

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD

Escuela Profesional de Estomatología

TESIS

EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE
MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) EN DIFERENTES
CONCENTRACIONES SOBRE ENTEROCOCCUS FAECALIS
ATCC 29212. ESTUDIO IN VITRO

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
CIRUJANO DENTISTA**

PRESENTADO POR:

Bach. GONZALES SALVAGNO DE CORI, GIOVANNA MIRELLA

ASESORA:

MG. GIULIANA MELISA DE LA PAZ AYALA

LIMA – PERÚ

2022

A mi familia su apoyo incondicional, por su comprensión y su paciencia A todos doctores y amigos que me apoyaron en la realización del presente trabajo.

A mi Esposo y mi Hija, por su tiempo y
Apoyo en la elaboración del presente
estudio.

A Dios, por darme salud y fuerza.

ÍNDICE

Pág.

Agradecimiento	i
Dedicatoria	ii
Índice de contenido	iii
Índice de tabla	vii
Índice de gráfico	x
Resumen	xi
Abstract	xii
Introducción	xiii

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática	14
1.2. Formulación del problema	15
1.2.1. Problema principal	15
1.2.2. Problemas específicos	15
1.3. Objetivos de la investigación	16
1.3.1. Objetivo principal	16
1.3.2. Objetivos específicos	16

1.4.	Justificación de la investigación	17
1.4.1.	Importancia de la investigación	17
1.4.2.	Viabilidad de la investigación	18
1.5.	Limitaciones del estudio	18

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1.	Antecedentes de la investigación	19
2.1.1.	Internacionales	19
2.1.2.	Nacionales	19
2.2.	Bases teóricas	22
2.3.	Definición de términos básicos	27

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1.	Formulación de hipótesis principal y específicas	29
3.2.	Variables:	29
3.2.1.	Definición de las variables	30
3.2.2.	Operacionalización de las variables	30

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA

4.1.	Diseño metodológico	32
4.2.	Diseño muestral	33

4.3.	Técnicas de recolección de datos	34
4.4.	Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información	39
4.5.	Aspectos éticos	39

CAPÍTULO V: RESULTADOS

5.1.	Análisis descriptivo	40
5.2.	Análisis Inferencial	54
5.3.	Comprobación de hipótesis	56
5.4.	Discusión	57

CONCLUSIONES	59
---------------------	----

RECOMENDACIONES	60
------------------------	----

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	61
-----------------------------------	----

ANEXOS

Anexo 1: Carta de uso de laboratorio.

Anexo 2: Técnica analítica

Anexo 3: Certificado Genlab

Anexo 4: Protocolo de Análisis

Anexo 5: Constancia del Museo de Historia Natural

Anexo 6: Constancia de Participación en el Proceso de Análisis

Anexo 7: Instrumento de Recolección de Datos

Anexo 8: Matriz de Consistencia

Anexo 9: Fotografías

ÍNDICE DE TABLAS

PÁG.

Tabla N° 1: Distribución de resultados para halo de inhibición de eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 24 horas	40
Tabla N° 2: Distribución de resultados para halo de inhibición de eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 48 horas	43
Tabla N° 3: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) al 25%, 50%, 75 % y 100% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 24 horas	46
Tabla N° 4: Distribución de resultados para Halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) al 25%,50%,75 % y 100% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 48 horas.	48
Tabla N° 5: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana de Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 24 y 48 horas	51

Tabla N° 6: Comprobación de halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana in vitro del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 24 horas	52
Tabla N° 7: Comprobación de halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana in vitro del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 48 horas	53
Tabla N° 8: Prueba de normalidad del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) en concentraciones de 25%,50% ,75% y 100% y la Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 24 horas.	54
Tabla N° 9: Distribución de resultados para Halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) en concentraciones de 25%,50% ,75% y 100% y la Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 48 horas	55

Tabla N° 10: Cuadro comparativo de Halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) y la Clorhexidina 0,12% en concentraciones de 25%,50% ,75% y 100% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 24 y 48 horas

56

ÍNDICE DE GRÁFICOS

PÁG.

Gráfico N° 1: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) al 25%, 50%, 75 % y 100% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 24 horas	42
Gráfico N° 2: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) al 25%,50%,75 % y 100% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 48 horas	45
Gráfico N° 3: Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana de Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 24 y 48 horas	47
Gráfico N° 4: Cuadro comparativo de Halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) en concentraciones de 25%,50% ,75% y 100% y la Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de <i>Enterococcus faecalis</i> , en 24 y 48 horas.	49

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) sobre *Enterococcus Faecalis* (ATCC 29212). Se realizó un estudio de tipo experimental in vitro, prospectivo, transversal y comparativo, se utilizó una muestra de 68 discos embebidos en diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% del Aceite esencial de (Muña) utilizando el método de difusión de discos, utilizando controles: positivo de Clorhexidina al 0.12% y control negativo de agua destilada. En los resultados se observó que el aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Muña) en 24 horas produjo una media máxima de 10,0 mm al 50 % y al 10,9 mm al 75% y 11,8 mm al 100% comprobando su efectividad. A las 48 horas produjo una media máxima de 10,3 mm al 50 % y 11,4mm al 75 % y 11,6 mm al 100%; finalmente, se concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) presenta una eficacia antimicrobiana sobre *Enterococcus faecales* (ATCC 29212) en las concentraciones de 50%,75% y 100% pudiendo su uso ser recomendado como agente antimicrobiano frente a esta bacteria gram positiva.

Palabras clave: Efecto antimicrobiano, *Enterococcus Faecalis*, *Minthostachys Mollis* (Muña)

ABSTRACT

The present study aimed to determine the antimicrobial efficacy of the essential oil of *Minthostachys Mollis* (muña) in *Faecalis Enterococcus* strain (ATCC 29212). An experimental, cross-sectional and comparative study was conducted, a sample of 60 disks embedded in different concentrations of 25%, 50%, 75%, 100% of the Essential Oil of *Minthostachys Mollis* (Muña) was used using the diffusion method of discs, using controls: 0.12% Chlorhexidine positive and distilled water negative control. In the results it was observed that the essential oil of *Minthostachys Mollis* (Muña) in 24 hours produced a maximum average of 10.0 mm at 50% and 10.9 mm at 75% and 11.8 mm at 100% checking its effectiveness. At 48 hours it produced a maximum average of 10.3 mm at 50% and 11.4 mm at 75% and 11.6 mm at 100%, checking its antibacterial effectiveness at these concentrations; therefore it is concluded that its use is recommended as an antimicrobial agent against this gram positive bacterium.

Keywords: Antimicrobial effect, *Enterococcus Faecalis*, *Minthostachys Mollis* (Muña)

INTRODUCCIÓN

En la actualidad y desde tiempos ancestrales se investiga nuevas alternativas para utilizar plantas medicinales, ya que de estas se obtienen aceites esenciales para diversas enfermedades y dolencias de la población, siendo una práctica cada vez más frecuente por la riqueza en sus propiedades tanto microbianas como químicas, y por su precio que es accesible. Por el cual su incremento en su uso explica la alta demanda del consumo de productos naturales.

La muña es una planta arbustiva leñosa de la sierra del Perú gracias a sus múltiples y sus propiedades antioxidante, antifúngicas, antimicrobiana y usos como para proteger cosechas, aliviar malestares gastrointestinales, tratar tumores, inflamaciones, asma, halitosis.

El presente estudio se investiga la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” sobre una bacteria predominante en periodontitis periapical crónica, para lo cual las ciencias básicas colaboran para recolectar información de las propiedades curativas de las plantas y sus beneficios ..

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Desde tiempos muy remotos las plantas han cumplido un papel de gran importancia en el área terapéutica, debido a las múltiples propiedades que poseen. Es por ello, que en las últimas décadas han tomado un papel protagónico en las diferentes líneas de investigación, con el fin de determinar e identificar sus principios activos.^{1,4}

En la actualidad, el Perú se encuentra en la lista de los 12 países con mayor diversidad de plantas medicinales nativas, siendo así un pilar de la etnofarmacología y de la medicina tradicional desde épocas remotas. Aproximadamente 5000 plantas peruanas están siendo utilizadas por la población para varios propósitos o aplicaciones diferentes.^{1,2}

La *Minthostachys mollis*, conocida popularmente como muña, crece entre los 2500 a 3500 m.s.n.m. A pesar de crecer en un plano altitudinal moderado, es posible encontrar dicha planta en abundancia en toda la serranía peruana. Debido a tener bajos requerimientos de agua, se puede encontrar en lugares cercanos a acequias; además de habitar entre los diversos pisos ecológicos en forma difusa y muy ramificada.⁴

El *enterococcus faecalis*, un coco gran positivo que se encuentra en un 90% en dientes con retratamiento endodóntico, siendo una bacteria multirresistente.^{4,11}

En varios estudios de cultivos y biología se ha demostrado que el *Enterococcus faecalis* es la especie más frecuente en conducto radicular y dientes tratados endodónticamente.

Por otra parte, la clorhexidina es considerada un antimicrobiano de amplio espectro, la cual posee excelentes efectos bacteriostáticos y bactericidas. Su gran uso en la odontología, desde desinfecciones bucales como irrigantes de conductos, la han colocado como Gold estándar en los diferentes estudios; sin embargo, su uso prolongado puede generar coloraciones, así como alteración en el gusto.^{12,13}

Es por ello que el propósito de esta investigación es evaluar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) en diferentes concentraciones sobre el *Enterococcus faecalis* ATCC (29212) estudio in vitro.

1.2. Formulación del problema.

1.2.1. Problema Principal

¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) en diferentes concentraciones sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estudio in vitro?

1.2.2. Problemas Secundarios

¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 25% sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estudio in vitro?

¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50% sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estudio in vitro?

Cuál será la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” al 75% sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estudio in vitro?

Cuál será la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” al 100% sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estudio in vitro?

1.3. Objetivos de la Investigación.

1.3.1. Objetivo Principal

Determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en diferentes concentraciones sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estudio in vitro .

1.3.2. Objetivos Secundarios

Determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) al 25% sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estudio in vitro .

Determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) al 50% sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estudio in vitro .

Determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) al 75% sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estudio in vitro .

Determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* *(muña) al 100% sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) estudio in vitro .

1.4. Justificación de la Investigación.

En necesidad de encontrar alternativas terapéuticas para tratamientos de diferentes enfermedades y el costo excesivo de los medicamentos en la actualidad a los que a veces difícil acceder; y los efectos adversos que se presentan por el uso indebido o incumplimiento de tratamiento o la automedicación de los pacientes por eso el presente estudio aportara conocimiento de su efectividad antimicrobiana, del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en diferentes concentraciones para ser usado en el campo Dental .

1.4.1. Importancia de la Investigación.

Importancia teórica va a generar nuevo conocimiento tanto para los profesionales de la salud como para la sociedad sobre el efecto antimicrobiano *Minthostachys mollis*, en sus diferentes concentraciones para poder ser empleado como agente antimicrobiano.

Importancia social ya que gracias a los resultados obtenidos de *Minthostachys mollis*, esta puede ser considerada como una alternativa para su uso en distintos productos como pastas dentales, enjuagatorios bucales, irrigantes conductos

etc., gracias a su fácil acceso, además del costo bajo, así como los menores efectos adversos que representa para los pacientes.

Importancia clínica los productos ya que se extraen de plantas llamados aceites esenciales tienen en su mayoría propiedades probadas antibacterianas y antimicrobianas en la medicina, lo cual hace viable su utilización en todas las ramas de la salud.

1.4.2 Viabilidad de la Investigación.

Para presente trabajo de investigación se contó con el apoyo y supervisión de diferentes especialistas para la capacitación y ejecución proyecto.

La investigación se realizó dentro del plazo de tiempo planeado para su etapa de la ejecución.

Los gastos e inversión de la investigación; es autofinanciado.

El tiempo que se considera óptimo para la culminación de la investigación dependerá de las coordinaciones y autorizaciones con el laboratorio en el cual se ejecutará el trabajo.

1.5 Limitaciones del Estudio.

La adquisición de las cepas patrones de la American Type Culture Collection (ATCC), es de cierta manera restringida, y por ello los laboratorios de referencia solicitan varios requisitos previos que sustenten su utilización.

Disponibilidad de los horarios para hacer uso del laboratorio central de la Facultad de Medicina Humana y ciencias de la salud de la UAP sede Lima.

Generar óptimas condiciones para el crecimiento y mantenimiento bacteriano

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación.

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Aigaje-Sierra y Zurita-Solis (2017) Ecuador. con el propósito de evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial del *Minthostachys mollis*, realizaron un estudio de enfoque cuantitativo, experimental, in vitro en la Universidad Central de Quito, se realizó la técnica de destilación por arrastre de vapor frente al *Porphyromonas gingivalis*. Las concentraciones empleadas fueron de 25%, 50% y 100%, las cuales se compararon con dos controles positivos y uno negativo, la Clorhexidina al 0,12%, la Ampicilina de 10ug y el agua destilada, respectivamente. En los resultados obtuvieron como efectividad antimicrobiana un halo promedio de 11,2mm en la concentración del 25%, un promedio de 9,6mm en la concentración del 50% y se alcanzó un halo promedio de 13,6mm en la concentración del 100%, siendo la más efectiva. Por otra parte, obtuvieron rangos muy sensibles y sumamente sensibles para los controles positivos, a diferencia del control negativo que no se encontró efectividad. Como resultado se obtuvo que el aceite esencial de muña no logró la efectividad alcanzada por los controles positivos empleados en el estudio (la Clorhexidina al 0,12% y la Ampicilina de 10ug).¹²

Farinango (2017) Ecuador. Evaluó la inhibición bacteriana del aceite esencial de muña en bacterias de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™ en Universidad Central Quito, para lo cual realizó un estudio experimental in vitro utilizando diferentes concentraciones del aceite esencial de muña , y

empleando como control positivo el Gluconato de Clorhexidina al 0,12% y control negativo el agua destilada. Los halos inhibitorios obtenidos en concentraciones de 25%, 50% y 100% sobre las bacterias de *Streptococcus mutans* cultivadas en agar sangre mostraron la inhibición del desarrollo bacteriano, a diferencia por lo obtenido en la concentración del 25% la cual no se obtuvo efecto alguno; por otra parte, a la comparación de todos los halos obtenidos por los diversos grupos evaluados, el grupo con mayor efecto inhibitorio fue el de la Clorhexidina al 0,12%, concluyendo el autor que el aceite esencial de muña mostró eficacia inhibitorio bacteriano en las concentraciones del 50% y 100%; sin embargo, no mayor ni comparable con lo obtenido por la Clorhexidina.¹³

Torrenegra-Alarcón y cols en el (2016) Colombia. determinaron el nivel de actividad antibacteriana del aceite esencial *Minthostachys mollis* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Escherichia coli* ATCC 25922 ; para lo cual hicieron un estudio experimental in vitro, aplicando el método de arrastre de vapor con el cual obtuvieron el aceite esencial a partir de las hojas de la planta en el departamento de Norte de Santander, evaluándose con cromatografía de gases/espectrómetro de masa su composición química, posteriormente, la sensibilidad antibacteriana y concentración inhibitoria mínima se obtuvieron diferentes concentraciones entre los 1000-50µg/mL, diluyéndose el aceite esencial con el método de micro dilución en caldo, cuantificando el crecimiento bacteriano por medio del lector de micro placas, con un rendimiento del 0,6%. Es con ello, que se procedió a realizar la prueba de sensibilidad obteniéndose resultados favorables para el aceite

esencial *Minthostachys Mollis* demostrándose la sensibilidad de las bacterias frente a las concentraciones del este aceite esencial⁴.

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Huari (2014) Perú. Realizó un estudio experimental in vitro en el que evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de Muña sobre *Streptococcus mutans*, para lo cual en placas Petri se colocó Agar tripticase (TSA), utilizado para el desarrollo y el aislamiento del *Streptococcus mutans* y someterlo a las pruebas de susceptibilidad realizado en UNMSM en Lima, Perú. Para realizar dichas pruebas, se requirió de papel de filtro estéril inmerso con el aceite esencial en las concentraciones del 100 %, del 50 % y el 25 %; asimismo, se utilizó el Dimetilsulfóxido (DMSO) control negativo, y la amoxicilina como control positivo. Los discos embebidos se colocaron en el medio de cultivo, para posteriormente comenzar con la incubación en anaerobiosis con método de la vela en extinción. El promedio de las concentraciones de la muña al 100%, 50% y 25% fue de 10.79 mm, 7.6 mm y 5 mm respectivamente, similar al resultado obtenido en el control negativo (DMSO), pero difiriendo con el resultado del control positivo (amoxicilina) con un promedio de 49.3 mm. Finalmente en la estadística inferencial se obtuvo un $p(0.000) < 0.005$; con lo que concluyeron que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % presentó poca susceptibilidad bacteriana comparado con la amoxicilina, la cual obtuvo un halo promedio de hasta 4 veces mayor, frente al *Streptococcus mutans*.

Azaña (2010) Perú. Realizó un estudio en UNMSM en Lima, en el que se determinó la efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb “Muña” basándose en una forma cuantitativa como

cualitativa, utilizando el método de difusión en agar con disco de papel, sobre la cepas de bacterias más prevalentes en la patología periapical crónica, tales como el *Fusobacterium nucleatum*, la *Prevotella melaninogénica*, realizado en Lima. Realizaron método de arrastre por vapor de las hojas secas, talluelos y flores para obtener el aceite esencial; para posteriormente diluir la concentración pura con alcohol etílico al 70° y con ello obtener las concentraciones al 25% y al 50%. Todas las concentraciones fueron comparadas a la par, teniendo como control positivo al Paramonoclorofenol alcanforado y al alcohol etílico al 70° como el control negativo. Como resultados obtuvo que el aceite esencial de “muña” puro o diluido, presentó una mayor efectividad al compararlo con el alcohol etílico al 70°; sin embargo, obtuvo una menor efectividad al ser comparado con el Paramonoclorofenol alcanforado frente a las muestras bacterianas en el estudio.⁴

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Enterococcus Faecalis

Enterococcus faecalis (*E. faecalis*) es un coco Gram positivo, facultativo anaerobio, inmóvil y no esporulado. El tamaño de cada célula oscila entre 0,5 y 0.8 micrometros se encuentra formando parejas o en cadenas cortas, es encontrado en el tracto gastrointestinal, el tracto hepatobiliar y heridas de tejidos blandos.⁵⁸

La temperatura óptima de crecimiento in vitro de este microorganismo es de 35°C, . En su factor virulencia encontramos lipoproteínas,enzimas proteolíticas como gelatinasas y serina.⁴³

E. faecalis es una de las bacterias más comunes asociadas con diferentes formas de enfermedades perirradiculares.^{44,45} Los diversos estudios de cultivo encontraron que es la especie más frecuente en el conducto radicular de piezas tratadas endodónticamente, este sobrevive y se multiplica en los microambientes que llegan a ser nocivos a otros microorganismos, como en el hidróxido de calcio, un agente antimicrobiano se utiliza como medicamento en conductos radiculares, con una prevalencia que alcanza hasta el 90% de los casos, resiste instrumentación mecánica y química, invade los túbulos dentinarios y reinfecta los conductos después de obturados.^{44,46}

2.2.2. Patogenicidad y virulencia

El *Enterococcus faecalis* cuenta con moléculas superficiales que actúan como adhesinas, lo que significa que hay receptores para ellas, generalmente de naturaleza proteica, glicoproteica, lipoproteína.^{55,30}

Realizado el proceso de adherencia, el microorganismo invade otras regiones anatómicas e ingresar al sistema linfático o a la circulación sanguínea, lo que provoca diversas alteraciones patológicas.^{28,31,40}

2.2.3. Enterococcus faecalis en patologías pulpares

El *Enterococcus faecalis* se encuentra en mayor porcentaje en pacientes que están en tratamiento o retratamiento endodóntico. Esta bacteria se asocia más a periodontitis apicales crónicas asintomáticas que a periodontitis apicales agudas,³⁰ tiene mayor incidencia en dientes con fracasos endodónticos puede sobrevivir condiciones ambientales difíciles y compite con otros microorganismos que penetran los tubulos dentinarios para su nutrición utiliza

suero que procede del hueso alveolar y ligamento periodontal . es el único microorganismo presente en conductos obturados con lesiones periapicales.²⁸

2.2.4 Aceite Eesencial

Los aceites esenciales (esencias volátiles extraídos de hojas, tallos o flores, semillas o cascara de algún fruto) son las fracciones líquidas volátiles, que poseen un química compleja de un grupo heterogéneo de sustancias orgánicas: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, esterres; generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas.⁴⁸

a) Composición química de los aceites esenciales.

Los Principios activos que hacen parte de los aceites esenciales, pertenecen a sustancias químicas complejas de hidrocarburos llamadas “Terpenos o Terpenoides” constituidos por la unión de unidades de un hidrocarburo de 5 átomos de carbono, llamado isopreno responsables de las características físicas que presentan, todo lo que es el aroma, sabor, textura, color, y temperatura de las plantas. ⁴⁰

Respecto a la formación y evolución de los aceites esenciales es necesario tener en cuenta algunos aspectos externos que pueden llegar afectar su composición química como son: Clima, altitud, el tipo de suelo, fertilizantes, abonos, modo de almacenamiento y manejo del material vegetal, modo obtención del aceite esencial.

2.2.5. Planta *Minthostachys mollis* (muña)

A través del tiempo se han realizado diversos estudios buscando alternativas para combatir las diferentes bacterias. Debido a las múltiples propiedades que brindan las plantas, han tomado protagonismo en diferentes líneas de investigación con el fin de determinar e identificar sus principios activos.^{1,4}

El nivel de pH se encuentre entre el rango de 5 a 8 y exige para su desarrollo un clima con elevadas dosis de luminosidad.⁵²

El Perú es un país mega diverso de plantas medicinales nativas, con un 30% aproximadamente de plantas endémicas; considerándose uno de los pilares de la etnofarmacología. La muña, planta más usadas por los pobladores empíricamente para el tratamiento de malestares gastrointestinales, tumores, inflamaciones, asma, halitosis.^{1,2}

Principales moléculas con acción Antimicrobianas presente en aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña).⁴⁹

Pulegona

Agente antimicrobiano que retarda el crecimiento y causa muerte de bacterias, parásitos y plagas, por su alta toxicidad, es un componente importante del aceite esencial de Muña, se le conoce como pulegium poleo (Menta).⁴⁹

Carvacrol

inhibe crecimiento bacteriano dañando la membrana celular y evitando su proliferación.³⁹

Timol

Se caracteriza por su poder desinfectante y fungicida y bactericida. Actúa como antiséptico.³¹.

a) Propiedades y aplicaciones de la muña.

Desde épocas muy remotas la muña ha sido tradicionalmente reconocida por sus grandes propiedades antibacterianas y diversas aplicaciones; dentro de las más conocidas por los pobladores tenemos sus propiedades digestivas contra el malestar estomacal, flatulencias, náuseas y vómitos, y diarreas. Asimismo, es muy utilizado como antitusígeno, antiasmático y expectorante,^{53,54} como antiséptico, analgésico y antiinflamatorio; además es utilizado para tratamiento de tumores, fracturas e incluso excelente contra la halitosis.^{55,56}

b) Taxonomía

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA .

CLASE: MAGNOLIOPSIDA.

SUBCLASE: ASTERIADE.

ORDEN: LAMIALES.

FAMILIA: LAMIACEAE .

GENERO: MINTHOSTACHYS .

ESPECIE: MINTHOSTACHYS MOLLIS GRISEB.

c) Marcha fitoquímica

METABOLITO	MARCHA FITOQUIMICA		
	ENSAYO	METODOS	RESULTADOS
ACEITES	Reacción Dinitrofenilhidrazina	Cualitativo	+++
GRASAS	Reacción SudanII	Cualitativo	-
LACTONAS	Reacción al Baljet	Cualitativo	+
ALCALOIDE	Reacción Dragendorff	Cualitativo	++
TRITERPENOS	Reacción de Lieberman – Burchard	Cualitativo	-
ESTEROIDES	Reacción de Lieberman – Burchard	Cualitativo	-
CAROTENOS	Reacción de Lieberman – Burchard	Cualitativo	-
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoa	Cualitativo	-
FENOLES	Reacción de cloruro férrico	+	++

Fuente de UNMSM – 2019

Leyenda:

+++ : Reacción muy evidente

++ : Reacción evidente

+ : Reacción poco evidente

- : No hubo reacción

2.3. Definición de términos básicos.

Terpenos: compuestos orgánicos aromáticos y volátiles que están constituidos por la unión de unidades de un hidrocarburo de 5 átomos de carbono, llamado isopreno.⁵²

Eficacia antimicrobiana: Capacidad de algún tipo de sustancia de actuar sobre algún microorganismo, inhibiendo su crecimiento y/o destruyéndolos.⁴⁵

Estudio In Vitro: Tipo de nivel de investigación base de un tipo experimental, generalmente se realiza en un área controlada fuera de un organismo vivo. Conjunto de fenómenos observados en el laboratorio.³⁸

Etnofarmacología: Rama que estudia los efectos, mecanismo de acción y propiedades de todos los medicamentos, en su mayoría, aquellos obtenidos de derivados, autóctonos para poblaciones o grupos étnicos.⁵¹

Bacteria: Son los microorganismos unicelulares de tipo procariótico, que están constituidos por una sola célula autónoma, que además no presenta una membrana nuclear.³⁰

Apoptosis: Mecanismo de la muerte celular (distinguir de necrosis y autofagocitosis), también es considerada como el mecanismo responsable de la eliminación fisiológica de las células y además de estar intrínsecamente programada.

Bactericida: Produce la muerte de una bacteria.⁴³

Bacteriostático: es aquello que bloquea el crecimiento de las bacterias.⁴⁴

Enterococcus faecalis: Microorganismo anaerobio facultativo oral, cocos Gram positivos, inmóviles y catalasa (-), que persiste en la patogénesis de la periodontitis apical crónica.⁵⁸

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Formulación de hipótesis principal y derivadas

3.1.1. Hipótesis Principal

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* en diferentes concentraciones tiene una mayor o igual eficacia antimicrobiana in vitro sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) que el gluconato de Clorhexidina al 0,12%.

3.1.2. Hipótesis Secundaria

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25% tiene una mayor eficacia o no tiene eficacia antimicrobiana in vitro sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) que el gluconato de Clorhexidina al 0,12%.

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 50% tiene una mayor eficacia o no tiene eficacia antimicrobiana in vitro sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) que el gluconato de Clorhexidina al 0,12%.

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 75% tiene una mayor eficacia o no tiene eficacia antimicrobiana in vitro sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) que el gluconato de Clorhexidina al 0,12%.

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100% tiene una mayor eficacia o no tiene eficacia antimicrobiana in vitro sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) que el gluconato de Clorhexidina al 0,12%.

3.2 Variables; definición conceptual y operacional

3.2.1 Variable Independiente

Concentración sustancia antimicrobiana,

3.2.2 Variable Dependiente

Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (m

3.2.3. Operacionalización de variables

VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADOR	TIPO	ESCALA	VALOR
Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i>	Crecimiento bacteriano	Halo inhibición crecimiento bacteriano	Cuantitativa	Razón	Nula () \leq 8 mm. Sensibilidad límite (+) de 9 a 14 mm. Media (++) de 15 a 19 mm. Sumamente sensible (+++) \geq 20mm.
Concentración sustancia antimicrobiana	Concentración de la sustancia antimicrobiana	Solución al 100%, 75%, 50% y al 25%	Cuantitativa	Razón	%

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1. Diseño metodológico

El Presente estudio fue tipo experimental In vitro, prospectivo, transversal y comparativo.

Experimental porque según Hernández Sampieri,⁷⁰ porque se controló y manipuló de manera intensional las variables para verificar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) al 100%, 75%, 50% y 25%, y del gluconato de Clorhexidina al 0,12% como control positivo y el agua destilada como control negativo.

In vitro porque según Hernández Sampieri,⁷⁰ el estudio se realizó en unos medios de cultivo que sirvieron para el desarrollo de las bacterias, y se manejó en el laboratorio.

Prospectivo porque según Hernández Sampieri⁷⁰, los resultados que se obtuvieron a partir de la fecha de la ejecución del estudio de investigación hasta el análisis de los resultados.

Transversal porque según Hernández Sampieri,⁷⁰ el estudio se realizó en un solo corte de tiempo.

Comparativo porque según Hernández Sampieri,⁷⁰ se verificó la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en sus diferentes concentraciones frente al Gold estándar como es el gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre *enterococcus faecalis*.

4.2 Diseño muestral

En función de las condiciones de la investigación (experimental in vitro) la población se considera indeterminada.

Para la determinación de la muestra se empleó la siguiente fórmula:

$$N = \frac{P(1-p)Z^2}{e^2}$$

N = Tamaño de muestra

Z = Nivel de confianza al 94% es 1.881

e = Error de estimación se admitió un margen de (e = 5%)

p = Probabilidad esperada (en este caso 5% = 0,05)

$$N = \frac{0.05(1-0.05)1.881^2}{0.05^2}$$

$$N = 68$$

Se requerirá a menos de 68 muestras in vitro para tener una seguridad al 94%.

4.2.1 Criterios de inclusión:

Cepa pura de *Enterococcus faecalis*, sin ningún contacto con diferentes tipos de medicamentos o solución antimicrobiana.

Aceite esencial de *Mintostachys mollis* (Muña) a las concentraciones como 100%, 75%, 50% y 25%.

Placas Petri que evidenciaron crecimiento único de cepas de *Enterococcus faecalis*.

Gluconato de Clorexidina 0,12%

4.2.2. Criterios de exclusión:

Cajas Petri con enterococcus faecalis contaminadas durante el estudio.

Hojas en mal estado de la planta Muña con signos de enfermedad o de mala manipulación.

4.3. Técnica e instrumentos de recolección de datos

4.3.1. Solicitud y carta para la ejecución del proyecto de tesis

Se presentó una solicitud de autorización para el uso del Laboratorio de Microbiología y levantamiento de información, dirigida a la directora de la Escuela Académica Profesional de la UAP, con el objetivo de realizar estudio para comprobar la eficacia antibacteriana del aceite esencial *Minthostachys mollis* en diferentes concentraciones sobre enterococcus faecales ATCC 29212. estudio in vitro.

4.3.2. Reactivación de las cepas

El *Enterococcus faecales* se adquirido en el laboratorio Gen Lab en estado liofilizado y almacenado a bajas temperaturas en el laboratorio central de la UAP la activación de la cepa fue realizado siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante y con el uso de las normas de bioseguridad del laboratorio central de la UAP.

Esta cepa viene en estado liofilizado, (un depósito de líquido hidratante y un hisopo de inoculación).

Para la activar la cepa se abrió el empaque donde se encontraba el dispositivo, se presionó la parte superior del dispositivo donde se encuentra el depósito del

líquido hidratante (para obtener la cepa diluida) Siguiendo las normas de susceptibilidad antimicrobiana abrimos el tubo y con el hisopo de inoculación procedimos a transferir el contenido a 10 ml de agar sangre (se le adiciono sangre de carnero) para formar agar base sangre para el sembrado de la bacteria *Enterococcus faecales* y fue vertido en la mitad inferior de las placas Petri, que fueron previamente esterilizadas, se esperó de 30 minutos hasta que el agar se endureció y se colocaron boca abajo, para evitar que cualquier condensación de agua en la tapa gotee sobre el agar. Con la muestra lista, se realizó el sembrado de las bacterias en las placas Petri con el agar nutritivo previamente elaborado, se esperó a que alcancen temperatura ambiente, para que luego con ayuda de un hisopo estéril, que se embebió en el cultivo de la bacteria, se realizara la siembra sobre toda la superficie del agar y esto se hizo en presencia de un mechero para evitar que el agar se contamine.

Una vez realizada la siembra, se colocó nuevamente la tapa de la placa Petri. Finalmente, se colocó las placas Petri en recipiente oscuro y cálido el cual se colocó en una incubadora (la temperatura ideal para el crecimiento de las bacterias a 37°C, donde las bacterias crecieron durante 48 horas y se colocaron boca abajo, para evitar que las gotas de agua interrumpan el crecimiento de las bacterias. Interrumpa la superficie en crecimiento.

El aceite esencial se preparo en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en la Facultad de Farmacia Y Bioquímica, para realizar el aceite se realizó el método de Arraste de Vapor.

Se recolecto 10 kg de hojas de *Minthostachys mollis*; una vez recolectadas, las hojas se lavaron bajo el agua corriente del grifo, seguido de agua destilada para

eliminar el polvo y otras partículas extrañas y se secó a temperatura ambiente, por 5 horas extendida en papel Kraft; seguidamente pesamos en una balanza analítica y colocamos las hojas de muña en un balón de fondo plano para la destilación.

Se arma el sistema de destilación que consta de un matraz en donde se agrega el agua destilada, un balón de fondo plano donde van las hojas de muña, y el condensador y las mangueras de conexión y un matraz donde se recibirá el aceite más agua.

Para separar el aceite del agua obtenida en el matraz se utiliza una pera de decantación adicionando éter de petróleo, el éter separará el aceite del agua destilada por diferencia de densidades, extraído el aceite del agua, se evapora el éter y como resultado final se obtiene el aceite esencial de muña.

Se repitió el ciclo 20 veces, teniendo un tiempo de 4 horas por ciclo en donde se usó un total de 10 kilos de hojas de muña.

Se obtuvo 10.5 mL, de aceite esencial de muña, de los cuales se hicieron diluciones de 25%, 50%, y 75%, usando como solvente Dimetil Sulfoxido.

4.3.4. Realización y lectura del antibiograma.

Con la siembra de las bacterias y el aceite esencial *Minthostahysmollis* listos, se procedió a realizar el antibiograma; para ello se empezó con la preparación del agar Mueller Hinton y para esto se preparó el medio a partir de la base deshidratada de acuerdo a las indicaciones del fabricante y se autoclavó y dejó enfriar hasta que alcanzó los 45-50°C. El medio se repartió en placas Petri, con un grosor del agar de 4 mm

En un tubo de ensayo estéril con suero fisiológico (cloruro de sodio al 0.9%) aproximadamente 5 ml se llevó al espectrofotómetro se dio lectura de longitud de 625 nanómetros (nm) una vez analizado en otro tubo de ensayo estéril con suero fisiológico se le agregó un inóculo de la cepa de *Enterococcus faecalis* (29212)

Previamente activada, luego de homogenizarlo, se llevó al espectrofotómetro. Procediendo a su lectura en absorbencia de 0.08 que es la concentración mínima inhibitoria (CMI) y comparamos con la escala de Mac Farland a una turbidez al 0.5. en condiciones estériles luego sembramos con un hisopo el inóculo bacteriano en placas que contenían Agar Mueller Hinton por agotamiento en estriado.

Se colocó en cada placa 4 disco de papel de filtro embebido con *Minthostachys mollis* al 100% (10ul), 4 disco de papel de filtro embebido con *Minthostachys mollis* al 75 % (10 ul), 4 disco de papel de filtro embebido con *Minthostachys mollis* al 50% (10 ul), 4 disco de papel de filtro embebido con *Minthostachys mollis* al 25% (10 ul),

Colocando 4 disco embebido de clorhexidina 0.12% para el control positivo y 4 discos con agua destilada para el control negativo.

Las placas se sometieron a anaerobiosis bajo microaerofilia con el método de la vela en extinción (coloca en el interior un recipiente con una vela encendida que al ser cerrada va a consumir en oxígeno) se incubó a 37 °C en un periodo de 24, 48, horas. Seguidamente se realiza a lectura de las medidas de los halos de inhibición con la ayuda del vernier previamente calibrado a 36.

4.3.5. Evaluación del efecto antibacteriana

La evaluación se realizó tanto cuantitativamente por medición numérica de los halos de inhibición, siguiendo las pautas por Duraffourd.³⁷ Diferentes microorganismos desarrollan resistencia algunas sustancias con actividad antimicrobiana, lo que, con el paso del tiempo provoca efectos colaterales; lo que no sucede con el uso de productos fitoterapéuticos⁴⁰. Duraffourd trabajó en fitoterapia clínica, aplicó tratamientos en base de principios activos fitoterapéuticos comparándolos con la actividad de antibióticos, el resultado que se obtuvo fue que el uso de principios activos fitoterapéuticos usado en humanos no mostró efectos secundarios. Para demostrar la susceptibilidad que tienen los microorganismos a diversos extractos Duraffourd y col. Realizaron estudios estadísticos determinando tablas de actividad antimicrobiana basada en porcentajes. Estos consideran la actividad de los extractos en función al diámetro del halo de inhibición de crecimiento bacteriano (HICB) son:

Nula (-), para un diámetro inferior a 8 mm.

Sensibilidad límite (sensible = +) para un diámetro comprendido entre 8 a 14 mm.

Medio (muy sensible =++) para un diámetro entre 14 y 20 mm.

Finalmente, para un diámetro superior a 20 mm el microorganismo es sumamente sensible (+++).

Los datos que se obtuvieron se recopilaron en una ficha elaborada estos datos se obtuvieron de forma visual y manual. Para la medición de los halos de inhibición se utilizó un vernier previamente calibrado.

La lectura se realizó midiendo los halos de inhibición sobre el crecimiento del organismo alrededor del disco.

4.4. Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información

La información se analizó construyendo tablas de frecuencia de una sola entrada con valores absolutos y relativos se calcularon el promedio y se diseñaron tablas y gráficos para mostrar las variaciones de los promedios de los valores.

Se utilizó la prueba estadística de prueba paramétrica de Anova que compara el rango medio de dos muestras específicas y determinar si existen diferencias entre ellas.

4.5. Aspectos éticos

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología, ya que al ser un estudio experimental in vitro no se necesitará la presencia de individuos, únicamente se utilizarán la cepa biológica que creció en un ambiente de anaerobiosis estricto. Se desecharon las sustancias químicas, así como las muestras de siguiendo técnica de bioseguridad del laboratorio de la universidad Alas Peruanas, para evitar dañar el medio ambiente, así como las instalaciones y el personal que en el laboran.

Finalmente, el presente proyecto de investigación se presentará al comité de ética institucional de la Universidad para previamente ser analizado y aprobado o exonerado.

CAPÍTULO V

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis descriptivo, tablas de frecuencia, gráficos, dibujos, fotos, tablas, etc.

Tabla N.º 1

Distribución de resultados para halo de inhibición de eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 24 horas

Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña)						
24 horas						
Placas Petri	25%(mm)	50%(mm)	75%(mm)	100%(mm)	Clorhexidina al 0,12%	Agua destilada
1	8 mm	9 mm	12 mm	14 mm	13 mm	6 mm
2	7 mm	9 mm	11 mm	15 mm	14 mm	6 mm
3	7 mm	9 mm	15 mm	10 mm	13 mm	6 mm
4	9 mm	9 mm	12 mm	12 mm	14 mm	6 mm
5	8 mm	8 mm	12 mm	12 mm	13 mm	6 mm
6	8 mm	12 mm	12 mm	11 mm	14 mm	6 mm
7	8 mm	12 mm	10 mm	9 mm	13 mm	6 mm
8	9 mm	10 mm	9 mm	12 mm	14 mm	6 mm
9	9 mm	14 mm	10 mm	10 mm	13 mm	6 mm
10	8 mm	10 mm	14 mm	11 mm	14 mm	6 mm
11	9 mm	13 mm	14 mm	14 mm	13 mm	6 mm
12	8 mm	9 mm	8 mm	14 mm	14 mm	6 mm
13	9 mm	9 mm	9 mm	12 mm	13 mm	6 mm
14	8 mm	9 mm	12 mm	9 mm	14 mm	6 mm
15	8 mm	8 mm	7 mm	12 mm	13 mm	6 mm

Fuente: propia del investigador

Se observa en las muestras de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 24 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 8,2(mm) y un valor en la desviación estándar es 0,68(mm) con un mínimo valor de 7(mm) y un máximo valor de 9(mm) en concentraciones al 25% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

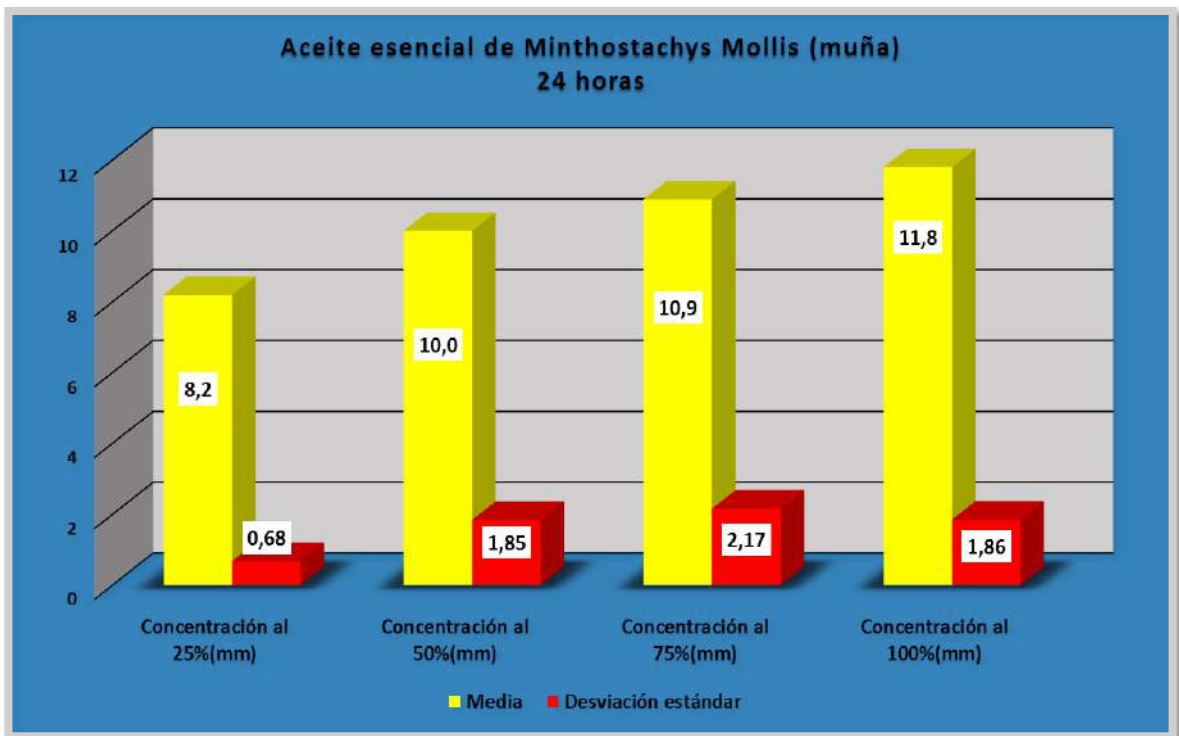
Las muestras de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 24 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 10,0(mm) y un valor en la desviación estándar es 1,85(mm) con un mínimo valor de 8(mm) y un máximo valor de 14(mm) en concentraciones al 50% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Las muestras de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 24 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 10,9(mm) y un valor en la desviación estándar es 2,17(mm) con un mínimo valor de 7(mm) y un máximo valor de 14(mm) en concentraciones al 75% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Seguidamente las muestras de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 24 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 11,8(mm) y un valor en la desviación estándar es 1,86(mm) con un mínimo valor de 9(mm) y un máximo valor de 15(mm) en concentraciones al 100% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Gráfico N° 1

Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) al 25%, 50%, 75 % y 100% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 24 horas



Fuente: propia del investigador

Tabla N° 2

Distribución de resultados para halo de inhibición de eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 48 horas

Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña)						
48 horas						
Placa petri	25%(mm)	50%(mm)	75%(mm)	100%(mm)	Clorhexidina al 0,12%	Agua destilada
1	8 mm	10 mm	12 mm	14 mm	13 mm	6 mm
2	8 mm	9 mm	12 mm	12 mm	14 mm	6 mm
3	8 mm	10 mm	15 mm	10 mm	13 mm	6 mm
4	9 mm	9 mm	12 mm	12 mm	14 mm	6 mm
5	8 mm	9 mm	12 mm	12 mm	13 mm	6 mm
6	8 mm	12 mm	12 mm	11 mm	14 mm	6 mm
7	8 mm	12 mm	10 mm	10 mm	13 mm	6 mm
8	9 mm	12 mm	11 mm	12 mm	14 mm	6 mm
9	9 mm	14 mm	11 mm	10 mm	13 mm	6 mm
10	8 mm	10 mm	14 mm	11 mm	14 mm	6 mm
11	9 mm	13 mm	14 mm	14 mm	13 mm	6 mm
12	8 mm	9 mm	8 mm	14 mm	14 mm	6 mm
13	9 mm	9 mm	9 mm	12 mm	13 mm	6 mm
14	8 mm	9 mm	12 mm	10 mm	14 mm	6 mm
15	8 mm	8 mm	7 mm	12 mm	13 mm	6 mm

Fuente: propia del investigador

Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 48 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 8,3(mm) y un valor en la desviación estándar es 0,49(mm) con un mínimo valor de 8(mm) y un máximo

valor de 9(mm) en concentraciones al 25% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

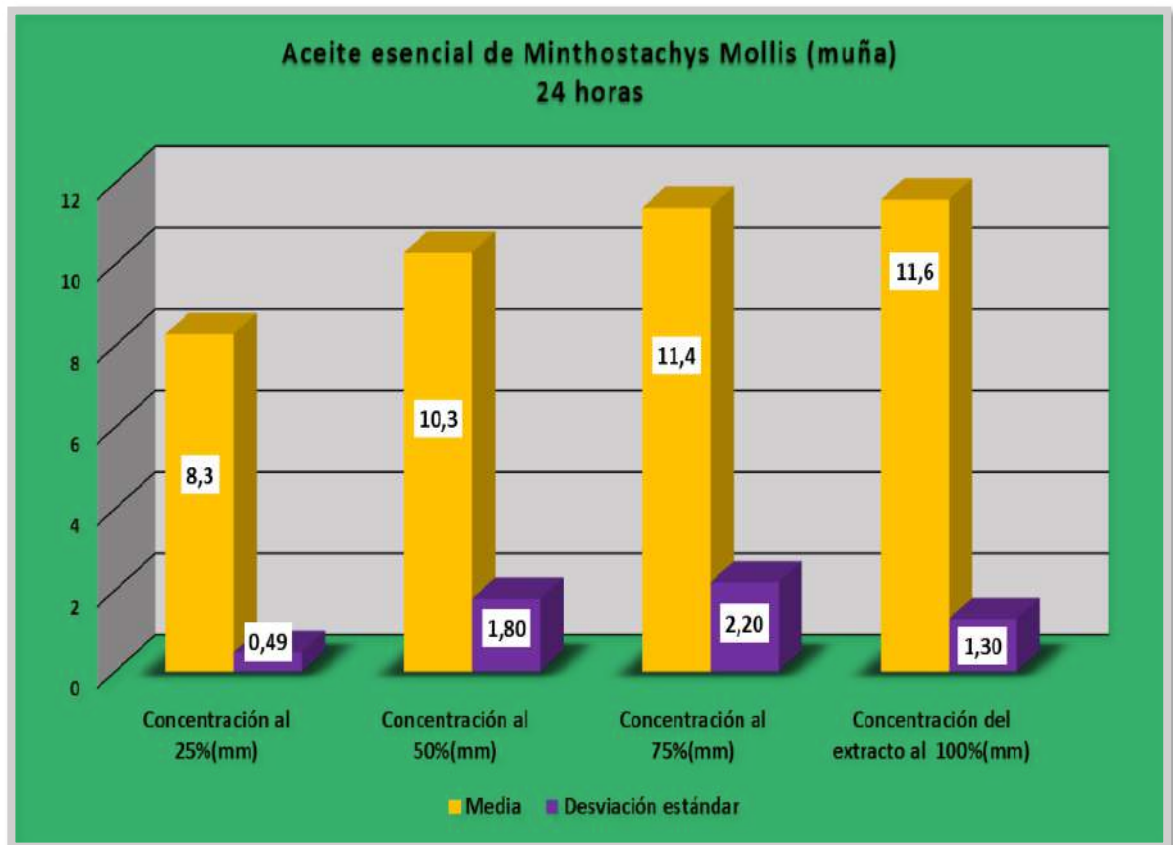
Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 48 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 10,3(mm) y un valor en la desviación estándar es 1,80(mm) con un mínimo valor de 8(mm) y un máximo valor de 14(mm) en concentraciones al 50% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 48 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 11,4(mm) y un valor en la desviación estándar es 2,20(mm) con un mínimo valor de 7(mm) y un máximo valor de 15(mm) en concentraciones al 75% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Seguidamente Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 48 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 11,6(mm) y un valor en la desviación estándar es 1,30(mm) con un mínimo valor de 13(mm) y un máximo valor de 14(mm) en concentraciones al 100% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Gráfico N° 2

Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) al 25%,50%,75 % y 100% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 48 horas



Fuente: propia del investigador

Tabla N° 3

Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) al 25%, 50%, 75 % y 100% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 24 horas

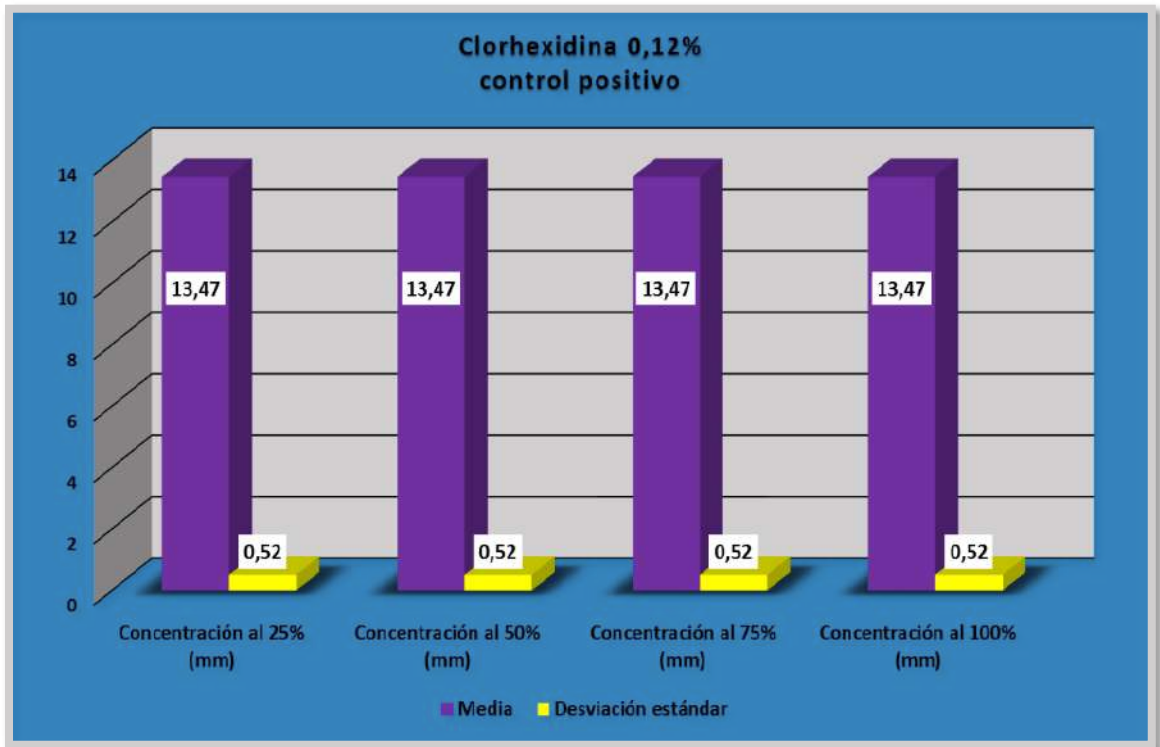
Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña)						
24 horas						
		N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Concentración 25%(mm)	al	15	8,2	0,68	7	9
Concentración 50%(mm)	al	15	10,0	1,85	8	14
Concentración 75%(mm)	al	15	10,9	2,17	7	14
Concentración 100%(mm)	al	15	11,8	1,86	9	15

Fuente: propia del investigador

Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en el control positivo durante las 24 horas y 48 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 13,47(mm) y un valor en la desviación estándar es 0,52(mm) con un mínimo valor de 13(mm) y un máximo valor de 14(mm) en concentraciones sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Gráfico N° 3

Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana de Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de Enterococcus faecalis, en 24 y 48 horas



Fuente: propia del investigador

Tabla N° 4

Distribución de resultados para Halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) al 25%,50%,75 % y 100% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 48 horas.

Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña)						
48 horas						
		N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Concentración 25%(mm)	al	15	8,3	0,49	8	9
Concentración 50%(mm)	al	15	10,3	1,80	8	14
Concentración 75%(mm)	al	15	11,4	2,20	7	15
Concentración 100%(mm)	al	15	11,6	1,30	13	14

Fuente: propia del investigador

Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 48 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 8,3(mm) y un valor en la desviación estándar es 0,49(mm) con un mínimo valor de 8(mm) y un máximo valor de 9(mm) en concentraciones al 25% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 48 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 10,3(mm) y un valor en la desviación estándar es 1,80(mm) con un mínimo valor de 8(mm) y un máximo valor de 14(mm) en concentraciones al 50% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

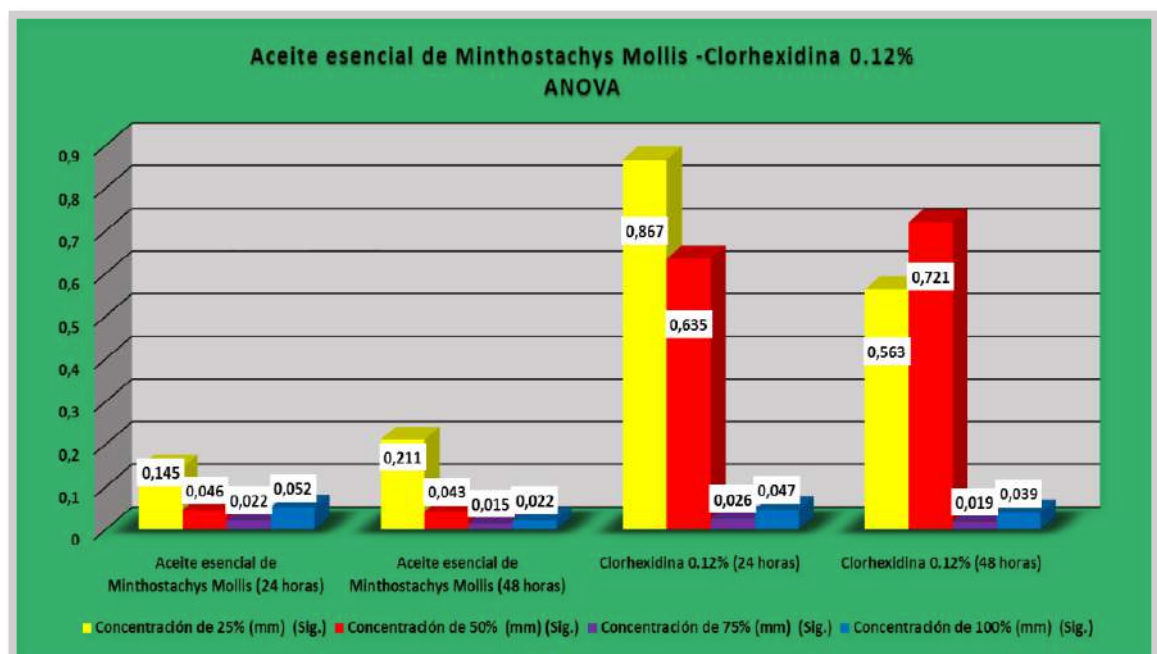
Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 48 horas

tenemos un promedio o media del total con un valor de 11,4(mm) y un valor en la desviación estándar es 2,20(mm) con un mínimo valor de 7(mm) y un máximo valor de 15(mm) en concentraciones al 75% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Seguidamente Se observa en las muestra de estudio realizado in vitro de la eficacia antimicrobiana del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 48 horas tenemos un promedio o media del total con un valor de 11,6(mm) y un valor en la desviación estándar es 1,30(mm) con un mínimo valor de 13(mm) y un máximo valor de 14(mm) en concentraciones al 100% sobre cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

Gráfico N° 4

Cuadro comparativo de Halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en concentraciones de 25%,50% ,75% y 100% y la Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 24 y 48 horas.



Fuente: propia del investigador

En el cuadro comparativo de halo de inhibición de eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en 25%,50%,75% y 100% en concentraciones en 24 y 48 horas de acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 75%; $P = 0,026$ en el Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en la exposición de 48 horas con lo que se pudo concluir que hay una mayor efectividad en esta concentración experimental para inhibir en las 15 muestras realizadas en el laboratorio. Seguidamente en el cuadro comparativo de Halo de inhibición de eficacia antimicrobiana in vitro de la Clorhexidina 0,12% en 25%,50%,75% y 100% en concentraciones en 24 y 48 horas de acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 75%; $P = 0,019$ en el Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en la exposición de 48 horas con lo que se pudo concluir que hay una mayor efectividad en esta concentración experimental para inhibir en las 15 muestras realizadas en el laboratorio.

Tabla N° 5

Distribución de resultados para halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana de Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de Enterococcus faecalis, en 24 y 48 horas

Clorhexidina 0,12%					
control positivo					
	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
Concentración del 25% (mm)	15	13,47	0,52	13	14
Concentración del 50% (mm)	15	13,47	0,52	13	14
Concentración del 75% (mm)	15	13,47	0,52	13	14
Concentración del 100% (mm)	15	13,47	0,52	13	14

Fuente: propia del investigador

Tabla N° 6

Comprobación de halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 24 horas

ANOVA						
Halo de inhibición						
Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña)						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Concentración al 25% (mm)	Entre grupos	1,200	2	0,600	1,385	0,145
	Dentro de grupos	5,200	12	0,433		
	Total	6,400	14			
Concentración al 50% (mm)	Entre grupos	20,800	2	10,400	4,588	0,046
	Dentro de grupos	27,200	12	2,267		
	Total	48,000	14			
Concentración al 75% (mm)	Entre grupos	25,733	2	12,286	3,860	0,022
	Dentro de grupos	40,000	12	3,333		
	Total	65,733	14			
Concentración al 100% (mm)	Entre grupos	11,200	2	5,600	1,806	0,052
	Dentro de grupos	37,200	12	3,100		
	Total	48,400	14			

Fuente: propia del investigador

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 75%; $P = 0,022$ en el Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en la exposición de 24 horas con lo que se pudo concluir que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 15 muestras realizadas en el laboratorio.

Tabla N° 7

Comprobación de halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 48 horas

ANOVA						
Halo de inhibición						
Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña)						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Concentración al 25% (mm)	Entre grupos	0,133	2	0,670	0,385	0,211
	Dentro de grupos	3,200	12	0,267		
	Total	3,300	14			
Concentración al 50% (mm)	Entre grupos	20,933	2	10,467	5,148	0,043
	Dentro de grupos	24,400	12	2,033		
	Total	45,333	14			
Concentración al 75% (mm)	Entre grupos	17,200	2	8,600	2,048	0,015
	Dentro de grupos	50,400	12	4,200		
	Total	67,600	14			
Concentración al 100% (mm)	Entre grupos	4,800	2	2,400	1,532	0,022
	Dentro de grupos	18,800	12	1,567		
	Total	23,600	14			

Fuente: propia del investigador

De acuerdo a la prueba Anova se registró una significancia ($p < 0,05$). En la concentración al 75%; $P = 0,015$ en el Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en la exposición de 48 horas concluimos que si existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 15 muestras realizadas en el laboratorio.

5.2 Análisis inferencial, pruebas estadísticas paramétricas, no paramétricas, de correlación, de regresión u otras

Tabla N° 8

Prueba de normalidad del aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% y la Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 24 horas.

Fuente: propia del investigador

Pruebas de normalidad 24 horas			
	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Concentración al 25% (mm)	0,801	15	0,055
Concentración al 50% (mm)	0,821	15	0,112
Concentración al 75% (mm)	0,398	15	0,082
Concentración al 100% (mm)	0,932	15	0,290
Clorhexidina 0,12% (mm)	0,643	15	0,065

Se realizó la prueba de normalidad en este caso usaremos a Shapiro-Wilk ya que las nuestras son menores de 50; para halo de inhibición por grupo sobre la eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) y la Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 24 horas de cada concentración con la finalidad de demostrar que estos tienen una distribución normal ($P \geq 0,05$) al 95 % de nivel de confianza. Se encontró que la eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en las concentraciones sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, presentan distribución normal ($P \geq 0,05$), mientras que la concentración de la Clorhexidina 0,12% en las concentraciones sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, también presentan distribución normal ($P \geq 0,05$)

Tabla N° 9

Distribución de resultados para Halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en concentraciones de 25%,50% ,75% y 100% y la Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 48 horas

Pruebas de normalidad 48 horas			
	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Concentración al 25% (mm)	0,603	15	0,075
Concentración al 50% (mm)	0,865	15	0,136
Concentración al 75% (mm)	0,935	15	0,322
Concentración al 100% (mm)	0,851	15	0,180
Clorhexidina 0,12% (mm)	0,643	15	0,065

Fuente: propia del investigador

Se realizó la prueba de normalidad en este caso usaremos a Shapiro-Wilk ya que las nuestras son menores de 50; para halo de inhibición por grupo sobre el eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) y la Clorhexidina 0,12% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 48 horas de cada concentración con la finalidad de demostrar que estos tienen una distribución normal ($P \geq 0,05$) al 95 % de nivel de confianza. Se encontró que la eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) en las concentraciones sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, presentan distribución normal ($P \geq 0,05$), mientras que la concentración de la Clorhexidina 0,12% en las concentraciones sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, también presentan distribución normal ($P \geq 0,05$).

5.3 Comprobación de hipótesis, técnicas estadísticas empleadas

Tabla N° 10

Cuadro comparativo de Halo de inhibición por grupo sobre eficacia antimicrobiana in vitro del Aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (muña) y la Clorhexidina 0,12% en concentraciones de 25%,50% ,75% y 100% sobre la cepa de *Enterococcus faecalis*, en 24 y 48 horas

Halo de inhibición													
Aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña)													
Placa petri	24 horas						48 horas						
	25%(mm)	50%(mm)	75%(mm)	100%(mm)	Clorexidina al 0,12%	Agua destilada	25%(mm)	50%(mm)	75%(mm)	100%(mm)	Clorexidina al 0,12%	Agua destilada	
1	8 mm	9 mm	12 mm	14 mm	13 mm	6 mm	8 mm	10 mm	12 mm	14 mm	13 mm	6 mm	
2	7 mm	9 mm	11 mm	15 mm	14 mm	6 mm	8 mm	9 mm	12 mm	12 mm	14 mm	6 mm	
3	7 mm	9 mm	15 mm	10 mm	13 mm	6 mm	8 mm	10 mm	15 mm	10 mm	13 mm	6 mm	
4	9 mm	9 mm	12 mm	12 mm	14 mm	6 mm	9 mm	9 mm	12 mm	12 mm	14 mm	6 mm	
5	8 mm	8 mm	12 mm	12 mm	13 mm	6 mm	8 mm	9 mm	12 mm	12 mm	13 mm	6 mm	
6	8 mm	12 mm	12 mm	11 mm	14 mm	6 mm	8 mm	12 mm	12 mm	11 mm	14 mm	6 mm	
7	8 mm	12 mm	10 mm	9 mm	13 mm	6 mm	8 mm	12 mm	10 mm	10 mm	13 mm	6 mm	
8	9 mm	10 mm	9 mm	12 mm	14 mm	6 mm	9 mm	12 mm	11 mm	12 mm	14 mm	6 mm	
9	9 mm	14 mm	10 mm	10 mm	13 mm	6 mm	9 mm	14 mm	11 mm	10 mm	13 mm	6 mm	
10	8 mm	10 mm	14 mm	11 mm	14 mm	6 mm	8 mm	10 mm	14 mm	11 mm	14 mm	6 mm	
11	9 mm	13 mm	14 mm	14 mm	13 mm	6 mm	9 mm	13 mm	14 mm	14 mm	13 mm	6 mm	
12	8 mm	9 mm	8 mm	14 mm	14 mm	6 mm	8 mm	9 mm	8 mm	14 mm	14 mm	6 mm	
13	9 mm	9 mm	9 mm	12 mm	13 mm	6 mm	9 mm	9 mm	9 mm	12 mm	13 mm	6 mm	
14	8 mm	9 mm	12 mm	9 mm	14 mm	6 mm	8 mm	9 mm	12 mm	10 mm	14 mm	6 mm	
15	8 mm	8 mm	7 mm	12 mm	13 mm	6 mm	8 mm	8 mm	7 mm	12 mm	13 mm	6 mm	
ANOVA	Concentración del extracto al 25% (sig.)		0,145	0,867			0,211	0,563					
	Concentración del extracto al 50% (sig.)		0,046	0,635			0,043	0,721					
	Concentración del extracto al 75% (sig.)		0,022	0,026			0,015	0,019					
	Concentración del extracto al 100%		0,052	0,047			0,022	0,039					

Fuente: propia del investigador

5.4 Discusión

El presente estudio de investigación es experimental in vitro, prospectivo, transversal y comparativo determino el efecto antimicrobiano de *Minthostachys Mollis* (muña) en 50%,75%,100% fueron eficaces sobre *Enterococcus faecalis* (29212).

En otros estudios como el de **Aigaje-Sierra y Zurita-Solis (2017)** donde obtuvieron en sus resultados efectividad antibacteriana del *Minthostachys mollis* con un halos de 11,2 mm en la concentración del 25%, de 9,6mm en la concentración del 50% y se alcanzó un promedio de 13,6mm en la concentración del 100%, siendo la más efectiva, estos resultados no tienen proximidad con nuestro estudio donde se obtuvieron halos de 8,2 mm en la concentración del 25%, de 10 mm en la concentración del 50% de 10,9 mm en la concentración de 75% y un halo de 11,8 mm en la concentración del 100% respectivamente.

Según los resultados de **Farinango (2017)** obtuvo con *Minthostachys Mollis* en las concentraciones del 100% un halo de inhibición del 11,8mm , del 50% un halo de inhibición de 9,75mm y del 25% un halo de inhibición de 6,88mm y la clorhexidina un halo de inhibición del 17 mm y de agua destilada un promedio de 0 mm, este estudio no tiene semejanza con nuestros resultados donde se obtuvieron halos promedios de 8,2 mm en la concentración del 25%, de 10 mm en la concentración del 50% , de 10,9 mm en la concentración de 75% y de 11,8 mm en la concentración del 100% y la Clorhexidina halo de 13,47 mm y agua destilada un halo de 6 mm.

En otros estudios **Torrenegra-Alarcón y cols en el (2016)** en otras bacterias orales el aceite esencial *Minthostachys mollis* se obtuvo una concentración

inhibitoria mínima se obtuvieron diferentes concentraciones entre los 1000-50µg/mL, diluyéndose el aceite esencial con el método de micro dilución en caldo, cuantificando el crecimiento bacteriano por medio del lector de micro placas, con un rendimiento del 0,6%, donde tuvo semejanza con nuestro estudio en los resultados de efectividad antibacteriana con una significancia de $P= 0,022$ respectivamente.

En los resultados de **Huari (2014)** obtuvo un promedio de las concentraciones de la muña al 100%, 50% y 25% fue de 10.79 mm, 7.6 mm y 5 mm estos resultados no tienen proximidad con nuestro estudio donde se obtuvieron un halo promedio de 11,8 mm en la concentración del 100%, de 10 mm en la concentración del 50% y 8,2 mm en la concentración del 25%, respectivamente.

En los resultados de **Azaña (2010)** donde el aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" puro y en su dilución del 50% presenta efectividad antibacteriana cuantitativamente frente al *Enterococcus faecalis* con de halos de inhibición de 9.0mm y 7.0mm no tienen proximidad con nuestro estudio donde se obtuvo un halo promedio de 11,8 mm en la concentración del 100%, un promedio de 10 mm en la concentración del 50% y 8,2 mm en la concentración del 25%, respectivamente.

CONCLUSIONES

El aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Muña) presentó eficacia antimicrobiana en sus diferentes concentraciones deseable sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

El aceite esencial de *Minthostachys Mollis* “muña” al 25% presentó menor eficacia antimicrobiana sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” al 50% presentó mayor eficacia antimicrobiana sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” al 75% presentó mayor eficacia antimicrobiana sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” al 100% presentó una eficacia antimicrobiana deseable sobre el *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

RECOMENDACIONES

Realizar otras investigaciones para comparar con diferentes sustancias el efecto antimicrobiano de *Minthostachys Mollis* (Muña).

Realizar charlas acerca de los beneficios de *Minthostachys Mollis* en la salud oral.

Investigar sobre el efecto antibacteriano de *Minthostachys Mollis* sobre otras cepas bacterianas pudiendo ser considerada una alternativa de prevención.

Realizar más estudios fitoterapéuticos para tener más alternativas de tratamiento en cavidad oral, sobre el control y manejo de inhibición bacteriana.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruiz J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys molles* (Muña). *Rev. Perú Med Exp Salud Pública*. 2008; 25(3):298-301.
2. Lock O, Pérez E, Villar M, Flores D, Rojas R. Bioactive compounds from plants used in peruvian traditional medicine. *Natural Product Communications*. 2016; 11(3):315-37.
3. Díaz K. Determinación de la actividad antibacteriana “in vitro” de *Minthostachys mollis* Griseb (muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica. Tesis para optar el título de Cirujano Dentista. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005.
4. Azaña I. Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* griseb (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. Tesis para optar el título de Cirujano Dentista. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
5. Lin LM, Huang GT. Biopathology of apical periodontitis. En: Hargreaves K, Berman L. Coen. *Vías de la pulpa*. Editorial Elsevier España 11a edición, capítulo 15, 2016:630-59.
6. Bertossi D. Odontogenic Orofacial Infections. *J Craniofac Surg*. 2017; 28(1):197-202.
7. Siquiera JF J, Rocas IN. Microbiology and treatment of acute apical abscesses. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26(2):255-73.

8. Sousa EL, Gomes BP, Jacinto RC, Zaia AA, Ferraz CC. Microbiological profile and antimicrobial susceptibility pattern of infected root canals associated with periapical abscesses. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013; 32(4):573-80.
9. Zhang C, Du J, Peng Z. Correlation between *Enterococcus faecales* and Persistent Intraradicular Infection Compared with Primary Intraradicular infection: A Systematic Review. *J Endod*. 2015;41(8):1207-13.
10. Rocas IN, Siqueira JF Jr, Santos KR. Association of *Enterococcus faecales* with different forms of periradicular diseases. *J Endod*. 2004;30(5):315-20
11. Lang PM, Jacinto RC, Dal Pizzol TS, Ferreira MB, Montagner F. Resistance profiles to antimicrobial agents in bacteria isolated from acute endodontic infections: systematic review and meta-analysis. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(5):467-74.
12. Aigaje-Sierra A, Zurita-Solis M. Efectividad antimicrobiana del aceite de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25,50, 100% frente a *Porphyromonas gingivalis*. *Revista científica Dominio de Las ciencias*. 2017; 3(1):3-20.
13. Farinango D. Aceite esencial de *Minthostachys Moliis* "Tipo como agente inhibitorio en comparación al gluconato de Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus*- in vitro. Tesis para optar el título de Cirujano Dentista. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2017.
14. Torrenegra-Alarcón M. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. *Oriquia*. 2016;1(20):69-76.

15. Huari G. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) en *Streptococcus mutans*. Tesis para optar el título de Cirujano Dentista . Universidad Nacional Mayor de San Marcos;2014.
16. Sundqvist G. Taxonomy, ecology and pathogenicity of the root canal flora. *Oral Surg Oral Med Pathol.* 1994; 78(4):522-30.
17. Molander A, Reit C, Kvist T. Microbiological status of root – filled teeth with apical periodontitis. *Int Endod Journ* 1998; 31(1):1-7.
18. Sundqvist G. Associations between microbial species in dental root canal infections. *Oral Microb Immun* 1992; 7:257-62.
19. Siqueira J, Rocas I, Souto R, Uzeda M, Colombo A. Microbiological evaluation of acute periradicular abscesses by DNA-DNA hybridization. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*2001;92(4):451-7.
20. Schifferle E, Shostad A, Bayers- Thering T, Dyer D, Neiders D. Effect of Protoporphyrin IX limitation on *Porphyromona gingivalis*.*JOE* 1996;22(7):3525.
21. Siqueira F, Uzeda, M de, Fonseca E. A scanning electron microscopic evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. *JOE* 1996; 92(6):308-10.
22. Love M. Regional variation in root dentinal tubule infection by *Streptococci gordoni*. *JOE* 1996;(6):91-3.
23. Nagaoka S, Miyagaki Y, Liu H, Iwamoto Y, Kitano M. Bacterial Invasion into dentinal tubules of human vital and non-vital teeth, *JOE* 1995;21(2):70-3.

24. Hirai K, Tagami A, Okuda K. Isolation and classification of anaerobic bacteria from pulp cavities of non- vital teeth in man. Bull Tokio Dent Coll. 1991;32(3):95-8.
25. Lasala A. Endodoncia. Editorial Masson-Salvat 4ta edición, capítulo 4, 1992.
26. Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. Crit Rev Oral Biol Med 2004;15 (6):348-81.
27. Berlinck T, Tinoco JM, Carvalho FL, Sassone LM, Tinoco EM. Epidemiological evaluation of apical periodontitis prevalence in an urban Brazilian population, Braz Oral Res. 2015;29:51.
28. Nair PN. Pathology of the periapex, En: Cohen S, Burns RC. Pathways of the pulp. St Louis: Mosby; 2002.p.457-500.
29. Luna NA, Santacruz AX, Palacios BD, Mafla AC. Prevalencia de periodontitis apical crónica en dientes tratados endodónticamente en la comunidad académica de la Universidad Cooperativa de Colombia, Pasto, 2008. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2009;21(1):42-9.
30. León P, Ilabaca MJ, Alcota M, Gonzales FE. Frecuencia de periodontitis apical en tratamientos endodonticos de pregrado. Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral. 2011; 4(3);126-9.
31. Osaghe IP. Dentoalveolar abscess: A case of por dental visit and unawareness of dental treatment? Odontostomatol Trop.2014;37(148):39-45
32. Eriksen HM, Berset GP, Hansen BF, Bjertness E. Changes in endodontic status 1973-1993 among 35-years-olds in Oslo, Norway. Int Endod J. 1995;28(3):129-32.

33. Weiger R, Hitzler S, Hermle G, Lost C. Periapical Status, quality of root canal fillings and estimated endodontic treatment needs in an urban German population. *Endod Dent Traumatol.* 1991;13(2):69-74.
34. De Moor RJG, Hommez GMG, De Boever JG, Delme KIM, Martens GEI. Periapical health related to the quality of root canal treatment in a Belgian population, *Endod J.* 2000;33(2):113-20.
35. Ridell K, Petersson A, Matsson L, Mejåre I. Periapical status and technical quality of root-filled teeth in Swedish adolescents and young adults. A retrospective study. *Acta Odontol Scand.* 2006; 64(2):104-10.
36. Martins JR, Chagas OLJr, Velasques BD, Bobrowski AN, Correa MB, Torriani MA. The Use of Antibiotics in Odontogenic Infections: What is the Best Choice? A Systematic Review. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017;75(12):2606.e11.
37. Friedman S. Prognosis of initial endodontic therapy. *Endodontics topics.* 2002;2:59-88.
38. Mysak J, Podzimerk S, Sommerova P, Lyuya- MiY, Bartova J, Janatova T. *Porphyromonas gingivalis*: major periodontopathic pathogen overview. *J Immunol Res.* 2014;2014:4760-68.
39. Bodet C, Chandad F, Grenier D,. Pathogenic potential of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*, the red bacterial complex associated with periodontitis. *Pathologie Biologie.* 2007;55(3-4):15462.
40. Bostanci N, Belibasakis GN. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiology Letters.* 2012;333(1):1-9.

41. Bélanger M, Rodríguez PH, Dunn WA, Progulske-Fox A. Autophagy: a highway for *Porphyromonas gingivalis* in endothelial cells. *Autophagy*. 2006;2(3):167-70.
36. Martins JR, Chagas OL Jr, Velasques BD, Bobrowski AN, Correa MB, Torriani MA. The Use of Antibiotics in Odontogenic Infections: What is the Best Choice? A Systematic Review. *J Oral Maxillofac Surg*. 2017;75(12):2606.e11.
37. Friedman S. Prognosis of initial endodontic therapy. *Endodontics topics*. 2002;2:59-88.
38. Mysak J, Podzimerk S, Sommerova P, Lyuya- MiY, Bartova J, Janatova T. *Porphyromonas gingivalis*: major periodontopathic pathogen overview. *J Immunol Res*. 2014;2014:4760-68.
39. Bodet C, Chandad F, Grenier D,. Pathogenic potential of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*, the red bacterial complex associated with periodontitis. *Pathologie Biologie*. 2007;55(3-4):15462.
40. Bostanci N, Belibasakis GN. *Porphyromonas gingivalis*: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiology Letters*. 2012;333(1):1-9.
41. Bélanger M, Rodríguez PH, Dunn WA, Progulske-Fox A. Autophagy: a highway for *Porphyromonas gingivalis* in endothelial cells. *Autophagy*. 2006;2(3):167-70.
42. Siqueira JJr, Rôças I, Oliveira J, Santos K. Detection of Putative Oral Pathogens in Acute Periradicular Abscesses by 16S DNA-Directed Polymerase Chain Reaction. *JOE* 2001; 27(3): 164-7.

43. Murray R. Microbiología Médica. 4a edición. Rio de Janeiro: editorial Guanabara Koogan; 2004.
44. Lee LW, Lee YL, Hsiao SH, Lin HP. Bacteria in the apical root Canals of teeth with apical periodontitis. J Formos Med Assoc.2017;11(6):448-56.
45. Rocas IN, Siqueira JF, Santos KR. Association of Enterococcus faecales with different forms of periradicular diseases . J Endod. 2004; 30:315-20.
46. Siren EK, Haapasalo MP, Ranta K, Salmi P, Kerosuo EN,.Microbiological findings and clinical treatment procedures in endodontic cases select for microbiological investigation. Int Endod J.1997; 30:91-5.
47. Agapito T. y Sung I. Fito Medicina 110 Plantas Medicinales. 1ª Edición. Lima:Editorial Isabel IRL;2003.
48. Karkrani K, Nai V. Antibacterial and antifungal activity of volatile oil from the sedes of *Aglaia odoratissima*. Fitoterapia 1982;53:107-9.
49. Weberbauer M. El mundo vegetal de los Andes Peruanos. 1º edición. Lima: Editorial Lumen S.A.; 1945.
50. Oviedo F. Ensayos toxicológicos preliminares con aceite esencial de “muña” Tesis para optar el título de farmacia y bioquímica. Cuzco: Universidad Nacional San Antonio de Abad del Cusco, 1979
51. Morales A. Estudio de la extracción y características de los aceites esenciales de *M. Mollis* y de *S. Sagittata* (hierba buena). [Tesis para optar el grado de bachiller para Químico]. Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina; 1973.
52. Fuertes C y Munguía Y. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb “muña” de tres regiones peruanas por

cromatografía de gases y espectrometría de masas. Ciencia e Investigación 2001; 4(1): 23-39.

53. Sotta N. Plantas aromáticas y medicinales de la región de Arequipa. 1ª edición .Arequipa: Editorial Akuarella; 2000: 99-100.

54. Guisa D y Rincón L. Estudio del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* combinado con inactivación térmica, sobre cepas de *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*. Tesis para optar el grado de bachiller para Microbiólogo Industrial. Bogotá: Universidad Javeriana; 2007.

55. Agencia de cooperación técnica del Peru (ACT) del Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura (IICA). Plantas medicinales en atención primaria de salud, agroindustria, fitoquímica y ecoturismo :Perspectivas de desarrollo en la región Los Libertadores Wari (curso regional).Ayacucho – Peru;237-46.

56. C.Carrero, M. Gonzáles, A. martinez.Baja frecuencia de *Enterococcus Faecales* en mucosa oral de sujetos que acuden a la consulta odontológica, Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia . 2015; vol 2.

57. Quispe D, Mamani J.Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial *Minthostachys mollis* Griseb (nuña) sobre microorganismos prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico. Tesis para optar Titulo de Cirujano Dentista. Puño: Universidad del Altiplano;2016.

58. Quichca J. Grado de eficacia del aceite esencial de *minthostachys mollis* (nuña) y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento del *Porphyromona*

gingivalis. Estudio comparativo in vitro .Tesis para optar el Título de cirujano dentista.Lima : Universidad Privada Norbert Wiener;2016.

59. Alaba W. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre *enterococcus faecales* ATCC29212.Tesis para optar el Grado de Maestro en Estomatología.Lima: Escuela Post Grado ;2013.

60. Baca M. Efecto inhibitorio del aceite esencial "Muña" *minthostachys mollis* sobre Genero *Proteus* causante de infecciones del tracto urinario.Tesis para optar Título Prefecional de Licenciado Biología.Puno: Universidad Altiplano;2017.

61. Hernández M. Efecto antifúngico del aceite esencial de *Minthostachys Mollis*(muña) sobre las cepas de *Cándida Albicans* ATCC10231. Estudio in vitro.Tesis para optar el título de Odontólogo General. Quito: Universidad central del Ecuador;2018.

62. Alcalá K, Alvarado G. Actividad antimicótica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) comparado con el fluconazol en cultivo de *cándida albicans*.CIMEL 2011; 12(2):83-86.

63. Medrano E . Efecto antiinflamatorio de un gel elaborado a base de extracto seco de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) en *Rattus rattus*. Tesis para optar el Título de Profesional de Químico Farmacéutico.Chimbote:Universidad Católica de Chimbote;2018.

64. Márquez M. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en diferentes concentraciones sobre una cepa de

Streptococcus mutans ATCC 25175. Tesis para optar por el Título de Cirujano Dentista. Lima:Universidad Alas Peruanas;2018.

65. Aranibar V. Eficacia antimicótica del aceite esencial del *Minthostachys mollis* (muña) sobre cepas de *Cándida albicans* aisladas. Tesis para optar el Título de Cirujano Dentista. Arequipa: universidad Alas Peruanas;2018.

66. Ccallo S. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña), frente a la actividad bacteriana de *Streptococcus mutan* y *Porphyromonas gingivalis*. Tesis para optar título de cirujano dentista. Puño: Universidad Nacional del Altiplano;2013.

67. Bengoa K. Efecto antibacteriano y antimicótico del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) in vitro en cepas de *Lactobacillus acidophilus* y *Candida glabrata*. Tesis para optar el Título de cirujano dentista. Ica: Universidad Alas Peruanas;2017.

68. Mantilla A. Yupanqui E. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial *minthostachys mollis* niña sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. Tesis para optar Título de Biólogo y Microbiólogo. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo;2018.

69. Quispe K. Efecto antimicótico del aceite esencial de *minthostachys mollis* (muña) en cepas de *Fusarium sp.* Tesis para optar el título de licenciada en Biología. Puno: universidad Nacional del Altiplano de Puno;2017.

70. Hernández R. Metodología de la investigación- Mc Graw Hill 6ta edición. 2017

ANEXOS

ANEXO N° 1: carta uso de laboratorio



Pueblo Libre, 16 de abril del 2019

Mg Blga AQUIJE DAPOZZO, CARMEN LUISA
Jefa del Laboratorio Central de la Universidad Alas Peruanas

De mi consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted para expresarle mi respetuoso saludo y al mismo tiempo presentarle a la egresada GONZALES SALVAGNO, GIOVANNA, con código 2007200345, de la Escuela Profesional de Estomatología - Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud -Universidad Alas Peruanas, quien necesita recabar información en la el área que usted dirige para el desarrollo del trabajo de investigación (tesis).

TÍTULO: "EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA) SOBRE DOS BACTERIAS PREDOMINANTEMENTE EN PERIODONTITIS APICAL CRONICA, ESTUDIO IN VITRO"

A efectos de que tenga usted a bien brindarle las facilidades del caso.

Anticipo a usted mi profundo agradecimiento por la generosa atención que brinde a la presente.

Atentamente,


HEBER M. QUIAM / CAMPO GUABLOCHE
DIRECTORA
ESCUELA PROFESIONAL DE ESTOMATOLOGIA



7/05/19
Laboratorio Central

ANEXO N° 2: Técnica Analítica

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
CENPROFARMA - CCA

	TÉCNICA ANALÍTICA	
EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA		
ELABORADO POR:  ANALISTA	REVISADO POR:  RESPONSABLE DE ÁREA	APROBADO POR:  RESPONSABLE DE ÁREA

1. OBJETIVO:

Extracción del aceite esencial de las hojas de muña.

2. MATERIALES Y EQUIPOS:


- Beakers.
- Pipeta Pasteur.
- Baguetas.
- Pipetas graduadas de 5 y 10mL.
- Balanza analítica.
- Destilador
- Refrigerante
- Embudo de decantación

3. PROCEDIMIENTO:

- Lavar la muña y secar a temperatura ambiente.




UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
CENPROFARMA - CCA

	TÉCNICA ANALÍTICA	
EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA		
ELABORADO POR: _____ ANALISTA	REVISADO POR: _____ RESPONSABLE DE ÁREA	APROBADO POR: _____ RESPONSABLE DE ÁREA



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
CENPROFARMA - CCA

	TÉCNICA ANALÍTICA	
EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA		
ELABORADO POR: _____ ANALISTA	REVISADO POR: _____ RESPONSABLE DE ÁREA	APROBADO POR: _____ RESPONSABLE DE ÁREA



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
CENPROFARMA - CCA

	TÉCNICA ANALÍTICA	
EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA		
ELABORADO POR: _____	REVISADO POR: _____	APROBADO POR: _____
ANALISTA	RESPONSABLE DE ÁREA	RESPONSABLE DE ÁREA


- Pesar las hojas de muña.



- Colocar las hojas de muña en un balón de fondo plano para la destilación.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
CENPROFARMA - CCA

	TÉCNICA ANALÍTICA	
EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA		
ELABORADO POR: _____	REVISADO POR: _____	APROBADO POR: _____
ANALISTA	RESPONSABLE DE ÁREA	RESPONSABLE DE ÁREA

- Armar el sistema de destilación que consta de un matraz en donde se agrega el agua destilada, un balón de fondo plano donde va las hojas de muña, un refrigerante, las mangueras de conexión y un matraz en donde se recibirá el aceite más agua.



- Se separa el aceite del agua obtenida en el matraz utilizando la pera de decantación, adicionando éter de petróleo, el éter nos ayudara a separar el aceite del agua por diferencia de densidades, y una vez extraído el aceite del agua, se evapora el éter y como resultado final obtenemos el aceite de muña.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
CENPROFARMA - CCA


 CENPROFARMA CCA Centro de Control Analítico	TÉCNICA ANALÍTICA	
EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA		
ELABORADO POR: _____	REVISADO POR: _____	APROBADO POR: _____
ANALISTA	RESPONSABLE DE ÁREA	RESPONSABLE DE ÁREA



- Se repitió el ciclo 20 veces, teniendo un tiempo de 4 horas por ciclo en donde se usó un total de 10 kilos de hojas de muña.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA
CENPROFARMA - CCA

	TÉCNICA ANALÍTICA	
EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA		
ELABORADO POR: _____ ANALISTA	REVISADO POR: _____ RESPONSABLE DE ÁREA	APROBADO POR: _____ RESPONSABLE DE ÁREA

- Se obtuvo 10.5mL de aceite esencial de muña, de los cuales se hicieron diluciones a 25%, 50% y 75%, usando como solvente el Dimetil Sulfoxido



ANEXO N° 3: Certificado Genlab



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Enterococcus faecalis Catalog Number: 0366 Lot Number: 366-328** Reference Number: ATCC® 29212™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2020/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Kieshia L. Negen Release Date: 2018/10/1
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Small to medium, gray/white, translucent, smooth, circular with entire edge Microscopic Features: Gram positive ovoid cells, mostly in pairs or short chains	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative (1) Bile Esculin Agar: positive (1) Streptomycin (300 mcg - Disk Susceptibility): 14 - 20 mm (1) Gentamicin (120 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 23 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): >= 20 mm BHIA w/Vancomycin (6 mcg/ml): Sensitive
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

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



Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Sample Name: Enterococcus faecalis
 Sample Description: 0366
 Sample ID: 366-328
 Sample Creation Date/Time: 2018-09-20T12:53:46.214KLN
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C5 (+++) (A)	366-328	Enterococcus faecalis	2.48

Comments:

N/A

ANEXO N° 4: Protocolo de Analisis



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA




PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00313-CPF-2019

ORDEN DE ANÁLISIS : 005431/2019
SOLICITADO POR : GIOVANNA MIRELLA GONZÁLES SALVAGNO
MUESTRA : ACEITE ESENCIAL DE *Mintostachys mollis* (Muña)
NÚMERO DE LOTE : ----
CANTIDAD : 01 bolsa x 10 Kg
FECHA DE RECEPCIÓN : Junio del 2019
FECHA DE FABRICACIÓN : ----
FECHA DE VENCIMIENTO : ----

PRUEBAS	ESPECIFICACIONES	MÉTODOS	RESULTADOS
ELABORACIÓN DE ACEITE ESENCIAL	----	Arrastre de vapor	Conforme

Lima, 16 de Agosto del 2019


Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00290-CPF-2019

ORDEN DE ANÁLISIS : 05431/2019
SOLICITADO POR : GIOVANNA MIRELLA GONZÁLES SALVAGNO
MUESTRA : ACEITE ESENCIAL DE *Mintostachys mollin* (Muña)
NÚMERO DE LOTE : ----
CANTIDAD : 01 bolsa x 10 Kg
FECHA DE RECEPCIÓN : Junio del 2019
FECHA DE FABRICACIÓN : ----
FECHA DE VENCIMIENTO : ----

MARCHA FITOQUÍMICA			
METABOLITO	ENSAYO	MÉTODOS	RESULTADOS
ACEITES	Reacción Dinitrofenilhidrazina	Cualitativo	+++
GRASAS	Reacción Sudan III	Cualitativo	-
LACTONAS	Reacción de Baljet	Cualitativo	+
ALCALOIDE	Reacción de Dragendorff	Cualitativo	++
TRITERPENOS	Reacción de Liebermann – Burchard	Cualitativo	-
ESTEROIDES	Reacción de Liebermann – Burchard	Cualitativo	-
CAROTENOS	Reacción de Liebermann – Burchard	Cualitativo	-
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	Cualitativo	-
FENOLES	Reacción con cloruro férrico	Cualitativo	++

Leyenda:

+++ : Reacción muy evidente
++ : Reacción evidente
+ : Reacción poco evidente
- : No hubo reacción

Lima, 17 de Julio del 2019

Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS
Certification

N° BR233263



ANEXO N° 5: Constancia del Museo de Historia Natural



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

CONSTANCIA N° 169-USM-2019

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (rama fértil) recibida de **Giovanna Gonzales Salvagno**, estudiante de la Universidad Alas Peruanas; ha sido estudiada y clasificada como: ***Minthostachys mollis* Griseb.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

GENERO: *Minthostachys*

ESPECIE: *Minthostachys mollis* Griseb.

Nombre vulgar: “Muña”

Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría y Huber Trinidad

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 24 de mayo de 2019



Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

ANEXO N° 6: Constancia de participacion en el proceso de análisis



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



EL DIRECTOR DEL CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA:

CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN EN PROCESO DE ANÁLISIS

A la Srta. GIOVANNA MIRELLA GONZÁLES SALVAGNO , quien fue participante de la realización de su ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachysmollin* (Muña), mediante la Metodología de Arrastre de Vapor en la muestra "*Minthostachysmollin* (Muña)" , para la implementación de su Tesis titulada "EFICACIA ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachysmollin* (Muña), SOBRE LAS BACTERIAS PREDOMINANTES EN PERIODONTITIS PERIAPICAL CRÓNICA. ESTUDIO IN VITRO", en nuestro Laboratorio del Centro de Control Analítico – CENPROFARMA

Se expide el presente documento a solicitud de los interesados, para los fines que estimen por conveniente.

Lima, 03 de Julio del 2019

Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS
Certification



Anexo 7: Instrumento de recolección de datos

FICHA RECOLECCIÓN DE DATOS

Medición del halo de inhibición

Cuadro: Aplicación de aceite esencial de *Minthostachys Mollisa* al 100 %, 75%, 50 % y 25 %

Placa	Extracto de <i>Minthostachys Mollisa</i> 100% (mm)	Extracto de <i>Minthostachys Mollisa</i> 75% (mm)	Extracto de <i>Minthostachys Mollisa</i> 50% (mm)	Extracto de <i>Minthostachys Mollisa</i> 25% (mm)	Agua destilada) (mm)	Clorhexidina (mm)
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						

Anexo 8: Matriz de consistencia

PROBLEMAS DE LA INVESTIGACION	OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION	VARIABLES DE ESTUDIO	METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION
<p>Problema Principal:</p> <p>¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) en diferentes concentraciones sobre el enterococcus faecales (ATCC 29212) . Estudio in vitro?</p> <p>Problemas Especificos:</p> <p>-¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> "muña" al 25% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).Estudio in vitro?</p> <p>¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> "muña" al 50% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212) Estudio in vitro?</p> <p>¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> "muña" al 75% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212). Estudio in vitro?</p> <p>¿Cuál será la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> "muña" al 100% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).Estudio in vitro?</p> <p>¿Cuál será la eficacia antimicrobiana de las diferentes concentraciones (25%50%,75%,100%) del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña), el gluconato de Clorhexidina al 0,12% y de agua destilada sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212) Estudio in vitro?</p>	<p>Objetivos Principal</p> <p>Determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) en diferentes concentraciones sobre el enterococcus faecales (ATCC29212).Estudio in vitro</p> <p>Objetivos Secundario</p> <p>Determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) al 25% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).Estudio in vitro.</p> <p>Determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) al 50% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).Estudio in vitro.</p> <p>Determinar la eficacia antimicrobiana in vitro del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) al 75% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212). Estudio in vitro</p> <p>Determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña) al 100% sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212). Estudio in vitro .</p> <p>Compararla eficacia antimicrobiana de las diferentes concentraciones(25%50%,75%,100%) del aceite esencial de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña), el gluconato de Clorhexidina al 0,12% y de agua destilada sobre el <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212).Estudio in vitro .</p>	<p>V. Independiente:</p> <p>--concentración sustancia antimicrobiana</p> <p>V. Dependiente:</p> <p>Eficacia antimicrobiana del extracto de <i>Minthostachys Mollis</i> (muña)</p>	<p>Diseño de la Investigación</p> <p>-Experimental, in vitro , prospectivo, transversal y comparativo</p> <p>Población</p> <p>- Cepas de <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)</p>

Anexo 9: Fotos

I. PREPARACION DEL ACEITE ESENCIAL

METODOLOGÍA ARRASTRE DE VAPOR



Imagen N° 1: Lavado de Material vegetal de *Minthostachys mollis* , en corriente de grifo, seguido se seca a temperatura ambiente extendiéndose en papel Kraft y luego se desoja.



Imagen N° 2: Pesado de las hojas en una balanza analítica en gramos.



Imagen N° 3: Colocar las hojas de muña en un balón de fondo plano para destilación.



Imagen N° 4: Se arma sistema de destilación que consta de un matraz en donde se agrega agua destilada, un balón de fondo plano donde van las hojas de muña, un condensador y las mangueras de conexión y un matraz en donde se recibirá más agua.



Imagen N° 5: Se separa el aceite del agua obtenida en el matraz utilizando la pera de decantación adicionando éter de petróleo, el éter separará el aceite del agua por diferencia de densidad, luego que se extrae el aceite del agua, se evapora el éter y como resultado final obtenemos el aceite de muña. Se repitió este ciclo 20 veces.



Imagen N° 6: Se obtuvo 10.5 ml, de aceite esencial de muña, los cuales se hicieron diluciones de 25%,50%,75%,100%, usando como solvente Dimetil Sulfoxido.

Agar Base – Sangre

Pesado del agar, mezcla y centrifugado



Imagen N° 7: Se observa los materiales que serán utilizados para el inicio del estudio.

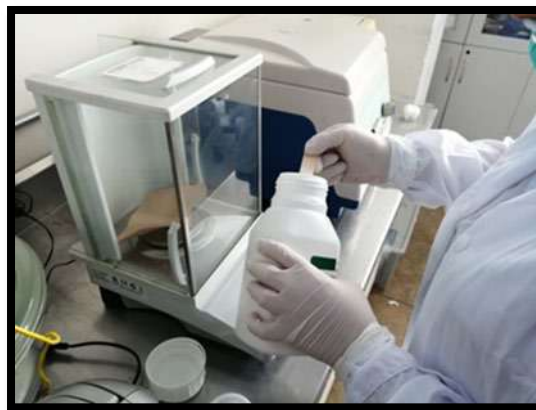


Imagen N° 8: Se pesa el agar base deshidratado en balanza analítica siguiendo las pautas del fabricante.



Imagen N° 9: Agar base deshidratado y agua destilada para realizar la mezcla del agar.



Imagen N° 10: Agar con agua destilada hasta que todo este homogeneamente mezclado.



Imagen N° 11: Después de mezclado el agar base se coloca en el Autoclavado por 45 minutos.

Agar Base – Sangre



Imagen N° 12: Después de obtenido el agar se mezcla con sangre de carnero para empezar el plaqueo.



Imagen N° 13: Plaqueo del agar base - sangre en las placas petri

Activación y sembrado de las bacterias



Imagen N° 14: Ceba *Enterococcus faecales* ATCC 29212 inactivas.

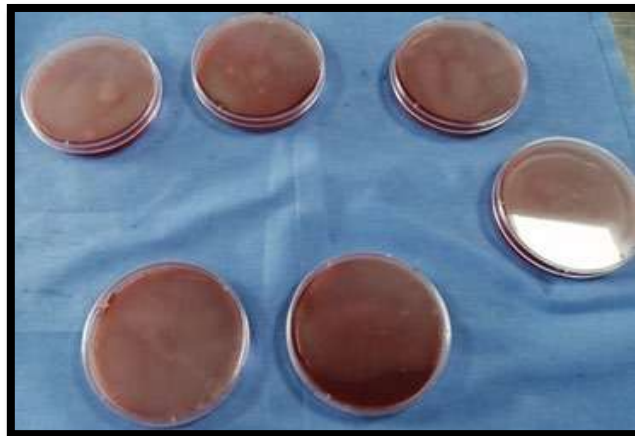


Imagen N° 15: Placas sembradas con cepa *Enterococcus faecales* 29212.

Agar Müller Hinton



Imagen N° 16: Pesado y preparación del agar Müller Hinton de acuerdo a las indicaciones del fabricante.



Imagen N° 17: Pesado en balanza analítica , del agar Muller Hinton deshidratado



Imagen N° 18: Autoclavado del agar Müller Hinton por 45 minutos.

Elaboración del antibiograma

Material e instrumental previamente esterilizado para realizar el antibiograma

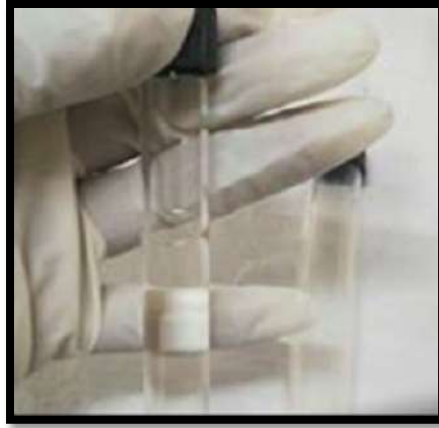


Imagen N° 19: Escala de MacFarland



Imagen N° 20: Inoculación de las cepas *Enterococcus faecalis* 29212 en placas con agar Müller Hinton



Imagen N° 21: Material a utilizar para realizar embebido de los discos con aceite esencial muña



Imagen N° 22: Discos previamente embebidos con el aceite esencial en diferentes concentraciones.



Imagen N° 23: Inoculación de las placas con agar Müller Hinton

Lectura de placas en 24 y 48 horas.



Imagen N° 24: 100% después de 24 horas



Imagen N° 25: Muña al 75% después de 24 horas.



Imagen N° 26: Muña al 50% después de 24 horas.



Imagen N° 27: Muña al 25% después de 24 horas.



Imagen N° 28: Control negativo: agua destilada



Imagen N° 29: Control positivo Clorhexidina 0.12%

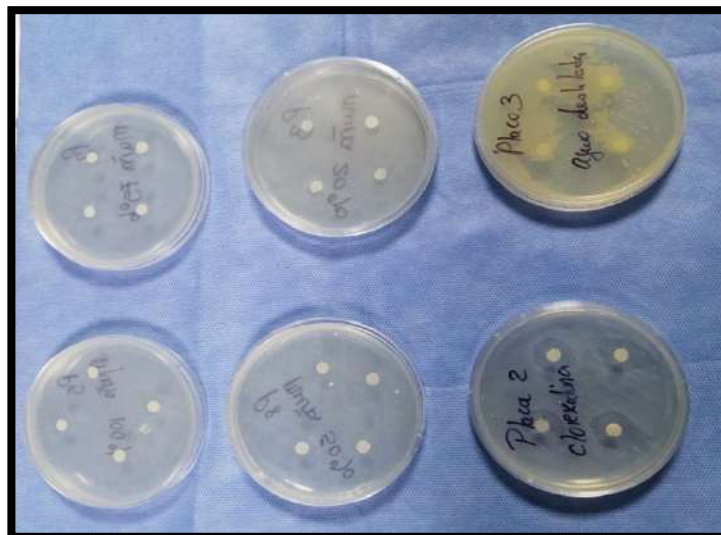


Imagen N° 30: Placas a las 48 horas ,con diferentes concentraciones

