conocer sobre el aumento de enterobacterias multirresistentes y hallazgos de cepas con doble o triple producción de carbapenemasas, siendo un gran riesgo epidemiológico (37).

Durante la Semana Epidemiológica (SE) 49 de 2021, se detectaron cepas raras de *E. coli*, incluida (NDX + OXA-48), en la región de Arequipa. Este es uno de los primeros hallazgos de una variedad de patógenos bacterianos productores de carbapenemasas duales en el país (37).

La resistencia a los antibióticos representa un problema de salud mundial y para la economía.

2.2.5.15. Cloranfenicol.

Su formulación: capsulas de 500 mg., jarabe 125 mg/5 mL x 60 mL y en suspensión inyectable 1g. Su absorción es de manera rápida y completa desde el tracto gastrointestinal (38). El grupo farmacológico es derivado del ácido dicloroacético (38) y el grupo terapéutico es del antibiótico.

Indicaciones y dosis.

Para el uso de infecciones graves. Se emplea para el tratamiento de meningitis por *H. influenzae*, *S. pneumoniae* y *N. meningitis*; para tifoidea y fiebre tifoidea; infecciones por *Rickettsiae*; absceso cerebral, incluyendo tifus, y por el grupo linfogranulomapsitacosis. En adultos y adolescentes la dosis es de 12,5 mg/kg de peso, en V.O. y en EV c/6h. En casos de bacteriemia y meningitis puede usarse hasta 100 mg/kg/d. Mientras que en el tratamiento de la fiebre tifoidea prolongar x 14 d. En las dosis pediátricas lactantes prematuros y neonatos a término de hasta 2 semanas, 6,25 mg/kg V.O. o EV c/6h. En lactantes de más de 2 semanas y niños, 12,5 mg/kg V.O. o EV c/6h (38).

2.2.5.16. Efectos Adversos.

Se recomienda el uso solo para el caso de infecciones graves, se debe evaluar la relación riesgo-beneficio en las siguientes condiciones: embarazo, depresión medula ósea, insuficiencia hepática o renal, en el tratamiento previo con quimio o radioterapia, porfiria intermitente aguda, deficiencia de G6PD. Unos de los efectos adversos son la cefalea, colapso cardiovascular, diarrea, vómitos, síndrome gris y en el recuento sanguíneo son leucopenia, agranulocitosis y el desarrollo de anemia (38).

2.2.5.17. Excavación Placa y Cultivo.

Es un procedimiento microbiológico basado en el método de Kirby-Bauer, la cual consiste en colocar la sustancia de estudio en un hoyo que se realiza en una placa de agar Muller Hinton (solidificado), se difundirá en el medio circulante hasta que la concentración deje de difundir, y ocasionará una inhibición del crecimiento microbiano, logrando formar un halo de inhibición alrededor del hoyo realizado (39).

Este método hace que el extracto se concentre, difunde y tenga una mejor actividad antibacteriano en comparación de una difusión en disco (39).

2.3. Definición de Términos Básicos

2.3.1. Decantación.

Es un proceso de separación por gravedad, es dependiente del tamaño, densidad del líquido, peso y según la característica de la partícula (42).

2.3.2. Destilación.

Se emplea para la purificación y diferenciación de líquidos o mezclas para obtenerlos de manera individual, se obtienen por calentamiento hasta generar vaporización para luego capturar el vapor en forma de condensado (43).

2.3.3. Halo de Inhibición.

Es un procedimiento fácil, consiste en la formación de un círculo alrededor de la zona donde está colocado el disco de antibiótico en un antibiograma en el cual no se produce crecimiento bacteriano en la placa de agar inoculada con el germen. Es una manera de medir la potencia del antibiótico frente al germen en estudio (40).

2.3.4. Método Kirby-Bauer.

Este procedimiento se dispone, para especificar la sensibilidad de una bacteria específica, a un panel de antibióticos. El método de Kirby-Bauer comprende lo que se conoce como antibiograma o prueba de susceptibilidad bacteriana frente a drogas específicas. La bacteria es impregnada en la superficie del agar colocando una serie de discos de antibióticos consecuentemente se incuba de 16 a 24 horas a 37 ° C (41).

Capítulo III

Hipótesis y Variables

3.1. Hipótesis

3.1.1. Hipótesis General.

Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de la *Mentha spicata L.* sobre la bacteria *Escherichia coli* realizada en el laboratorio Blue Medical de la ciudad de Arequipa en el 2022.

3.1.2. Identificación de Variables.

Variable independiente. Aceite esencial de la *Mentha spicata L.*

Variable dependiente. Efecto antibacteriano.

3.1.3. Operacionalización de Variables.

Tabla 2. Matriz de operacionalización de variables.

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Subdimensiones	Operacionalización		
					Indicadores	Escala de medición	Tipo de variable
Independiente Aceite esencial <i>Mentha spicata</i> <i>L.</i>	Material obtenido por destilación	Arrastre de vapor.	Aceite esencial.	Concentraciones en porcentaje	0 % 20 % 40 % 60 % 80 % 100 % cloranfenicol	Razón	Variable cuantitativa
Dependiente Efecto antibacteriano	Disposición de un componente de impedir el crecimiento y el avance de una determinada bacteria.	Mediante el Método de Kirby Bauer, determina las medidas de los Halos de inhibición con respecto al crecimiento de la bacteria investigada	Halo de inhibición.	Medidas establecidas según la investigación	Sensible > a 18 Intermedio 13 a 17 Resistente < a 12	Razón	Variable cuantitativa

Capítulo IV

Metodología

4.1. Método, Tipo y Nivel de la Investigación

4.1.1. Método de la Investigación.

La investigación es cuantitativa, buscó formular preguntas de investigación e hipótesis para posteriormente poder comprobarlas, utilizó una medición para hallar los resultados de la investigación.

4.1.2. Tipo de la Investigación

El tipo de investigación es aplicada. Este tipo de investigación es empírica, sistemática y crítica, ya sea en estudios cualitativos o cuantitativos o mixtos. Buscó evaluar, comparar, interpretar y resolver problemas (44).

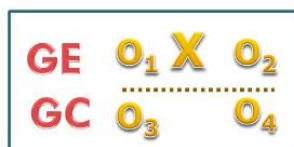
4.1.3. Nivel de la Investigación

El estudio es explicativo, para Hernández et al. (44) esta investigación es de alcance explicativo, ya que va más allá de describir conceptos o fenómenos o crear relaciones entre conceptos, están dirigidos a responder las causas o fenómenos del estudio a realizar.

4.2. Diseño de la Investigación

El diseño fue experimental, Hernández et al. (44) menciona que es un procedimiento en el cual se manipula de manera deliberada una o más variables independientes (causas) para analizar las consecuencias sobre una o más variables dependientes.

ESQUEMA



GE y GC: grupo experimental y grupo control.

X1: aplicación del aceite esencial de *Mentha spicata* L. “hierbabuena”.

X2: aplicación del antibiótico “cloranfenicol”.

O1 y O2: Efecto inhibitorio observado.

4.3. Población y Muestra

4.3.1. Población.

La población se conformó por 70 placas Petri que contienen Agar Mueller Hinton inoculadas con la bacteria *Escherichia coli* enteropatógena y se realizó 70 observaciones.

4.3.2. Muestra.

Se realizó un muestreo censal, se seleccionó a la totalidad dado que la población es pequeña (45). La investigación realizada sigue un tipo de muestreo probabilístico.

A. Criterios de inclusión

- Placas Petri con agar Muller Hinton no mayor a 3 días.
- Asas de siembras estériles.
- Cepa de *Escherichia coli* enteropatógena no contaminada.

B. Criterios de exclusión.

- Placas Petri con Muller hinton mayor a 3 días.
- Asas de siembra contaminadas.
- Cepa de *Escherichia coli* enteropatógena contaminada.

4.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

4.4.1. Técnicas

La observación es un proceso fundamental que selecciona y estructura datos, tiene como función primordial recolectar información y datos del objeto de estudio, hace uso de los sentidos para observar hechos que acontecen normalmente en el estudio a realizar (46).

El método utilizado fue la observación en la difusión por disco en placa.

4.4.2. Instrumentos de Recolección de Datos.

El instrumento empleado fue una ficha de recolección de datos. Según Supo, al emplear ficha de recolección de datos, estas no deben someterse a los criterios de confiabilidad y validez, porque no son instrumentos de medición que brindan un valor final, son solo fuentes de almacenamiento temporal de datos que provienen de una medición que ya se ha desarrollado, luego se procesa y se utiliza en la investigación (47).

4.4.3. Procedimiento de la Investigación.

4.4.3.1. Obtención del Aceite Esencial.

A. Obtención de la muestra.

Las hojas de hierbabuena, se obtuvieron de manera natural, en el departamento de Moquegua. Se recolectó y guardó en bolsas plásticas para ser conducida a las instalaciones del laboratorio.

B. Selección de la planta.

Se recolectó 10 kilos de planta entera, los tallos se cortaron con una tijera de podar, este procedimiento se realizó en el transcurso de la mañana. Posteriormente se almacenó en una bolsa de plástico para evitar el deterioro de la planta y ser llevada al laboratorio.

Se prosiguió con la selección, luego del lavado con agua potable se dejó escurrir para separar las impurezas (otras plantas, hojas dañadas o tallos, etc.)

El secado se realizó bajo sombra y con una ventilación adecuada por un lapso de 7 días. Las hojas se secaron con su tallo para evitar alguna alteración.

Una vez secado la hierbabuena, se separó las hojas secas del tallo de manera manual con ayuda de una tijera de podar.

4.4.3.2. Método de Destilación por Arrastre de Vapor.

Se agregó 3 litros de agua al tanque de extractor y encima de la rendija se colocó las hojas secas evitando que tenga contacto con el agua.

Instalamos el equipo de destilación por arrastre de vapor, verificamos que todo este correctamente instalado y el sistema de agua de refrigeración.

Proseguimos con el encendido de nuestro equipo de arrastre de vapor, esperamos el tiempo requerido para que se dé inicio al vapor del agua que por presión subirá y entrará en contacto con las hojas liberando la esencia, siendo atrapada en las gotas del agua del vapor el vapor se condensará y pasará a ser líquido por el ingreso de agua fría, el líquido seguirá su recorrido a la pera de decantación.

En la pera de decantación se hará la separación del aceite esencial. Se forma dos fases (agua floreada y el aceite) por densidad el aceite estará flotando en la superficie mientras que el agua floreada estará concentrada en la parte inferior, periódicamente vamos ir desechando el agua floreada para quedarnos con el aceite esencial.

Termínanos colocando el aceite en un frasco de vidrio ámbar y guardándole de una zona oscura hasta ser utilizada en los análisis.

Todo el proceso demoró en un promedio de 3 horas, obtuvimos 10 ml de aceite esencial.

4.4.3.3. Preparación de la Concentración.

Se hizo la preparación de una solución de *Mentha spicata L.* 100 % y se empleó la siguiente formula:

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

Dónde:

$$\frac{V1 = C2 \cdot V2}{C1}$$

C1= Pertenece al 100 % de concentración inicial.

C2= Concentración a la que se desea llegar: 20 %, 40 %, 60 % y 80 %.

V1= La cantidad de ml de Tween que se agregó para conseguir las concentraciones.

V2= La cantidad inicial en µl que corresponde a 100 µl.

4.4.3.4. Discos para el Antibiograma.

Se utilizó, para la investigación los antibióticos de la marca Bioanalyse Antimicrobial Susceptibility Test Discs. Para diagnostico “*in vitro*”. Los antibióticos se almacenaron a 20 °C y 8 °C.

Los discos Bioanalyse AST se han estandarizado cuidadosamente mediante el uso de papel absorbente especial, que tiene una alta capacidad de absorción de líquidos. Los discos de papel Bioanalyse tienen un diámetro de 6 mm.

4.4.3.5. Prueba de Sensibilidad Estandarizada.

A. Preparación del medio.

Se realizó la preparación del medio Mueller-Hinton que es el más adecuado para este fin (48). Una vez esterilizado, el medio alcanza los 45 a 50 °C, luego se vierte en placas de Petri. La profundidad del agar fue de 4 mm con un margen de error de +/- 0,5mm. El pH del medio medido fue entre 7,2 y 7,4.

Para eliminar el exceso de humedad y las gotas en la superficie de las placas, se mantuvo en la incubadora durante 30 minutos o una hora a temperatura ambiente antes de usarlas. Las placas no deben secarse.

B. Preparación del inóculo.

Del medio de aislamiento primario, se tomaron de 4 a 5 colonias de la bacteria *Escherichia coli* enteropatógena, mediante el método de suspensión directa de colonias y con el uso de un asa flameada, se hizo la suspensión con un hisopo de algodón estéril, se recogieron las bacterias y se realizó la suspensión en 5 ml de solución salina estéril (solución de NaCl al 0,85 % en agua).

Se realizó la incubación a 35° C para que pueda alcanzar la turbidez de 0,5 Mc Farland. Se inoculó la superficie de las placas de agar Mueller - Hilton con un hisopo sobre toda la superficie. Este procedimiento se repitió de dos a más veces, rotando la placa del agar para la mejor distribución de inóculo, finalmente se pasó el hisopo por todo el borde de la placa.

Posteriormente se dispensaron los discos del control. Para dispensar el aceite esencial, se empleó el método de difusión placa hoyo, se realizó dos perforaciones por placa, con una profundidad de 4 mm y un ancho 7 mm. En las perforaciones se prosiguió a colocar 100 µL de aceite esencial de *Mentha spicata L.* según cada concentración realizada.

Las placas no pudieron ser invertidas en el momento, ya que las concentraciones preparadas eran muy acuosas.

C. Zonas de inhibición de lectura.

Después de una noche de incubación (16 a 20 horas) se obtuvieron zonas de inhibición

claras en placas de antibiograma. Se midió el diámetro de la zona de inhibición completa (incluyendo el diámetro del disco) usando la regla.

En consecuencia, los resultados clínicos se obtienen evaluando como susceptibles (S), intermedios (I) o resistentes (R) para la aplicación clínica.

D. Material biológico.

Se utilizó la cepa de *Escherichia coli* enteropatógena que fue proporcionada por el laboratorio Blue Medical Arequipa.

La identificación serológica de *Escherichia coli* enteropatógena se realizó en el laboratorio, las pruebas pertinentes para serotipificación de la bacteria *Escherichia coli*, las pruebas se detallan a continuación.

4.4.3.6. Identificación de *Escherichia coli*.

A. Prueba de citrato de Simmons.

Se empleó esta prueba para hacer la diferenciación de enterobacterias, en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía. Se realizó la prueba de Agar Citrato de Simmons en un tubo de ensayo, colocando en posición inclinada (pico de flauta). La cepa obtenida de *Escherichia coli* fue sembrada por método de estría en la superficie del medio de cultivo. Se incubó a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas.

B. Prueba de indol.

Se inoculó el tubo con microorganismos e incubó 37°C durante 24 a 48 horas. Transcurrido el tiempo, se añadió 4 a 5 gotas de reactivo de Kovacs y se deslizó por la pared del tubo sin agitar. Si la bacteria tiene la enzima triptofanasa, se observa un anillo de color cereza en la superficie del medio cuando se vierte el reactivo de Kovacs sobre el medio, lo que indica *E. coli* positivo.

C. Prueba de movilidad.

La bacteria *Escherichia coli* al ser flagelada y móvil, produjo un enturbiamiento homogéneo del medio debido a la distribución aleatoria.

D. Prueba de la ureasa.

Se inoculó medio de cultivo mediante estría en la superficie inclinada e se incubó a

37 °C durante 24 horas.

La *Escherichia coli*, hidroliza la urea y provoca que el medio de cultivo cambie a color fucsia, debido a la alcalinización del mismo por producción de amonio, que determina el viraje del indicador de pH (rojo de fenol).

E. Agar mac konkey.

En el medio de McConkey, las peptonas, proveen los nutrientes útiles para el crecimiento bacteriano, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, indica la presencia *E. coli*.

F. Agar Triple Azúcar Hierro (TSI).

El indicador fenólico rojo se vuelve amarillo cuando se descompone uno de los azúcares. En condiciones anaeróbicas, la descomposición de la lactosa ocurre en la parte superior, la sacarosa en el medio y la glucosa en la parte inferior.

Escherichia coli tiene un pico y una base amarillos (A/A), produciendo gas en el tubo.

G. Agar Lisina Hierro (LIA).

E. coli se identifica cuando el tubo de ensayo muestra un pico y un fondo morados (K/K) y no hay producción de sulfuro de hidrógeno.

H. Técnica de aglutinación en lámina.

Se realizó el procedimiento con sueros polivalentes, adquiridos de Probac Do Brasil. Productos Bacteriológicos Ltda.

Sueros polivalentes usados:

- Colocar una lámina estéril, libre de contaminaciones.
- Suspensión bacteriana, mezclar con suero fisiológico, debe ser bastante espesa para obtener mejores resultados.
- Utilizar una proporción suspensión- antisuero; para una gota liberada de la cuenta gotas del frasco de PROBAC, utilizar la mitad aproximadamente de suspensión bacteriana.
- Mezclar bien y homogenizar de tal modo que ocupe todo el diámetro de la

lámina.

4.5. Consideraciones Éticas.

La investigación realizada es un estudio experimental *in vitro*, no requiere participantes, la población será una bacteria elegida a conveniencia para el estudio; como es la *Escherichia coli* enteropatógena. Se tuvo bastante cuidado con la manipulación de la bacteria empleando altos niveles de bioseguridad debido a razones deontológicas y éticas para no causar perjuicio al medioambiente o la población.

Capítulo V

Resultados

5.1. Presentación de Resultados

En el estudio realizado, del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha spicata L.*, se evaluaron 70 repeticiones en el periodo de abril a noviembre del año 2022.

Daremos a conocer los resultados obtenidos durante el estudio realizado.

Tabla 3. Halos de inhibición del efecto antibacteriano de la *Mentha spicata L.* sobre la *Escherichia coli* enteropatógena.

Repetición Cultivo con <i>E. coli</i>	Tween 0 %	Aceite esencial 20 %	Aceite esencial 40 %	Aceite esencial 60 %	Aceite esencial 80 %	Aceite esencial 100 %	Cloranfenicol control positivo
1	7mm	12 mm	15.5 mm	17 mm	17 mm	18 mm	26mm
2	7mm	12 mm	15 mm	16 mm	17 mm	19 mm	27mm
3	7mm	13 mm	14 mm	15.5 mm	18 mm	19 mm	26mm
4	7mm	12.5 mm	14 mm	17 mm	18 mm	18 mm	27mm
5	7mm	10 mm	14 mm	16.5 mm	18 mm	19.5 mm	26mm
6	7mm	11 mm	15 mm	17 mm	17.9 mm	19 mm	27mm
7	7mm	12 mm	14 mm	17 mm	18 mm	20 mm	26mm
8	7mm	12 mm	15 mm	17 mm	17.9 mm	20 mm	27mm
9	7mm	10.5 mm	14 mm	16 mm	18 mm	19 mm	26mm
10	7mm	12 mm	15 mm	16 mm	18 mm	19 mm	27mm

En la tabla 3 se observa los resultados de la medición de los halos de inhibición mediante el método de Kirby Bauer sobre la cepa de *Escherichia coli* enteropatógena. Se realizaron 10 repeticiones por cada porcentaje de aceite esencial de *Mentha spicata L.*, respectivamente se realizó los controles correspondientes al 0 %; que corresponde al diluyente Tween, sin la agregación del aceite esencial. Y el control positivo en donde se realizó con antibiótico comercial Cloranfenicol. Se observa que en la concentración de aceite esencial al 100 % obtiene mayores halos de inhibición, siendo su valor máximo de 20 mm, seguido de la concentración al 80 %, teniendo como valor máximo de 18 mm.

Tabla 4. Estadística descriptiva obtenida de los halos de inhibición por grupo de análisis

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Tween 0 %	10	7	7	7,00	0,000
Aceite 20 %	10	10,0	13,0	11,700	0,9189
Aceite 40 %	10	14,0	15,5	14,550	0,5986
Aceite 60 %	10	15,5	17,0	16,500	0,5774
Aceite 80 %	10	17,0	18,0	17,780	0,4131
Aceite 100 %	10	18,0	20,0	19,050	0,6852
Control Cloranfenicol	10	26	27	26,50	0,527
N válido (según lista)	10				

En la tabla 4 se visualiza que, el aceite de *Mentha spicata L.* al 100 %, el valor promedio del halo de inhibición fue de $19,050 \pm 0,6852$ mm, al 80 % fue de $17,780 \pm 0,413$ mm, el aceite 60 % obtuvo un valor promedio $16,500 \pm 0,5774$ mm, seguido por el aceite al 40 % con $14,550 \pm 0,5986$ mm, terminando con el aceite al 20 % $11,700 \pm 0,9189$ mm. Por otro lado, el control negativo (Tween 80) 0 %, su halo de inhibición que obtuvo fue de $7 \pm 0,0$ mm y el control positivo cloranfenicol obtuvo un halo $26,50 \pm 0,527$ mm; con esto se demuestra el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha spicata L.* contra la *Escherichia coli* enteropatógena, observándose un mayor efecto antibacteriano entre las concentraciones al 100 % y 80 %.

Tabla 5. Indicadores

Sensible	> a 18 mm
Intermedio	13 a 17 mm
Resistente	< a 12 mm

Se realiza la siguiente tabla para establecer los valores que proporcionan el resultado a los indicadores: sensible, intermedio y resistente.

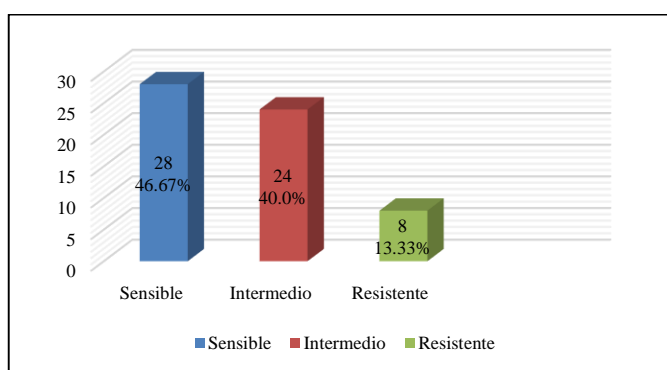


Figura 3. Distribución de sensible, intermedio y resistente.

En la figura 3 se observa el porcentaje total de las repeticiones con su respectiva frecuencia: sensible, intermedio y resistente, en el cual el mayor porcentaje son sensibles 46,7 % en 70 repeticiones.

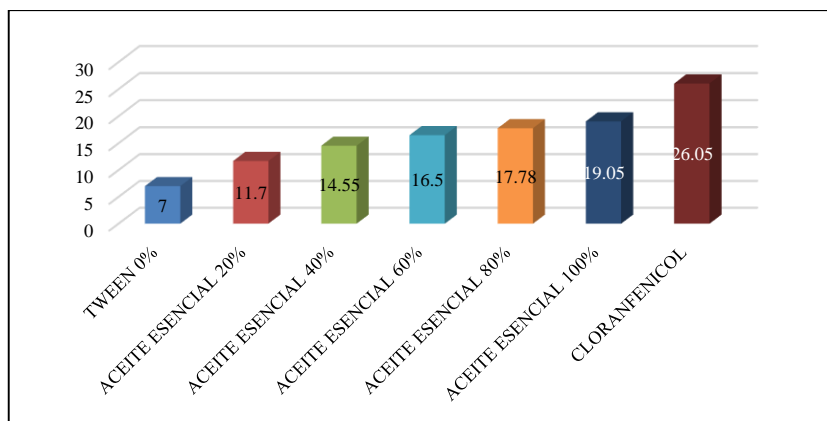


Figura 4. Distribución de las medias de halos de inhibición por cada tratamiento.

La figura 4 muestra los promedios de los halos de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* en sus diferentes concentraciones, frente a la cepa de *Escherichia coli* enteropatógena seguido del control positivo. Se aprecia que el aceite esencial al 100 % obtuvo un promedio de 19,05 mm, seguido del aceite esencial al 80 % con 17,78 mm; los de menor promedio fueron el aceite esencial al 20 % con 11,7 mm y el aceite esencial al 40 % con 14,55 mm.

5.2. Discusión de Resultados

El primer objetivo específico fue determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 20 % sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas. El aceite esencial se obtuvo a través de destilación por arrastre de vapor, esta técnica se emplea para la purificación y diferenciación de líquidos o mezclas para obtenerlos de manera individual, se obtienen por calentamiento hasta generar vaporización, luego se captura el vapor en forma de condensado (42). Nuestros resultados demuestran que el extracto del aceite esencial al 20 % tuvo una media de $11,700 \pm 0,9189$. Los resultados de la investigación coinciden con los obtenidos por Figuerola (15), en su investigación, demostró la capacidad antibacteriana del aceite de *Mentha spicata* sobre *E. coli* cepa 25 922, a una concentración del 75 %, obtuvo un halo de inhibición promedio de 8,9 mm. En nuestra investigación el halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 20 % sobre la *Escherichia coli* fue mínimo, alcanzó 10,00 mm, demostrando que el aceite de *Mentha spicata L.* no tiene un efecto sobre la *Escherichia coli* en dicha concentración.

El segundo objetivo específico fue determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 40 % sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas. La destilación por arrastre de vapor, dio un resultado promedio de $14,550 \pm 0,5986$ al 40 %. Nuestros resultados demuestran que el extracto de aceite esencial tiene un efecto intermedio

para *Escherichia coli*. Éstos coinciden con resultados de Giler et al. (10) cuyo objetivo fue evaluar los efectos antimicrobianos y antioxidantes de mezclas de aceites esenciales de *Mentha spicacata* y *Cymbopogon citratus* contra *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*; en su investigación, su primera mezcla obtuvo un halo de 13,02 mm frente a la *Escherichia coli*, demostrando tener efecto antimicrobiano y antioxidante. A diferencia de nuestro estudio, el aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 40 % tuvo un halo mínimo de 14,00 mm, el cual demuestra que también es eficaz para inhibir a la *Escherichia coli* a las 48 horas. Giler utilizó la mezcla de dos aceites de diferentes plantas y en nuestra investigación solo utilizamos la *Mentha Spicata L.*

El tercer objetivo específico fue determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 60 % sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas. El principio activo principal de la planta es un aceite esencial que contiene mentol (50 al 86 %), mentona, felandreno y limoneno. Esta planta medicinal posee propiedades antiespasmódicas y carminativas sobre el sistema digestivo, antiséptico y antiinflamatorio sobre el sistema respiratorio y antiséptico sobre la piel y mucosas (10). Nuestros resultados demuestran que el extracto al 60 % obtuvo un resultado promedio de $16,500 \pm 0,5774$. Los resultados de la investigación se asemejan a los resultados obtenidos por Nepo y Vasquez R. (14), en su trabajo de investigación evaluó el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata L.* y *Piper aduncum I.* en cepas de *Staphylococcus aureus*, en su concentración de extracto hidroalcohólico al 50 % de *Mentha spicata L.*, el halo de inhibición obtenido fue de 45,54 mm, resaltando el efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*. Respectivamente con el objetivo de determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 60 % sobre la *Escherichia coli*, nuestro halo mínimo fue de 15,5 mm a las 48 horas, demostrando el efecto antibacteriano de ambas investigaciones. Debemos considerar que hay diferencia entre extracto hidroalcohólico, como su nombre lo indica, tiene una parte de alcohol etílico más el empleo de una planta según sea el activo a extraer y el aceite esencial, lo extrajimos mediante el método de destilación por arrastre al vapor, sin alterar la composición química de la *Mentha spicata L.*

El cuarto objetivo específico fue determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 80 % sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas, Se usó para la investigación, la cepa de *Escherichia coli* enteropatógena, que es la más común para infecciones gastrointestinales (34). Los resultados demuestran un efecto sensible en este porcentaje con un promedio de $17,780 \pm 0,4131$ mm. Los resultados de la investigación se pueden comparar con los obtenidos por Sánchez (13), en su trabajo de investigación, evaluó el efecto antibacteriano *in-vitro* de la *Mentha spicata* y *Rosmarinus officinalis* en contra del

Staphylococcus aureus, en su concentración de extracto etanólico al 100 % de *Mentha spicata*, el halo de inhibición obtenido fue de 13,00 mm, resaltando el efecto antibacteriano de la *Mentha spicata*. Respectivamente, con el propósito de determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 80 % sobre la *Escherichia coli*, nuestro halo mínimo fue de 17,00 mm a las 48 horas, demostrando el efecto antibacteriano de ambas investigaciones. Debemos considerar que hay diferencia entre extracto etanólico y aceite, además, el *Staphylococcus aureus* tiene una mayor capacidad de sobrevivencia que la *Escherichia coli*.

El quinto objetivo específico fue determinar la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 100 % sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas. La obtención del aceite por destilación a vapor, que concentra sus principios activos y la técnica modificada de Kirby Bauer, la cual consiste en colocar la sustancia de estudio en un hoyo que se realiza en una placa de agar Muller Hinton (solidificado), se difundirá en el medio circulante hasta que la concentración deje de difundir y ocasionará una inhibición del crecimiento microbiano, logrando formar un halo de inhibición alrededor del hoyo realizado (39). Los resultados $19,050 \pm 0,6852$ mm, se mostraron en su máxima concentración. Estos coinciden con los obtenidos por Bucay (8), en su trabajo evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de *Mentha spicata* frente a *Cándida albicans*, su resultado tuvo una mayor efectividad en una concentración al 100 % con un promedio de 17,67 mm, demostrando su efecto antimicrobiano. En nuestro caso, el halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 100 % sobre la *Escherichia coli*, el promedio fue de 19,050 mm a las 48 horas, observamos que hay una ligera diferencia, esto se debe a la obtención de la planta, la cual pudo estar sometida a diferentes factores como la especie y zona de crecimiento.

El sexto objetivo específico fue comparar el efecto antibacteriano del aceite *Mentha spicata L.* frente al antibiótico cloranfenicol sobre la *Escherichia coli* a las 48 horas. El cloranfenicol es un fármaco derivado del ácido dicloroacético, su uso terapéutico es como antibiótico, su absorción es de manera rápida y completa desde el tracto gastrointestinal (37). Nuestros resultados demuestran que el cloranfenicol obtuvo un resultado $26,50 \pm 0,527$ mm en comparación al aceite esencial al 100 %, que obtuvo un promedio de $19,050 \pm 0,6852$ mm. Los resultados del estudio se asemejan a los obtenidos por Figuerola (15). En su trabajo utilizó el norfloxacino como control positivo para la *E. coli*, el halo que obtuvo fue de 25,3 mm, demostrando que el antibiótico es superior al aceite de *Mentha spicata*, por otro lado, también nosotros utilizamos nuestro control positivo, en este caso cloranfenicol, donde comparamos el efecto antibacteriano del aceite *Mentha spicata L.* en sus diferentes concentraciones, a las 48 horas nuestro control positivo cloranfenicol, dio un halo de inhibición promedio de 26,50 mm,

demostrando así que el cloranfenicol es superior por ser farmacológico. En ambos trabajos de investigación los antibióticos comerciales lograron ser superiores al aceite esencial de *Mentha spicata*.

El objetivo general fue determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la *Mentha spicata L.* sobre la bacteria *Escherichia coli* realizada en el laboratorio de Blue Medical de la ciudad de Arequipa en el 2022, la actividad antibacteriana de los aceites se influenciada por su carácter hidrófilo o hidrófobo, también cuando se realiza combinaciones y concentraciones. Sobre el microorganismo y su membrana externa, estudios demuestran que las bacterias gramnegativas tienen una mayor susceptibilidad a los aceites esenciales (19). Los resultados de la investigación coinciden con los obtenidos por Giler et al. (10). En su estudio tuvo como objetivo general, evaluar la capacidad antimicrobiana y antioxidante de mezclas de aceites esenciales, hierbabuena (*Mentha spicata*) y hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), frente a *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*, en donde descubrió que la mezcla número 01 que contenía una combinación de aceites esenciales (75 µL de hierbabuena y 25 µL de hierbaluisa) tuvo un fuerte efecto antibacteriano de 35,74 mm, inhibiendo a la *Salmonella typhimurium*, la mezcla 02 (50 µL de hierbabuena y 50 µL de hierbaluisa) inhibió a la *Listeria monocytogenes* con una zona de inhibición de 33,92 mm, igual logró inhibir la *E.coli* con un halo de 13,02 mm. Sin embargo, en nuestra investigación, el mayor halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* fue una concentración del 100 % con un promedio de 19,050 mm frente a la *Escherichia coli*. Demostrando así que nuestro aceite esencial tiene la capacidad de inhibir el efecto antibacteriano, se observa que hay diferencia en los resultados, esto se debe a los diferentes métodos aplicados, concentraciones y mezclas. Giler empleó el método de Kirby Bauer, y en nuestra investigación aplicamos el método de difusión placa y hoyo, debido a que da una mejor concentración y difusión del aceite esencial.

Conclusiones

1. En la investigación, se determinó que el efecto antibacteriano de *Mentha spicata L.* sobre la bacteria *Escherichia coli* es favorable de acuerdo a la concentración del aceite vegetal (porcentajes), ya que al realizar el método Kirby Buer modificado, se evidenció inhibición del crecimiento de la bacteria, los estadísticos descriptivos muestran una diferencia en los resultados tomando en cuenta la media aritmética, por lo tanto se determinó que el efecto antibacteriano varía de acuerdo a la concentración del aceite de *Mentha Spicata L.*, esto quiere decir que, si existe mayor concentración de principio activo mejor será el efecto antibacteriano.
2. En la investigación, se determinó la medida del halo de inhibición del aceite de *Mentha spicata L.* al 20 % sobre la *Escherichia coli*, dicha experimentación demostró un resultado desfavorable, ya que la media aritmética del halo de inhibición es de 11,70 mm y teniendo en cuenta los indicadores de inhibición, se afirma que existe una resistencia bacteriana por parte de la *Escherichia coli* contra el aceite vegetal al 20 %.
3. En la investigación, se determinó la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 40 % sobre la *Escherichia coli*, el resultado obtenido fue beneficioso, ya que la media aritmética del halo de inhibición es de 14,550 mm. Teniendo en cuenta los indicadores de inhibición, se afirma que existe una sensibilidad de nivel intermedio por parte de la *Escherichia coli* contra el aceite vegetal al 40 %.
4. En la investigación, se determinó la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 60 % sobre la *Escherichia coli*, la experimentación demostró un resultado favorable, ya que la media aritmética del halo de inhibición es de 16,500 mm. Teniendo en cuenta los indicadores de inhibición, se afirma que existe una sensibilidad de nivel intermedio por parte de la *Escherichia coli* contra el aceite vegetal al 60 %.
5. En la investigación, se determinó la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 80 % sobre la *Escherichia coli*, dicha experimentación demostró un resultado beneficioso a comparación de las diluciones anteriores, ya que la media aritmética del halo de inhibición es de 17,780 mm. Teniendo en cuenta los indicadores de inhibición, se afirma que, existe una susceptibilidad de nivel intermedio por parte de la *Escherichia coli* contra el aceite vegetal al 80 %.
6. En la investigación, se determinó la medida del halo de inhibición del aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 100 % sobre la *Escherichia coli*, dicha investigación demostró un

resultado favorable mayor que la concentración al 80 %, ya que la media aritmética del halo de inhibición es de 19,050 mm. Teniendo en cuenta los indicadores de inhibición, se afirma que existe es sensible por parte de la *Escherichia coli* contra el aceite esencial al 100 %.

7. A través de esta investigación, se comparó el efecto antibacteriano del aceite *Mentha spicata L.* frente al antibiótico cloranfenicol sobre la *Escherichia coli*, dicha investigación evidencia un resultado comparable, ya que la media aritmética del halo de inhibición del cloranfenicol es de 26,50 mm y la del aceite esencial al 100 % fue de 19,050 mm. Se halló una mayor actividad antimicrobiana por el antibiótico cloranfenicol sobre la *Escherichia coli* con gran similitud para el aceite esencial al 100 %.

Recomendaciones

1. Dado que los resultados favorables y desfavorables varían de acuerdo a la concentración del aceite de *Mentha spicata L.* para evidenciar el efecto antibacteriano sobre la *E. coli*, es recomendable, establecer un punto de inhibición o una medida de actividad antibacteriana en la concentración de aceite vegetal, para que a partir de esta concentración se puedan realizar los trabajos de investigación relacionados al grado de actividad antibacteriana del aceite de *Mentha spicata L.*
2. Una vez identificado la medida del halo de inhibición correspondiente a la actividad antibacteriana de la *Mentha spicata L.* a una concentración del 20 % sobre la *Escherichia coli*, es recomendable realizar los ensayos microbiológicos teniendo en cuenta un punto de partida respecto a la concentración del aceite vegetal extraída por destilación a vapor.
3. La investigación realizada para hallar la medida del halo de inhibición que corresponde a la concentración del 40 % fue intermedio con respecto a la susceptibilidad antibacteriana enfrentada a la *Escherichia coli*, se recomienda para investigaciones posteriores tener cuidado en el proceso de selección y almacenamiento de la planta *Mentha spicata L.* no exponerla a la luz y utilizar solo hojas sin el tallo y preferiblemente secas para alcanzar mayor volumen en la obtención del aceite.
4. Teniendo identificada la medida del halo de inhibición correspondiente a la concentración de aceite al 60 % enfrentada a la *Mentha spicata L.*, comparándolo con los indicadores de inhibición, existe una inhibición intermedia por parte de la *Escherichia coli*, se recomienda tener todos los cuidados en bioseguridad para el plaqueo e inoculación de la bacteria; así mismo las placas inoculadas deberán estar boca arriba ya que el aceite podría derramarse, además deberán estar exactamente 48 horas. Este procedimiento asegura una mejor lectura de los halos de inhibición, evitando posibles contaminaciones.
5. En el proceso de identificación del halo de inhibición del aceite de esencial de *Mentha spicata L.* al 80 % frente a la *Escherichia coli*, y según los indicadores obtenidos, el resultado se halla como intermedio, por lo tanto, se recomienda utilizar otras técnicas de obtención que potencien el principio activo, como por ejemplo, un extracto hidroalcohólico de la planta a estudiar, para mejorar los resultados con respecto al halo de inhibición.
6. Nuestra experimentación del aceite esencial de *Mentha spicata L.* a una concentración al 100 %, muestra como resultado un halo de inhibición según los indicadores sensible, ya

que este resultado alcanzó el objetivo de la tesis, se recomienda en posteriores investigaciones utilizar la técnica de Kirby Bauer modificada, el método de excavación hoyo placa, para obtener los resultados esperados, ya que concentra más aceite en el hoyo a diferencia de un disco de papel impregnado que sería el otro método a utilizar.

7. El uso de antibióticos en esta investigación como control positivo, dieron resultados favorables, según nuestros datos en esta investigación, se recomienda el empleo de diferentes antibióticos como control positivo según las bacterias que proponga investigar.

Referencias Bibliográficas

1. Sierra Orcón RM. “Serotipificación de *Escherichia coli* aislados en coprocultivos positivos de niños menores de 5 años atendidos en el hospital Ramiro Priale. [Huancayo-Perú]: Universidad de los Andes; 2019.
2. Antibióticos: Clasificación, estructura, mecanismo de acción y resistencia/Edulp integra la Red de Editoriales Universitarias Nacionales (REUN), 2020-Libro.
3. Del Solar D, Villegas L, Diaz C. EPRDCAMQ. Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal. Rev Estomatol Herediana; 2015.
4. OMS. Estrategias de la OMS sobre medicina tradicional Hong Kong SAR China. [Online].: WHO; 2022 [cited 2022 05 22. Available from: www.who.int.
5. Valdés MAS, editor. La Resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Vol.16. Revista habanera de ciencias médicas; La Habana mayo-junio; 2017.
6. Giraldo Hoyos N. Historia de la penicilina: más allá de los héroes, una construcción social. Latreia, abril-junio;2021.
7. Bustamante Cabrera. Efecto antibacteriano *in-vitro* de los extractos etanólicos de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Mentha spicata* (hierbabuena) sobre *Escherichia coli*. Perú: Universidad Roosevelt. Facultad de Ciencias de la Salud.; 2021.
8. Bucay M. Evolución de la actividad antimicrobiana *in vitro* de *Mentha* frente a *Cándida albicans*. Tesis Ecuador: Universidad Autónoma de los Andes. Facultad de Ciencias Médicas; 2018.
9. López O. Evaluación de la actividad bacteriostática de la oleorresina de cuatro especies americanas, hoja de achiote (*Bixa orellana*, l.), pimienta gorda (*Pimenta dioica* (L.) Merril), hoja de aguacate (*Persea americana* Miller) y hierbabuena (*Mentha spicata* L.) cont Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ingeniería; 2017.
10. Gilber M, col. Evaluación de la capacidad antimicrobiana y antioxidante de la mezcla de aceites esenciales, hierbabuena (*Mentha spicata*) y hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), frente a salmonella *typhimurium*, listeria *Monocytogenes* y *Escherichia coli*. Ecuador: Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química.; 2020.

11. Morales C. Efecto antimicrobiano, fisicoquímico y sensorial del aceite esencial de *Mentha spicata* (Hierbabuena) incorporado en la formulación del queso Dip Colombia: Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD. Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería; 2020.
12. Borozan A, Aurica B, col. Evaluación comparativa de la actividad antibacteriana de cultivos (*Mentha spicata* var. *viridis*) y menta silvestre (*Mentha smithiana*) especies. 2415054th ed.: Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology; 2020.
13. Sanchez Q, Vásquez A. Efecto antibacteriano *in-vitro* de los extractos de *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Mentha spicata* (Hierbabuena) sobre *Staphylococcus aureus* Huancayo, Perú: Universidad Roosevelt. Facultad de la Salud.; 2021.
14. Nepo C, Vásquez R. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Mentha spicata* L. “hierbabuena” y piper aduncum L. “matico” en cepas clínicas *Staphylococcus aureus* Lima, Perú: Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud.; 2021.
15. Figuerola V. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha spicata* sobre *Escherichia coli* cepa 25922 comparado con norfloxacino, *in vitro* Trujillo, Perú: Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas; 2018.
16. Fernández P, Perales C. Efecto antibacteriano de los extractos etanólico y acuoso de *Mentha spicata* L. “hierbabuena” sobre *Staphylococcus aureus*. Lima, Perú: Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud; 2021.
17. Mamani H. Comparación de la inhibición hidroalcohólica de la *Mentha spicata* y la nistatina para inhibir el crecimiento *in vitro* de *Cándida albicans*, Juliaca 2018. Juliaca, Perú: Universidad Alas Peruanas, Facultad de Medicina Humana y Ciencia de la Salud; 2018.
18. Asociación Española de Médicos Naturistas Fitoterapia. Vademécum de Prescripción: Plantas medicinales Barcelona, España: Colegio Oficial de Farmacéuticos de Bizkaina; 1998.
19. Zuni Mamani. Actividad antibacteriana “*in vitro*” del aceite esencial de menta (*Mentha piperita* L.) frente a *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC). Puno, Perú: Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Biológicas; 2017.
20. Hevea L. Infinite vegetal. Los aceites esenciales. [Online].; s/f [cited 2022 05 08].

Available from: <https://acortar.link/yzI3D1>.

21. Alejandro M. Aceites Esenciales: Universidad de Antioquia, Facultad Química Farmaceutica; 2003.
22. Salvá Mamani E. Estabilidad oxidativa y microbiológica de un embutido cocido de vísceras rojas de *Cavia porcellus* con extracto etanólico de *Mentha spicata*; s/f.
23. Diandian S. Development of anti-inflammatory agents from the aromatic plants, *Origanum spp.* and *Mentha spp.*, and analytical methods on the quality control of bioactive phenolic compounds New Jersey New Jersey, EE. UU.: The Estate University of New Jersey; 2008.
24. Brack Egg A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú – Programa de Naciones Unidas para el desarrollo Cusco, Perú: Centro Bartolomé de las Casas; 1999.
25. Villar M, Villavicencio O. Manual de Fitoterapia Lima, Perú: EsSalud OPS-OMS; 2001.
26. Cáceres A. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala: Editorial Universitaria Guatemala USAC; 1999.
27. El-Awady S, Essam T, Hashem A, Boseila A, Mohammed A. Assessment of Antiviral Activity for Lamiaceae Family Members Against Rna and Dna Virus Models Using Cell-Culture: *in vitro* Study: World Journal of Medical Sciences; 2014.
28. Cerón C. Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos Ecuador: Rev. Bot. Ec. Andes Centrales; 2006.
29. PDR. PDR for Herbal medicines. 2nd ed. USA: Medicor Economics Comp.; 2000.
30. La Valle J. Natural Therapeutics Pocket Guide. 1st ed. Ohio, USA: Lexi-Comp.; 2001.
31. Facts and Comparisons. The Lawrence Review of Natural Products Missouri, USA: Pub. Med.; 1992.
32. Asociación Española de Médicos Naturistas Fitoterapia. Vademécum de Prescripción: Plantas medicinales Barcelona, España: Colegio Oficial de Farmacéuticos de Bizkaina; 1998.
33. Koneman E, *E. coli*. Diagnóstico microbiológico: Texto y atlas color. 6th ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Panamericana; 2008.

34. Rodríguez G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli* México D.F.: Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos; 2002.
35. Vidal J. *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC): Una causa frecuente de diarrea infantil. [Online].; 2003 [cited 2022 05 22. Available from: <https://acortar.link/i7e9Tq>.
36. Lizzett Y. La enfermedad diarreica aguda en el Perú. Boletín epidemiológico del Perú SE 51-2021 [Internet] [consultado 15 Set 2022]; 30(6). Disponible en: <https://acortar.link/0k9Lzl>
37. Elizabeth M. Riesgo de infecciones asociadas a la atención de la salud causadas por *Enterobacteriales* y *Acinetobacter* con doble producción de carbapenemasas. Boletín epidemiológico del Perú SE 51-2021 [Internet] [Consultado 15 Set 2022]; p. 14-15. Disponible en: <https://acortar.link/0k9Lzl>
38. Médicos. Antiinfecciosos para uso sistémico: Vademécum Médico del Perú Lima, Perú: Ediciones Pablo Grimberg.; 2012.
39. Huaricallo L. Evaluación *in vitro* del efecto antimicrobiano de los extractos de *Lepidium chichicara* “jhanukara” sobre cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* - Arequipa, 2014 Perú: Universidad Católica de Santa María, facultad de ciencias farmacéuticas, bioquímicas y biotecnológicas, 2015.
40. Wix site. Halo de inhibición. [Online].; s/f [cited 2022 05 28. Available from: <https://acortar.link/WIwVjV>.
41. Quimica.es. Método kirby_bauer. [Online].; s/f [cited 2022 05 28. Available from: https://www.quimica.es/enciclopedia/M%C3%A9todo_Kirby-Bauer.html
42. Informe TNA. Decantation. [Online].; s/f [cited 2022 05 29. Available from: <https://acortar.link/60Icz2>
43. TP laboratorio clínico. Que es la Destilación. [Online]., s/f [cited 2022 05 30. Available from: <https://acortar.link/jxj1FO>
44. Hernández R, Fernández C, Baptista. Metodología de la investigación. 6th ed. Martínez ER, editor. México: Mc Graw Hill Education; 2014.
45. Elvis Rafael. Revista de Investigación Multidisciplinaria. [Online].; s/f [cited 2023 02 08. Available from: <https://acortar.link/zLYU7I>

46. Fabbri MS. Las técnicas de investigación: la observación. [Online].; s/f [cited 2022 05 28. Available from: <http://institutocienciashumanas.com/wp-content/uploads/2020/03/Las-t%C3%A9cnicas-de-investigaci%C3%B3n.pdf>
47. Ricaldi N. Perfil de Resistencia antimicrobiana en cepas de *E. coli* y *Klebsiella pneumonia* obtenidas de urocultivos positivos de pacientes atendidos en el Policlínico Metropolitano de Huancayo – EsSalud, Perú: Universidad Continental, Facultad de Ciencias de la Salud, 2022.
48. Murray, Rosenthal, Pfaller. Microbiología Médica” 7º Edición. Barcelona, España: Elsevier; 2014.

Anexos

Anexo 1. Matriz de Consistencia

Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables e indicadores	Metodología	Población y muestra
<p>Problema general</p> <p>¿Cuál es el efecto antibacteriano del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> contra <i>Escherichia coli</i> realizado en el laboratorio Blue Medical de la ciudad de Arequipa en el 2022?</p> <p>Problemas específicos</p> <p>1. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 20 % a las 48 horas?</p> <p>2. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 40 % a las 48 horas?</p> <p>3. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 60 % a las 48 horas?</p> <p>4. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 80 % a las 48 horas?</p> <p>5. ¿Cuál es la medida del halo de inhibición del del Aceite</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de <i>Mentha spicata L.</i> sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> realizada en el laboratorio Blue Medical de la ciudad de Arequipa en el 2022.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>1. Determinar la medida del halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 20 % sobre la <i>Escherichia coli</i> a las 48 horas.</p> <p>2. Determinar la medida del halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 40 % sobre la <i>Escherichia coli</i> a las 48 horas.</p> <p>3. Determinar la medida del halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 60 % sobre la <i>Escherichia coli</i> a las 48 horas.</p> <p>4. Determinar la medida del halo de inhibición del Aceite esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 80 % sobre la <i>Escherichia coli</i> a las 48 horas.</p> <p>5. Determinar la medida del halo de inhibición del Aceite esencial de</p>	<p>Existe efecto antibacteriano del aceite esencial de la <i>Mentha spicata L.</i> sobre la bacteria <i>Escherichia coli</i> realizada en el laboratorio Blue Medical de la ciudad de Arequipa en el 2022.</p>	<p>Variable Independiente:</p> <p>Aceite esencial <i>Mentha spicata L.</i></p> <p>Indicadores:</p> <p>0 %</p> <p>20 %</p> <p>40 %</p> <p>60 %</p> <p>80 %</p> <p>100 %</p> <p>Control positivo Cloranfenicol</p> <p>Variable Dependiente:</p> <p>Efecto antibacteriano contra <i>E.coli</i></p> <p>Indicadores:</p> <p>Sensible: > 18</p> <p>Intermedio: 13 a 17</p>	<p>Método:</p> <p>Cuantitativa</p> <p>Tipo:</p> <p>Aplicada</p> <p>Alcance o nivel:</p> <p>Explicativo</p> <p>Diseño:</p> <p>Experimental</p>	<p>Población:</p> <p>70 placas de Agar Mueller Hinton inoculadas con <i>Escherichia coli.</i></p> <p>Muestra:</p> <p>Muestra censal</p> <p>Técnicas:</p> <p>Observacional</p> <p>Instrumentos:</p> <p>Ficha de Recolección de Datos elaboración propia</p>

Problemas	Objetivos	Hipótesis	Variables e indicadores	Metodología	Población y muestra
<p>esencial de <i>Mentha spicata L.</i> al 100 % a las 48 horas?</p> <p>6. ¿Cuál es el efecto antibacteriano del cloranfenicol a las 48 horas?</p>	<p><i>Mentha spicata L.</i> al 100 % sobre la <i>Escherichia coli</i> a las 48 horas.</p> <p>6. Comparar el efecto antibacteriano del aceite <i>Mentha spicata L.</i> frente al antibiótico cloranfenicol sobre la <i>Escherichia coli</i> a las 48 horas.</p>		Resistente: < 12		

Anexo 2. Documento de Aprobación por el Comité de Ética



“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”

Huancayo, 16 de setiembre del 2022

OFICIO N°0148-2022-VI-UC

Investigadores:

Flor Vanessa Chunga Mamani

Claudia Carmen Luque Mendoza Sandra Lisbeth Guzman Gutierrez

Presente-

Tengo el agrado de dirigirme a ustedes para saludarles cordialmente y a la vez manifestarles que el estudio de investigación titulado: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Mentha spicata* L. SOBRE *Escherichia coli* REALIZADO EN EL LABORATORIO DE BLUE MEDICAL, AREQUIPA 2022.**

Ha sido **APROBADO** por el Comité Institucional de Ética en Investigación, bajo las siguientes precisiones:

El Comité puede en cualquier momento de la ejecución del estudio solicitar información y confirmar el cumplimiento de las normas éticas.

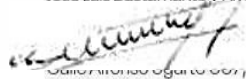
El Comité puede solicitar el informe final para revisión final.

Aprovechamos la oportunidad para renovar los sentimientos de nuestra consideración y estima personal.

Atentamente,

Arequipa
Av. Los Incas S/N,
José Luis Bustamante y Rivero

Cusco
Urb. Manuel Prado - Lote B, N° 7 Av. Collasuyo
(084) 480 070


Walter Calderón Gerstein
Presidente del Comité de Ética
Universidad Continental

Sector Angostura KM. 10,
carretera San Jerónimo - Saylla
(084) 480 070



Huancayo
Av. San Carlos 1980
(064) 481 430

Lima
Av. Alfredo Mendiola 5210, Los Olivos
(01) 213 2760

Jr. Junín 355, Miraflores
(01) 213 2760

Anexo 3. Permiso Institucional



CONSTANCIA

EL CENTRO MEDICO BLUE MEDICAL EN EL AREA DE LABORATORIO CLINICO A CARGO DEL
BIOLOGO JAVIER ANTONIO VELA CUADROS CON C.B.P. 6994

HACE CONSTAR:

Que los bachilleres en Tecnología médica, FLOR VANESSA CHUNGA MAMANI, con DNI 41846402; SANDRA LISBETH GUZMAN GUTIERREZ, con DNI 72312123 y CLAUDIA CARMEN LUQUE MENDOZA, con DNI 71945618, están realizando una investigación in vitro para optar su título profesional con la investigación "EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Mentha spicata* L. SOBRE *Escherichia coli* REALIZADO EN EL LABORATORIO DE BLUE MEDICAL, AREQUIPA 2022", de acuerdo con los parámetros de la investigación es un estudio que se realizara en placas Petri para la observación y crecimiento de una bacteria específica para lo cual dicho estudio no requerirá pacientes.

Se expide el documento a solicitud de los interesados para los fines por conveniente.

Arequipa 27 Julio del 2022

BIOLOGO

JAVIER ANTONIO VELA CUADROS

Javier Antonio Vela Cuadros
BIOLOGO
CBP. 6994



CAL. CLORINDA MATTO DE TURNER 132 MZA. B LOTE. 1 URB. PABLO VI, I ETAPA - AREQUIPA - (Frente al Hospital General)

Atención: Lunes a Viernes 7:00 am a 19:00 horas
Sábados 7:00 am a 18:00 horas
Domingos y feriados 7:00 am a 12:30 horas

Celular: 956 778 725 - 992 006 749
989 505 045 - 986 198 337
Contactos: blue@bluemedicalperu.com
administracion@bluemedicalperu.com

www.bluemedicalperu.com

Anexo 4. Ficha de Recolección de Datos



ESPECIE	Medida del Halo de Inhibición en mm en Placa Petry						
	Twin 0 %	Aceite Esencial 20 %	Aceite Esencial 40 %	Aceite Esencial 60 %	Aceite Esencial 80 %	Aceite Esencial 100 %	Cloranfenicol Control positivo
Cultivo N°1							
Cultivo N°2							
Cultivo N°3							
Cultivo N°4							
Cultivo N°5							
Cultivo N°6							
Cultivo N°7							
Cultivo N°8							
Cultivo N°9							
Cultivo N°10							

Anexo 5. Validación del Instrumento



EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Mentha spicata* L. SOBRE *Escherichia coli* REALIZADO EN EL LABORATORIO DE BLUE MEDICAL, AREQUIPA 2022

ESCALA DE APRECIACIÓN DE JUEZ EXPERTO: ACEITE ESENCIAL DE *Mentha spicata* L.

Sírvase contestar marcando con una X en la casilla que considere conveniente, pudiendo asimismo considerar necesario incluir alguna sugerencia.

N°	Indicadores de evaluación del instrumento	CRITERIOS Sobre los ítems del instrumento	Sí	No	Sugerencia
1	Claridad	Están formulados con lenguaje apropiado que facilita su comprensión. Su sintáctica y semántica son adecuadas.	X		
2	Objetividad	Están expresados en conductas observables y medibles.		X	
3	Consistencia	Están basados en aspectos teóricos y científicos.	X		
4	Coherencia	Existe relación lógica de los ítems con los índices, indicadores y dimensiones.	X		
5	Pertinencia	El instrumento es funcional para el propósito de la investigación.	X		
6	Suficiencia	Son suficientes la cantidad y calidad de ítems para obtener la medición de la variable.	X		
7	Actualidad	Está de acorde al avance de la ciencia y tecnología.	X		
8	Metodología	La estructura sigue un orden lógico.	X		

Opinión de aplicabilidad: Aplicable [] Aplicable después de corregir [] No aplicable []

Aportes o sugerencias para mejorar el instrumento: _____

Nombres y Apellidos	JORGE LUIS FLORI GONZALEZ
Grado (s) Académico (s) - Universidad	LICENCIADO - COTAP: 2813
Profesión	TECNÓLOGO MEDICO


 Firma - DNI 87933084

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Mentha spicata* L.
SOBRE *Escherichia coli* REALIZADO EN EL LABORATORIO DE BLUE
MEDICAL, AREQUIPA 2022**

ESCALA DE APRECIACIÓN DE JUEZ EXPERTO: EFFECTO ANTIBACTERIANO SOBRE *Escherichia coli*

Sírvase contestar marcando con una X en la casilla que considere conveniente, pudiendo asimismo de considerarlo necesario incluir alguna sugerencia.

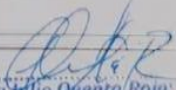
Nº	Indicadores de evaluación del instrumento	CRITERIOS Sobre los ítems del instrumento	Sí	No	Sugerencia
1	Claridad	Están formulados con lenguaje apropiado que facilita su comprensión. Su sintáctica y semántica son adecuadas.	X		
2	Objetividad	Están expresados en conductas observables y medibles.	X		
3	Consistencia	Están basados en aspectos teóricos y científicos	X		
4	Coherencia	Existe relación lógica de los ítems con los índices, indicadores y dimensiones.	X		
5	Pertinencia	El instrumento es funcional para el propósito de la investigación.	X		
6	Suficiencia	Son suficientes la cantidad y calidad de ítems para obtener la medición de la variable.	X		
7	Actualidad	Está de acorde al avance de la ciencia y tecnología.	X		
8	Metodología	La estructura sigue un orden lógico.	X		

Opinión de aplicabilidad: **Aplicable** [] **Aplicable después de corregir** [] **No aplicable** []






Aportes o sugerencias para mejorar el instrumento:

.....
.....
.....

Nombres y Apellidos	Jesús Quenta Rojas
Grado (s) Académico (s) - Universidad	REGISTRAR EN DOCENCIA UNIVERSITARIA Y GESTION EDUCATIVA - ALAS PERUVANAS
Profesión	TECNÓLOGO MEDICO


 Mg. Jesús Quenta Rojas
 LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA
 TECNÓLOGO MÉDICO
 CTMP 10342
 29677360
 Firma - DNI

Anexo 6. Clasificación Taxonómica.

	INSTITUTO CIENTÍFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD) Investigación, Conservación, Educación y Transformación de Recursos <small>Reconocido por Resolución de Dirección General Nro. 140-2016-SERFOR/DGSGSPPS</small>	
"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"		
CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN DE MUESTRAS N° 010-2022		
El Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD).		
HACE CONSTAR:		
Que la muestra presentada por las Srtas. Flor Vanessa Chunga Mamani, Claudia Luque Mendoza y Sandra Lisbeth Guzmán Gutiérrez recolectada en el distrito de Puquina, provincia de General Sánchez Cerro y departamento de Moquegua, para la realización de la tesis: "Efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Mentha spicata</i> (Hierbabuena), sobre <i>Escherichia coli</i> , realizado en el Laboratorio Blue Medical Arequipa 2022", fueron determinadas taxonómicamente en las instalaciones del Herbario del Instituto Científico Michael Owen Dillon, "Herbario Sur Peruano" (HSP), corresponde a:		
Clase: Equisetopsida C. Agardh Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht. Orden: Lamiales Bromhead Familia: Lamiaceae Martinov Género: <i>Mentha</i> L. Especie: <i>Mentha spicata</i> L.		
La clasificación se ha realizado según la propuesta por: Angiosperm Phylogeny Group (APG) IV en "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV" (2016).		
Se expide la presente, a solicitud de las interesadas, para los fines que estimen conveniente.		
Arequipa, 14 de junio del 2022		
	 Dr. Blgo. Víctor Quipuscoa Silvestre C. R. P. N° 2404 Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD) Herbario Sur Peruano (HSP) quipuscoa@hspmail.com www.institutoimod.org.pe	
<small>Dirección: Av. Jorge Chávez No. 610 Cercado, Arequipa - Perú Página web: http://www.imod.org.pe/ Correo: imod.per@gmail.com</small>		

Anexo N°7: Tificación de la CEPA *Escherichia coli*



ESCHERICHIA COLI NO TIPIFICADA

A) PRUEBAS BIOQUIMICAS:

PRUEBA	RESULTADO
Macconkey	Lactosa positiva
TSI	A/A**
LIA	K/A*
CITRATO SIMMONS	NEGATIVO
UREA	NEGATIVO
INDOL	POSITIVO
MOVILIDAD	POSITIVO

B) SUEROS POLIVALENTES LABORATORIOS PROBAC DO BRASIL:

PRUEBA	RESULTADO
SUERO POLIVALENTE	ESCHERICHIA COLI ENTEROPATOGENA CLASICA POLIVALENTE "A"

BIOLOGO JAVIER ANTONIO VELA CUADROS

Responsable del Laboratorio de BLUE MEDICAL

Javier Antonio Vela Cuadros
BIÓLOGO
C.B.P. 6024



CAL. CLORINDA MATTO DE TURNER 132 MZA. B LOTE. 1 URB. PABLO VI, I ETAPA - AREQUIPA - (Frente al Hospital General)

Atención: Lunes a Viernes 7:00 am a 19:00 horas
Sábados 7:00 am a 18:00 horas
Domingos y feriados 7:00 am a 12:30 horas

Celular: 956 778 725 - 992 006 749
989 505 045 - 986 198 337

Contactos: blue@bluemedicalperu.com
administracion@bluemedicalperu.com

www.bluemedicalperu.com

Anexo 8. Imágenes



Figura 5. Recolección de la *Mentha spicata*.



Figura 6. Eliminación de las hojas en mal estado.

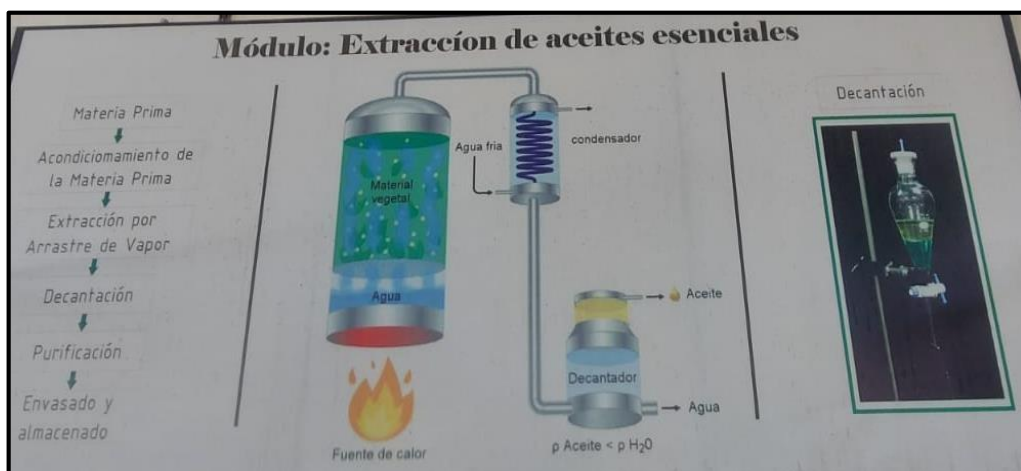


Figura 7. Extracción de aceite esencial por arrastre de vapor.
Fuente. FAGSOL S.A.C



Figura 8. Proceso de la elaboración del aceite esencial de *Mentha spicata*.



Figura 9. Halo de inhibición de Tween 0 % a las 48 horas.



Figura 10. Halo de inhibición del Aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 20 % a las 48 horas.

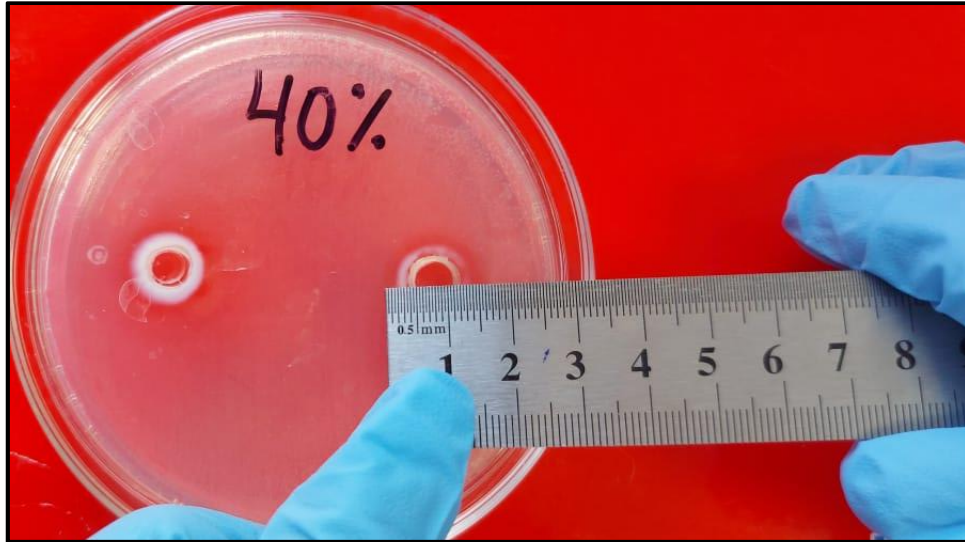


Figura 11. Halo de inhibición del Aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 40 % a las 48 horas.

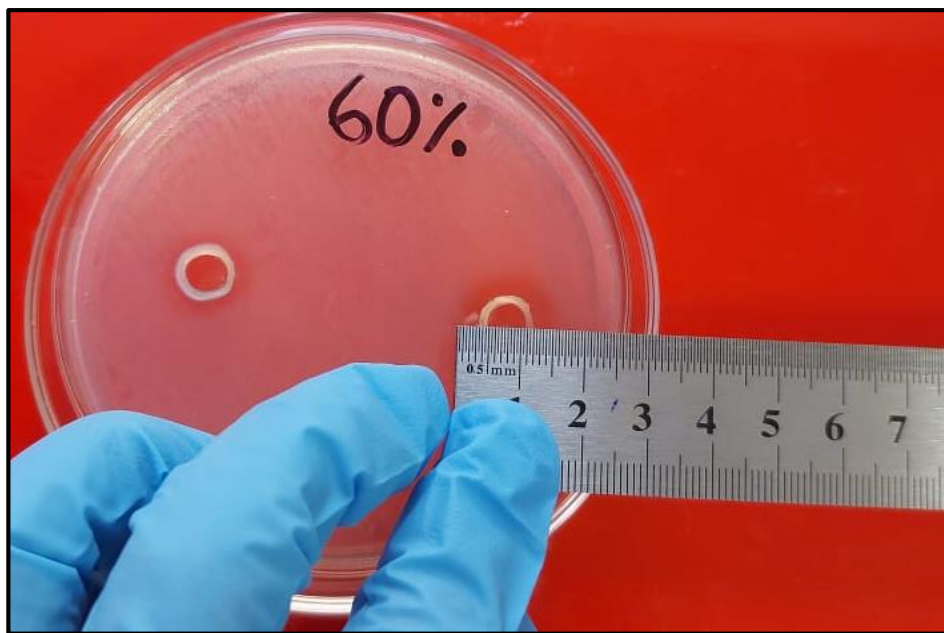


Figura 12. Halo de inhibición del Aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 60 % a las 48 horas.

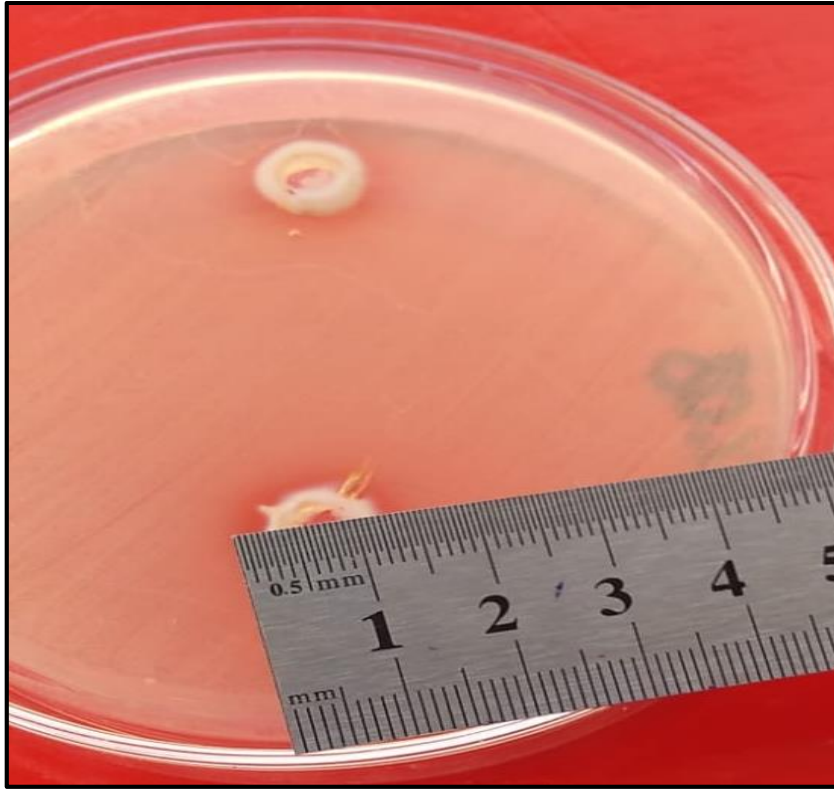


Figura 13. Halo de inhibición del Aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 80 % a las 48 horas.

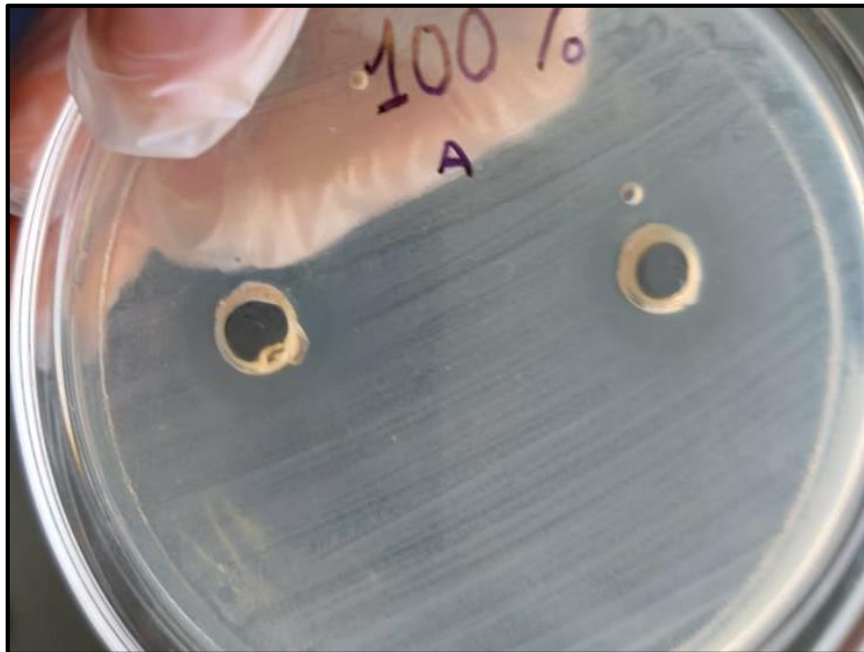


Figura 14. Halo de inhibición del Aceite esencial de *Mentha spicata L.* al 100 % a las 48 horas.

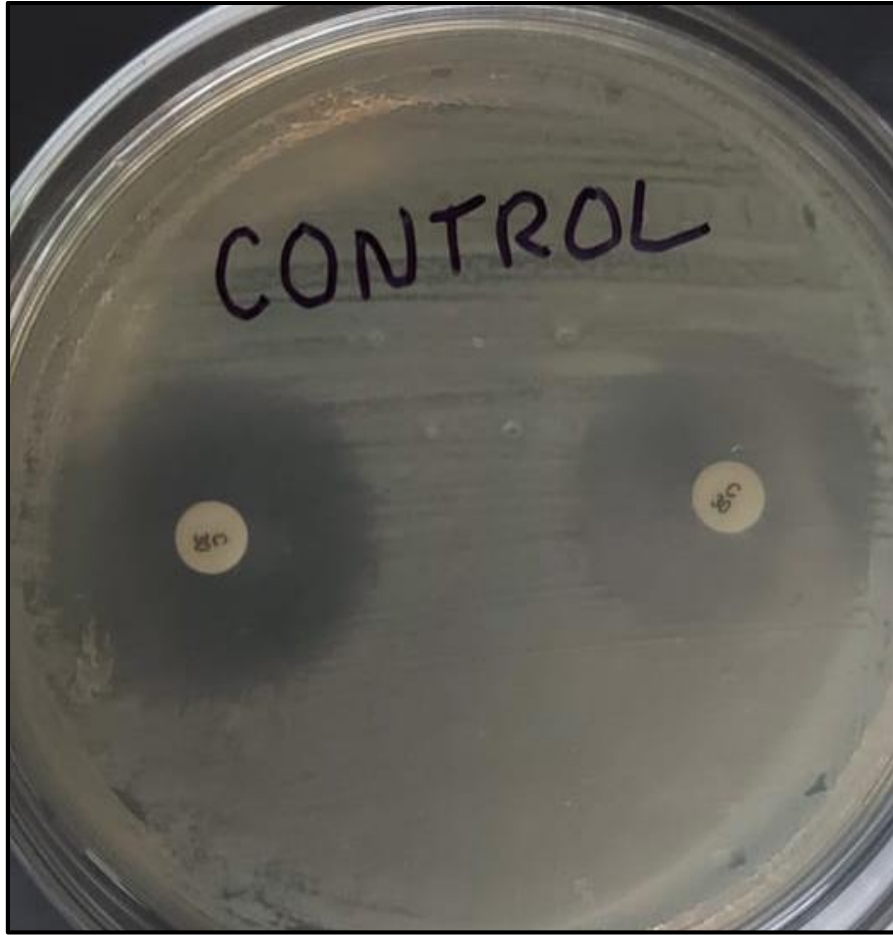


Figura 15. Halo de inhibición del control positivo cloranfenicol a las 48 horas.