



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

TESIS

**EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA
(*Minthostachys mollis*) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus***

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES:

**Bach. BARÓN GUERRERO, Yomar Esther
Bach. VELÁSQUEZ ESPINOZA, Cristián Arnaldo**

ASESOR:

Mg. QUEZADA REYES, Antonio Fernando

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos Naturales

Huancayo – Perú

2021

Dedicatoria

A DIOS, creador y dueño de todo, quien me ha brindado un espíritu de fortaleza y perseverancia para continuar con mi carrera profesional.

A mi esposo Wilmer Correa Ramírez, por el apoyo incondicional, por ser uno de los pilares fundamentales en la realización de mis metas.

A mis queridos hijos, Fabián y Nulbeth, que son mi motor y motivo para seguir superándome en mi vida profesional.

Yomar Esther Barón Guerrero

A Dios por iluminar cada día de mi vida regalándome Salud.

A mi madre Carmen Rosa Espinoza Arrunátegui, por el apoyo incondicional y a mi padre Víctor Augusto Velásquez Llontop que desde el cielo me guía.

A mí esposa María Elizabeth Samamé Arroyo y mis Jairo y Miriam por su apoyo emocional.

Christián Arnaldo Velásquez Espinoza

Agradecimiento

A mis padres Faustino Barón cubas y Cesarina Guerrero Monsalve y a mis padres políticos María Ramírez hernandez y Anacleto correa solano, por su ayuda incondicional durante toda mi carrera universitaria.

Yomar Esther Barón Guerrero

A la Universidad Roosevelt de Huancayo por permitirme la oportunidad de concluir nuestras metas trazadas.

A mis docentes y amigos que con sus enseñanzas y experiencias fortalecieron el desarrollo de mi formación profesional.

Christián Arnaldo Velásquez Espinoza

PAGINA DEL JURADO

PRESIDENTE:

Dr. EDGAR ROBERT TAPIA MANRIQUE

MIEMBRO SECRETARIA:

Mg. JAVIER FLORENTINO CHURANGO VALDEZ

MIEMBRO VOCAL:

Mg. ANTONIO FERNANDO QUEZADA REYES

MIEMBRO SUPLENTE:

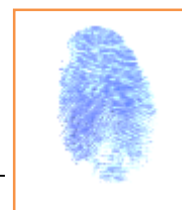
Mg. CARLOS ALFREDO CANO PEREZ

DECLARACION JURADA SIMPLE

Yo, **Yomar Esther Barón Guerrero**, de Nacionalidad Peruana, identificado con, DNI N° 44732429, Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliada Calle Victoria A. Belaunde 895 P. Joven Ramiro Priale, José Leonardo Ortiz, Chiclayo, Lambayeque. DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 21 días del mes de noviembre del 2021.

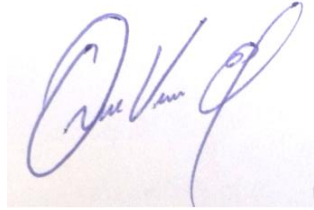


Yomar Esther Barón Guerrero



DECLARACION JURADA SIMPLE

Yo, **Christián Arnaldo Velásquez Espinoza** de Nacionalidad Peruana, identificado con, DNI N° 45962641, Tesista de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, domiciliado en calle Diego Ferre 1382, Jayanca, Lambayeque, Lambayeque. DECLARO BAJO JURAMENTO: QUE TODA LA INFORMACIÓN PRESENTADA ES AUTÉNTICA Y VERAZ. Me afirmo y me ratifico en lo expresado en señal de lo cual firmo el presente documento a los 22 días del mes de noviembre del 2021.



Christián Arnaldo Velásquez Espinoza

ÍNDICE

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT	xii
I. INTRODUCCIÓN	13
II. MÉTODO	21
2.1 Tipo y diseño de investigación	21
2.2 Operacionalización de variables	22
2.3 Población, muestra y muestreo.....	23
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.	24
2.5 Procedimiento.	24
2.6 Método de Análisis de datos	27
2.7 Aspectos éticos.....	28
III. RESULTADOS	29
IV. DISCUSIÓN	33
V. CONCLUSIONES	35
VI. RECOMENDACIONES.....	36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS.....	40

Índice Tablas

Tabla 1. Estadística descriptiva para los datos de los grupos experimentales y control	29
Tabla 2. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos.....	30
Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)	30
Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)	31
Tabla 5. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey.....	31
Tabla 6. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd.....	32

Índice Figuras

Figura 1. Comportamiento según medias de los grupos experimentales y control	29
Figura 2. Selección, lavado y secado de la muestra	46
Figura 3. Obtención del aceite esencial.....	47
Figura 4. Preparación de las distintas concentraciones del aceite	48
Figura 5. Activación de la cepa <i>Staphylococcus aureus</i>	48
Figura 6. Preparación del inóculo	49
Figura 7. Determinación de la sensibilidad bacteriana según el método de difusión en pozo	49
Figura 8. Lectura del tamaño de los halos inhibitorios	50

Índice Anexos

Anexo 1. Matriz de consistencia	40
Anexo 2. Operacionalización de variables	41
Anexo 3. Instrumento de recolección de datos.....	42
Anexo 4. Certificación botánica de la especie vegetal	43
Anexo 5. Certificado de análisis de la cepa.....	44
Anexo 6. Evidencias del trabajo de campo	46

RESUMEN

Objetivo: Demostrar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*

Metodología: El estudio de investigación es de tipo analítico, prospectivo, transversal con diseño de investigación experimental con dos grupos control, la población de estudio fue *Minthostachys mollis* (muña), recolectada en la provincia de Santa Cruz departamento de Cajamarca, se obtuvo el aceite de muña mediante la técnica de arrastre por vapor y se determinó la eficacia antibacteriana del aceite mediante la técnica de difusión en pozo, los datos recolectados fueron analizados mediante el software SPSS ver. 26 con un nivel de confianza del 95%.

Resultados: El aceite de muña al 50% presenta un halo de inhibición promedio de $6,02 \pm 0,21$ mm, para 75% un halo de inhibición de $11,57 \pm 0,26$ mm y para la concentración del 100% un halo promedio de $14,20 \pm 0,35$ mm; por otro lado, con respecto al control positivo (ciprofloxacino) se encontró un halo promedio de $31,88 \pm 0,31$ mm y para el control negativo (DMS) fue de $6,10 \pm 0,27$ mm

Conclusión: El aceite de muña a las concentraciones del 75% y 100% presentan eficacia antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus*; sin embargo, no presenta eficacia antibacteriana a la concentración del 50%.

Palabras clave: *Minthostachys mollis*, muña, *Staphylococcus aureus*, aceite esencial, antibacteriana.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the antibacterial efficacy of muña essential oil (*Minthostachys mollis*) on *Staphylococcus aureus* strains

Methodology: The research study is analytical, prospective, cross-sectional with an experimental research design with two control groups, the study population was *Minthostachys mollis* (muña), collected in the province of Santa Cruz department of Cajamarca, the oil was obtained of muña by means of the steam entrainment technique and the antibacterial efficacy of the oil was determined by means of the well diffusion technique, the collected data were analyzed using the SPSS software ver. 26 with a confidence level of 95%.

Results: Muña oil at 50% presents an average inhibition halo of $6.02 + 0.21\text{mm}$, for 75% an inhibition halo of $11.57 + 0.26\text{mm}$ and for the 100% concentration an average halo of $14.20 + 0.35\text{mm}$; on the other hand, with respect to the positive control (ciprofloxacin) an average halo of $31.88 + 0.31\text{mm}$ was found and for the negative control (DMS) it was $6.10 + 0.27\text{mm}$

Conclusion: Muña oil at concentrations of 75% and 100% show antibacterial efficacy on *Staphylococcus aureus* strains; however, it does not show antibacterial efficacy at the 50% concentration.

Key words: *Minthostachys mollis*, muña, *Staphylococcus aureus*, essential oil, antibacterial.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, la medicina natural se ha convertido en uno de las alternativas terapéuticas más usadas por parte de la población a nivel mundial, específicamente por la población con menor acceso a medicamentos y con escasos recursos económicos. También se ha convertido en un tema muy reconocido por parte de la comunidad científica, quienes vienen descubriendo diversas y nuevas propiedades terapéuticas, así como diferentes metabolitos activos presentes en las plantas. ⁽¹⁾

Staphylococcus aureus es un patógeno con una alta prevalencia e incidencia a nivel mundial. Un estudio publicado por la Revista Médica de México. ⁽²⁾ En el 2011, reportó que Estados Unidos presentó una incidencia de 5.31% de infecciones adquiridas en la comunidad y de 4.54% adquiridos en el hospital; por otro lado, en el 2014 Europa reportó 17.5% de infecciones invasivas; también se reportó en regiones como Asia y el Pacífico Occidental una incidencia comprendida entre 2.3% y 69.1% respectivamente. En Latinoamérica los datos reportados son muy diversos, se encontró una incidencia del 6% en Centroamérica y del 80% en Sudamérica.

En Perú y otros países de Latinoamérica son muy escasos los reportes y estudios realizados sobre prevalencia e incidencia de infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*. Entre estos pocos reportes tenemos un estudio realizado por la Universidad Cayetano Heredia ⁽³⁾, donde se evaluó la mortalidad por bacteriemia en hospitales de Lima, se reportó 150 casos de los cuales el 54.7% eran resistentes a meticilina (SARM) y el 45.3% eran sensibles a meticilina (SAMS), evidenciándose el alto riesgo de infecciones por MRSA.

De igual manera el Hospital Docente Belén de Lambayeque ⁽⁴⁾, en el 2016 realizó un estudio donde se evaluó a 70 trabajadores voluntarios del área asistencial. El estudio consistió en aislar diferentes tipos de bacterias intrahospitalarias obteniendo como resultado el aislamiento de *Staphylococcus aureus* en un 92.86%. Esta bacteria también mostró una elevada resistencia a diversos antibióticos (84,6% a penicilina, 38,5% a eritromicina, 15,4% a clindamicina y 7,7% a rifampicina).

Hoy en día la resistencia a los antibióticos se ha convertido en un gran problema de salud pública a pesar que este es un fenómeno que se da de manera natural. Esto se debe al

mal uso de los antibióticos, la automedicación y a la falta de diagnóstico. La resistencia hacia los antibióticos incrementa la estancia hospitalaria, aumento de gastos médicos, disminuye la calidad de vida e incrementando la morbimortalidad a causa de las infecciones bacterianas.

Por tanto, la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas a base de aceites esencial obtenidos de diferentes especies vegetales, representa hoy en día una gran esperanza para tratar diversas patologías entre ellas las causadas por bacterias como *Staphylococcus aureus*. El Perú es un país con la mayor diversidad de especies vegetales del mundo, entre las que se encuentra la Muña (*Minthostachys mollis*) que posee diversas propiedades medicinales que hasta el momento no cuentan con estudios suficientes que las validen, esto representa el punto de partida para realizar el presente estudio, el mismo que permitirá demostrar la eficacia antimicrobiana de la Muña (*Minthostachys mollis*).

Al respecto existen diversos estudios que refieren el efecto de esta planta, con respecto a los **Antecedentes Internacionales** podemos citar a **Paucar E; et al, 2020** quienes realizaron un estudio titulado “Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral” que tuvo por **Objetivo:** Determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, comparado con ciprofloxacino. frente a *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. **Método:** Se prepararon 15 pocillos por grupo, para evaluar el efecto inhibitorio de todas las concentraciones, dando un total de 360 pocillos. La composición química se determinó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. El efecto inhibitorio se determinó mediante el método de difusión de Kirby-Bauer. **Resultados:** el análisis fitoquímico determinó la presencia de pulegona (30,17 %) y mentona (16,55 %). Los halos de inhibición de *Minthostachys mollis* al 100 % a las 24, 48 y 72 horas frente a la *Porphyromonas gingivalis*, midieron: 10,2 mm, 9,8 mm y 9,6 mm; frente al *Staphylococcus aureus*, midieron: 10,4 mm, 9,7 mm y 9,4 mm y, por último, frente a *Candida albicans* midieron: 9,8 mm, 8,9 mm y 8,5 mm, respectivamente. **Conclusiones:** El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % presentó mayor actividad inhibitoria frente al *Staphylococcus aureus*, *Porphyromonas gingivalis* y *Candida albicans*.⁽⁵⁾

Campo, M; et al, 2017 quienes realizaron un estudio titulado “Composición química y actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las partes aéreas de *Minthostachys mollis* Griseb”, el estudio tuvo como **Objetivo:** Determinar la composición química y la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Minthostachys mollis*. **Metodología:** El extracto etanólico se obtuvo por maceración, la composición química se realizó mediante análisis cromatográfico. La determinación de la actividad antibacteriana se realizó mediante el método de difusión en pozo. **Resultados:** Se determinó la presencia de compuesto fenólicos, triterpenos, aminoácidos y flavonoides. Además, el extracto mostró actividad antibacteriana frente a *S. aureus*. **Conclusión:** Se concluye que por su composición química y actividad antibacteriana el extracto etanólico de *M. mollis* puede ser empleado como medicina natural complementaria frente a *S. aureus*.⁽⁶⁾

Así mismo **Torrenebra, M; et al, 2017** realizaron un estudio titulado “Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*”, el **Objetivo:** Determinar la composición química y la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. **Metodología:** La obtención del aceite esencial se realizó mediante el método de hidrodestilación, la composición química se determinó a través de cromatografía de gases y espectrómetro de masas. La actividad antibacteriana se determinó sobre *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli* mediante el método de microdilución en caldo y lector de placas. **Resultados:** Se encontró una alta concentración de monoterpenos (Carvacrol y Timol); además presento una elevada actividad antibacteriana. **Conclusión:** Se llegó a la conclusión que el aceite esencial de *M. mollis* tiene actividad antibacteriana significativa.⁽⁷⁾

Como **antecedentes nacionales** podemos citar a **Mejía, J. y Silva, L. 2019** realizaron un estudio titulado “Comparación del efecto antibacteriano de los aceites esenciales de las hojas de *Minthostachys mollis* kunth griseb (muña) Y *Dodonaea viscosa* L. Jacq (chamana) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* el **Objetivo:** Comparar el efecto antibacteriano de *Minthostachys mollis* (Muña) y *Dodonaea viscosa* L. *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*. **Metodología:** El método utilizado para la obtención del aceite esencial, fue el de arrastre por vapor de agua, se realizaron diluciones del aceite a concentraciones del 10%, 50% y 100%. La determinación del efecto antibacteriano se realizó mediante el método de Kirby Bauer. **Resultados:**

Minthostachys mollis tiene efecto sobre *S. aureus* en todas sus concentraciones, mientras que *Dodonaea viscosa* tiene efecto solo a concentraciones del 50% y 100%. Por otro lado *P. aeruginosa* es sensible al aceite esencial de *Minthostachys mollis* solo a concentraciones del 10% y 50% y al aceite esencial de Chamana solo a concentración del 100%. **Conclusión:** Se concluye que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* es significativamente más efectivo que el aceite esencial de *Dodonaea viscosa* L. (Chamana).⁽⁸⁾

Peña, D. y Gutiérrez, M. 2017 quienes realizaron un estudio titulado “Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en vías respiratorias bajas”, su **Objetivo:** Determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos habituales en vías respiratorias bajas. **Metodología:** El aceite esencial se extrajo por el método de arrastre por vapor de agua. La determinación del efecto antibacteriano se realizó mediante el método de difusión en agar. **Resultados:** Presento efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* a concentración de 50 µg/mL con un halo de inhibición de 19,3 mm y sobre *Klebsiella pneumoniae* 8,0 mm. **Conclusión:** Se concluye que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* tiene eficacia antibacteriana sobre microorganismos presentes en vías respiratorias bajas.⁽⁹⁾

Abanto, M. y Pérez, R. 2017 Realizaron un estudio titulado “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Kunth Griseb (muña) en cepas de *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus*”, el estudio tuvo por **Objetivo:** determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña), frente a *E. coli* y *S. aureus*. **Metodología:** El aceite esencial fue obtenido mediante el método de hidrodestilación, al que se realizó diluciones al 10%, 50% y 100%. La determinación del efecto antibacteriano se realizó mediante los métodos de difusión por disco y de pocillos. **Resultados:** Los resultados arrojaron un valor de $p=0,025$ para *E. coli* y $p=0,034$ para *S. aureus*, mediante el método de Kirby Bauer, y para el método de pocillos se obtuvo un valor de $p=0,015$ para *E. coli* y $p=0,016$ para *S. aureus*, lo que hace un estudio estadísticamente significativo ($P<0,05$). **Conclusión:** Se concluye que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* Kunth Griseb (muña), tiene efecto antibacteriano sobre cepas bacterianas de *E. coli* y *S. aureus*.⁽¹⁰⁾

En cuanto a las **bases teóricas** tenemos que *Minthostachys mollis* (Muña) es una Planta medicinal hemicriptófita, nativa de las serranías del Perú, crece de forma natural entre los 2500-3500 m.s.n.m (11). Es una un arbusto leñoso, tiene un aroma muy característico, se utilizada tradicionalmente como medicina popular utilizando sus hojas, tallos y flores en infusión, para tratar enfermedades digestivas y respiratorias. ^(12,13,11)

Su Clasificación taxonómica según el sistema Cronquist. ⁽¹⁴⁾ nos menciona que pertenece al REINO: vegetal , SUB REINO: Embryophyta , DIVISIÓN: Magnoliophyta , CLASE: Magnoliopsida , SUB CLASE: Asteridae, ORDEN: Lamiales, FAMILIA: Lamiaceae, GÉNERO: Minthostachys y a la ESPECIE: *Minthostachys mollis*.

En lo que respecta a sus características botánicas, *Minthostachys mollis* (Muña) es una planta con características aromáticas llega a medir entre 80 cm a 120 cm, en la parte superior es frondosa; erecta; su tallo es ramificado y presenta hojas pequeñas con forma aserrada, en las que se deposita la mayor cantidad de aceite esencial. ⁽¹⁴⁾ Presenta inflorescencia axilar dispuesta en racimos con flores de color blanco entre 3 a 7 específicamente. ⁽¹⁵⁾

La composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña), presenta en su estructura compuestos fotoquímicos como aldehídos, cetonas, alcoholes (mentona, mentol, timol), y en mayor concentración esteroides, éteres y terpenos (Pulegona, Carvona). ^(16,17,18) Además, la muña presenta alto contenido en calcio y fosforo. ^(18,19)

Con respecto a sus propiedades y usos terapéuticos *Minthostachys mollis* (muña), es conocida desde tiempos pre incas por sus múltiples propiedades medicinales, alimenticias y preservantes. Tradicionalmente se le conoce a la muña por sus propiedades digestivas, anti flatulento, antiespasmódico, antiemético, antidiarreico y tratamiento de problemas respiratorios; antitusígenos, problemas asmáticos, expectorante, antiséptico, analgésico, antiinflamatorio, antirreumático, tratamiento de fracturas y tumores. ^(20,21) En el campo culinario se utiliza como condimento en la preparación de platos típicos en algunas regiones del Perú. En el ámbito agrícola se utiliza como preservante de productos como la papa, previéndolo del ataque de insectos y mohos. En el ámbito pecuario se utiliza para el control de ectoparásitos y endoparásitos en animales domésticos. ⁽²⁰⁾

Staphylococcus aureus, esta es una bacteria patógena que se encuentra distribuida a nivel mundial, es el principal agente causal de infecciones intrahospitalarias e infecciones adquiridas en la comunidad. ⁽²²⁾ En la comunidad por lo general produce infecciones agudas, piógenas y superficiales, aunque con menor frecuencia puede llegar a producir osteomielitis, neumonía y endocarditis aguda. A nivel nosocomial *S. aureus* produce infecciones de heridas quirúrgicas, prótesis e infección por dispositivos médicos, además puede llegar a producir bacteriemia. ^(23,24,25) Por otro lado *Staphylococcus aureus* es agente causal de infecciones producidas por toxinas entre ellas el síndrome de shock tóxico, intoxicación alimentaria y síndrome de piel escaldada. ⁽²³⁾

Aceites Esenciales (AE), estos son fracciones con características volátiles, de consistencia aceitosa y muy fragante producida por todos los órganos que conforman la planta (raíz, tallo, hojas, flores y corteza), por lo general se extraen por el método tradicional de arrastre con vapor de agua. ⁽²⁶⁾ Se conocen aproximadamente cerca de 3000 tipos de aceites esenciales diferentes. De los cuales, cerca de 300 tienen utilidad comercial e industrial, gracias a su agradable sabor y olor son utilizados en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica. ⁽²⁷⁾

Generalmente los AE son compuestos muy complejos de 20 a 60 componentes en diferentes concentraciones, en mayor concentración se encuentran terpenos, terpenoides además de otras moléculas aromáticas, las que cumplen un papel fundamental en el efecto antimicrobiano. ⁽²⁸⁾ Por consiguiente la Actividad antimicrobiana Los aceites esenciales han demostrado actividad antimicrobiana variable contra cepas de bacterias Gram positivas y Gram negativas. ⁽²⁷⁾ La actividad antimicrobiana resulta de la interacción compleja entre las distintas clases de compuestos, como aldehídos, fenoles, alcoholes, cetonas, éteres y ésteres que se encuentran presentes en los AE. Varios estudios han demostrado que los AE que contienen como componentes principales a los fenoles o aldehídos como cinamaldehído, el citral, carvacrol eugenol o timol, han demostrado mayor efecto antimicrobiano. ⁽²⁹⁾

Siguiendo la línea de investigación el presente estudio plantea el siguiente problema general:
¿Cuál será la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*?

del mismo que formulamos los siguientes problemas específicos:

- P.E.1 ¿Cuál será la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) a una concentración del 100 % sobre cepas de *Staphylococcus aureus*?
- P.E.2 ¿Cuál será la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) a una concentración del 75 % sobre cepas de *Staphylococcus aureus*?
- P.E.3 ¿Cuál será la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) a una concentración del 50 % sobre cepas de *Staphylococcus aureus*?

La importancia de realizar el presente proyecto de investigación radica en buscar nuevas alternativas de tratamiento natural, la cual debe ser eficaz, segura, económica, con menos reacciones adversas y sobre todo de fácil acceso a la población. Asimismo, los resultados que se obtengan del presente estudio servirán como aporte a la comunidad científica para seguir realizando investigaciones y demostrar más actividades terapéuticas de esta especie vegetal.

La justificación de la presente investigación se basa en que en el Perú existe poca información científica acerca de eficacia antibacteriana del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*). Los escasos estudios que existen acerca de esta planta nos impulsan a realizar el presente estudio de investigación con el fin de demostrar la eficacia antibacteriana y buscar la concentración exacta que produce el efecto terapéutico. Así mismo el presente estudio tiene una justificación social, ya que mediante información científica validada pretende incentivar a la población en general a usar los recursos naturales como una alternativa natural de tratamiento de las diversas enfermedades, disminuyendo de esta forma la resistencia bacteriana.

De esta manera el presente estudio plantea el siguiente objetivo general: Demostrar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. del mismo que se plantean los siguientes objetivos específicos:

- O.E.1 Determinar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) a una concentración del 100 % sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.
- O.E.2 Determinar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) a una concentración del 75 % sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.
- P.E.3 Determinar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) a una concentración del 50 % sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

La hipótesis general que se plantea en el presente estudio es el siguiente: El aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) si tiene eficacia antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. del cual se plantean las siguientes hipótesis específicas:

- H.E.1 El aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) si tiene eficacia antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* a una concentración del 100 %.
- H.E.2 El aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) si tiene eficacia antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* a una concentración del 75 %.
- H.E.3 El aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) si tiene eficacia antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* a una concentración del 50 %.

II. MÉTODO

2.1 Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo de investigación

Analítica: Porque se va a analizar el efecto de las variables.

Prospectivo: Porque el análisis de datos se realizará después de transcurrido un tiempo en el futuro.

Transversal: Porque la recolección de datos y análisis de variables se darán en un monto único.

2.1.2 Diseño de investigación

Experimental: Porque el investigador va a manipular las condiciones de la investigación.

El diseño de la investigación se puede representar de la siguiente manera:

G1	X1	O1
G2	-	O2
G3	+	O3

G1, G2 y G3: Grupos de cepas

X1: Tratamiento con aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña)

O1, O2 y O3: Efecto observado.

- Control negativo, sin tratamiento.

+ Control positivo antibacteriano de uso comercial

2.2 Operacionalización de variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>)	Aceite extraído a partir de las hojas de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) por el método de arrastre de vapor de agua	Concentración	100%	Porcentaje
			75%	
			50%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Eficacia antibacteriana sobre <i>Staphylococcus aureus</i> .	Capacidad del aceite esencial de inhibir el crecimiento bacteriano	Halo de inhibición	Diámetro < 8mm 8 - 15mm (+) 15-20mm (++) >20mm (+++)	mm Nula Sensible Muy sensible Sumamente sensible

2.3 Población, muestra y muestreo

2.3.1 Población

Población vegetal

La población vegetal en estudio estará constituida por la especie vegetal de *Minthostachys mollis* (muña), ubicada en la provincia de Santa Cruz departamento de Cajamarca a 2035 m.s.n.m.

Población microbiológica

Constituida por las cepas estandarizadas de *Staphylococcus aureus*.

2.3.2 Muestra

Muestra vegetal

La muestra vegetal estará constituida por las hojas de *Minthostachys mollis* (muña).

Criterios de inclusión

- hojas sanas libre de microorganismos
- hojas en buen estado y de tamaño uniforme

Criterio de exclusión

- hojas contaminadas con microorganismos
- hojas en mal estado y de diferentes tamaños

Muestra biológica

Cepas estandarizadas de *Staphylococcus aureus*.

Criterio de inclusión

- cepas puras
- cepas no contaminadas

Criterio de exclusión

- Cepas no identificadas
- Cepas contaminadas

2.3.3 Muestreo

No probabilístico por conveniencia.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

2.4.1 Técnicas

Arrastre por vapor: es la técnica mediante la cual se obtendrá el aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña).

Técnica de difusión en pozo: técnica que se utilizara para determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de la especie vegetal sobre las cepas de *S. aureus*.

Técnica de medición de halos: técnica en la que se utiliza un vernier para medir el diámetro de los halos formados producto de la inhibición del crecimiento bacteriano por acción del aceite esencial.

2.4.2 Instrumentos de recolección de datos.

Se utilizará como instrumento una ficha donde se recolectan los datos obtenidos en el estudio, estos datos estarán representados por las medidas del halo de inhibición. Además, esta ficha será analizada y aprobada por el comité de expertos investigación conformada por 3 docentes de la E.P. de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, para darle la confiabilidad respectiva

2.5 Procedimiento.

2.5.1 Recolección de la muestras vegetales e identificación taxonómica

Las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) serán recolectadas en la provincia de Santa Cruz departamento de Cajamarca a 2035 m.s.n.m. Una vez recolectadas serán envueltas en papel kraft y trasladadas al laboratorio, para el tratamiento respectivo y posterior obtención del aceite esencial. Para la identificación taxonómica se recolectaron muestras vegetales representativas de cada especie, las cuales fueron identificadas por un profesional especialista Biólogo-Botánico, el cual emitirá un certificado de la clasificación taxonómica de la especie vegetal.

2.5.2 Obtención del aceite esencial

Se seleccionarán las hojas que se encuentren en buenas condiciones y se procederá a eliminar las que no cumplan los requisitos de inclusión.

Lavado: Una vez realizada la selección se procederá al lavado del material vegetal con agua destilada, y la respectiva desinfección con hipoclorito de sodio

al 0.5% por 3 minutos. Finalmente se enjuagará con agua destilada, con la finalidad de eliminar por completo los residuos de hipoclorito de sodio y posterior secado con papel kraft.

Secado: El secado se realizará a temperatura ambiente y bajo sombra.

Fraccionamiento: Una vez secas las hojas se procederá al fraccionamiento, este realizará de forma manual tratando de obtener tamaños uniformes.

Para la obtención del aceite esencial, el método a utilizar será el de destilación por arrastre con vapor, el cual es más recomendado para la obtención de aceite esencial.

Procedimiento: El método de obtención del aceite esencial será según Peña⁽¹⁵⁾ modificado. El método consistirá en extraer aceite esencial de 6 kg de hojas frescas de *Minthostachys mollis* (muña), para lo cual se colocará agua destilada en un balón de destilación N° 1, el cual servirá como generador de vapor de agua; en el balón N° 2 se colocarán las hojas frescas de *Minthostachys mollis* (muña) previamente fraccionadas hasta completar los 2200 gr capacidad máxima del balón; este balón irá unido a un condensador y este finalmente destilará el aceite a una pera de decantación.

El método consiste en llevar a ebullición el balón de destilación N° 1 el cual servirá de generador de vapor; que pasará al balón N° 2, este proceso permitirá la “extracción del aceite esencial, el mismo que será arrastrado junto con el vapor de agua hacia el condensador” el cual enfriará la mezcla y finalmente se obtendrá el aceite esencial el mismo que se depositará en la pera de decantación.

Debido a la diferencia de propiedades físicas como densidad e inmiscibilidad, el aceite esencial se separará del agua; para esto se utilizará una pera de decantación, se agregará sulfato de sodio anhidro Na₂SO₄ al aceite como secante para eliminar las trazas de agua; el aceite esencial que se obtenga de este proceso se envasará en un frasco de vidrio color ámbar y se mantendrá alejado de la luz solar a una temperatura de 4°C hasta su uso.

2.5.3 Determinación del efecto antibacteriano

Formación de grupos

Grupo experimental 1: aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 100%, 15 repeticiones.

Grupo experimental 2: aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 75%, 15 repeticiones.

Grupo experimental 3: aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) al 50%, 15 repeticiones.

Control negativo: Dimetil sulftoxido (DMS), 15 repeticiones.

Control positivo: Ciprofloxacino, 15 repeticiones.

Preparación de las concentraciones

Una vez obtenido el AE, se procedió a realizar las respectivas diluciones con dimetilsulfóxido DMSO obteniendo concentraciones al 100%, 75% y 50%.

Reactivación de las cepas estándar ATCC

Las cepas estandarizadas de *Staphylococcus aureus* se mantendrán en refrigeración entre 2°- 8°C desde el momento de su adquisición hasta el momento de su reactivación. Siguiendo las instrucciones del distribuidor se retirará de su envase la cepa liofilizada para su reconstitución y sembrado. La cepa se sembrará en placas que contengan medio de cultivo enriquecido agar Braidk parker; una vez realizado el reconstituido y sembrado, las placas se colocaran en una estufa para su incubación a 37°C durante 24 horas. ⁽¹⁵⁾

Preparación del inculo

La preparación del inculo bacteriano fue según el manual de procedimientos para pruebas de sensibilidad bacteriana del INS. ⁽³⁰⁾ Se preparará una suspensión directa de colonias aisladas de *Staphylococcus aureus*, utilizando como medio de dilución solución salina estéril, a partir de una placa con agar manitol salado con 24 horas de incubación. Posteriormente se procederá al ajuste de la suspensión hasta lograr una turbidez equivalente al estándar 0.5 de la escala de McFarland aproximadamente” 1-2x10⁸ UFC/MI.

Determinación de la sensibilidad bacteriana según el método de difusión en pozo.

Método según instituto nacional de salud (INS).⁽³⁰⁾ Primeramente en placas Petri estériles se sirvió entre 15 a 20 ml de agra Müller Hinton y se dejó solidificar. A continuación, con un hisopo estéril se tomará un inóculo estandarizado de cepas de *Staphylococcus aureus*, se eliminará el exceso en las paredes del tubo, luego se sembrará en la superficie del agar por la técnica de estrías en tres direcciones distintas, esto con el propósito de cubrir toda la superficie del agar y se dejará secar por espacio de cinco minutos. A continuación, se procedió a realizar los pozos con un sacabocado, seguidamente se colocó las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) en los pozos realizados en el agar. Finalmente se llevarán las placas a incubación a 37°C durante 24 horas.

Lectura de resultados

Una vez transcurrido el periodo de incubación 24horas se procedió a medir los halos de inhibición de cada una de las placas con la ayuda de un vernier digital y se registraran los datos obtenidos en una ficha de recolección de datos para su posterior procesamiento estadístico. Los halos serán medidos según la escala de Duraffourd:

- Nula (-) diámetro menor a 8 mm
- Sensibilidad limite (+) diámetro 8 - 14 mm
- Sensibilidad media (++) diámetro 14 – 20 mm
- Sensibilidad máxima (+++) diámetro mayor a 20 mm

2.6 Método de Análisis de datos

Para determinar el efecto antibacteriano de *Minthostachys mollis* (Muña) sobre *Staphylococcus aureus*; se utilizó el programa estadístico SPSS versión 26, el que ayudará a determinar la estadística descriptiva de cada una de las variables, el Análisis de varianza se realizará con la prueba ANOVA y TUKEY para hallar la diferencia significativa de los halos de inhibición; la prueba tendrá un valor de significancia del 5% ($p < 0.05\%$). Los datos serán ordenados y representados en gráficos para su análisis e interpretación.

2.7 Aspectos éticos

La manipulación y desecho del material biológico se realizará de acuerdo al manual de procedimientos bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos del Instituto Nacional de Salud.⁽³¹⁾ Para evitar accidentes y contaminación durante la ejecución del trabajo de investigación.

III. RESULTADOS

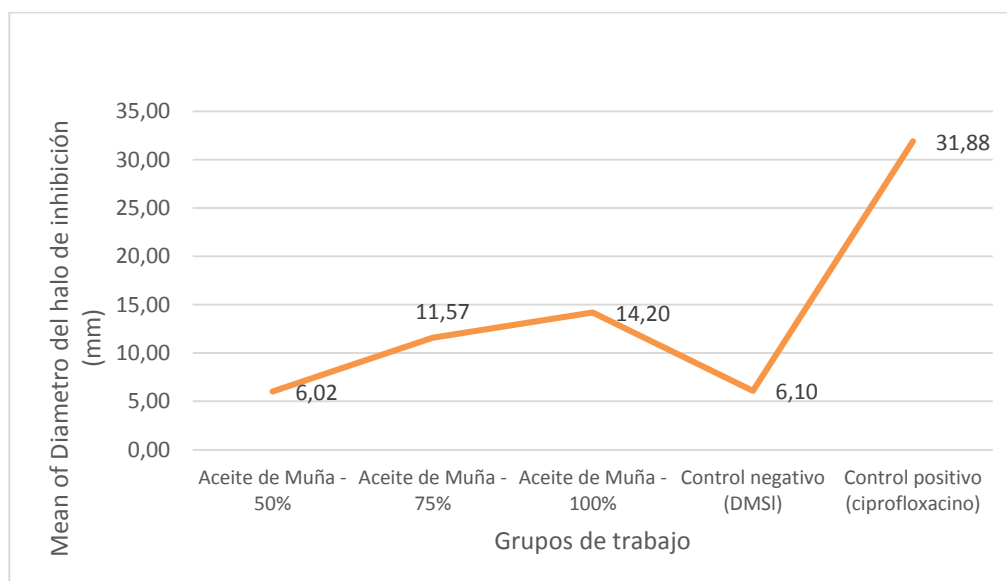
Tabla 1. Estadística descriptiva para los datos de los grupos experimentales y control

	N	Diámetro del halo de inhibición (mm)							
		Media	Desv. Estándar	Error Estándar	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
Aceite de Muña - 50%	15	6,02	0,21	0,05	5,90	6,14	5,50	6,30	
Aceite de Muña - 75%	15	11,57	0,26	0,07	11,42	11,71	11,10	12,00	
Aceite de Muña - 100%	15	14,20	0,35	0,09	14,00	14,40	13,60	14,70	
Control negativo (DMS)	15	6,10	0,27	0,07	5,95	6,25	5,60	6,60	
Control positivo (ciprofloxacino)	15	31,88	0,31	0,08	31,71	32,05	31,40	32,60	

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 1 se presenta la estadística descriptiva obtenida a partir de los datos recolectados con respecto al tamaño de halo de inhibición de cada grupo de trabajo, se observa para el grupo experimental del aceite de muña al 50% un halo de inhibición promedio de $6,02 \pm 0,21$ mm, para 75% un halo de inhibición de $11,57 \pm 0,26$ mm y para la concentración del 100% un halo promedio de $14,20 \pm 0,35$ mm; por otro lado, con respecto al control positivo de ciprofloxacino se encontró un halo promedio de $31,88 \pm 0,31$ mm y para el control negativo (DMS) fue de $6,10 \pm 0,27$ mm.

Figura 1. Comportamiento según medias de los grupos experimentales y control



Fuente: SPSS ver. 26

La figura 1 se representa gráficamente los promedios de los halos de inhibición donde se observa de manera comparativa cada grupo, el control positivo representado por ciprofloxacino presenta mayor

efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* que el resto de los grupos de trabajo, así mismo, los grupos experimentales muestran un efecto antibacteriano marcado contra esta bacteria al comparar el tamaño del halo de inhibición con el control negativo, excepto a la concentración del 50%.

Tabla 2. Prueba de distribución normal para cada grupo de tratamientos

Grupos de trabajo	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	df	Sig.	Estadístico	df	Sig.
Aceite de Muña - 50%	0,262	15	0,170	0,890	15	0,167
Aceite de Muña - 75%	0,133	15	0,200*	0,963	15	0,738
Aceite de Muña - 100%	0,136	15	0,200*	0,938	15	0,353
Control negativo (DMSI)	0,154	15	0,200*	0,972	15	0,882
Control positivo (ciprofloxacino)	0,218	15	0,053	0,932	15	0,293

*. Este es un límite inferior del verdadero significado.

a. Corrección de la significancia de Lilliefors

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 2 presenta el análisis realizado para la determinación de la distribución normal de los grupos de trabajo, se observa dos tipos de prueba Kolmogorov Smirnov y Shapiro Wilk, en ambos casos al hacer la comparación con el nivel de significación se muestra un valor superior al valor comparativo de 0,05, por lo tanto, se confirma que todos los grupos de trabajo presentan distribución normal.

Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianzas (Levene)

Diámetro del halo de inhibición		Estadístico	df1	df2	p-valor
		de Levene			
Diámetro del halo de inhibición	Based on Mean	1,237	4	70	0,303
	Based on Median	1,224	4	70	0,309
	Based on Median and with adjusted df	1,224	4	66,510	0,309
	Based on trimmed mean	1,210	4	70	0,314

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 3; del mismo modo, se aplicó la prueba de Levene para determinar la homogeneidad en los datos recolectados, luego del análisis se observa que el $p > 0,05$; por lo tanto, se confirma que los datos analizados presentan distribución homogénea en sus varianzas con un nivel de confianza del 95%.

Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	6776,025	4	1694,006	20726,015	0,000
Dentro de los grupos	5,721	70	0,082		
Total	6781,747	74			

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 4, se presenta la prueba de ANOVA o de análisis de la varianza, donde luego del análisis realizado mediante el programa estadístico SPSS v.26 se obtuvo un $p < 0,05$; por lo tanto, se demuestra que entre los grupos de datos analizados existe al menos un grupo que presenta diferencia estadísticamente significativa con el resto, por lo tanto, se debe proceder a realizar una prueba post hoc.

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

Diámetro del halo de inhibición (mm)					
Tukey HSD ^a					
Grupos de trabajo	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Aceite de Muña - 50%	15	6,02			
Control negativo (DMSI)	15	6,10			
Aceite de Muña - 75%	15		11,56		
Aceite de Muña - 100%	15			14,20	
Control positivo (ciprofloxacino)	15				31,88

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15,000.

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 5, representa el análisis realizado mediante la prueba post hoc de Tukey por sub grupos homogéneos, de donde se aprecia la clasificación por niveles de los halos de inhibición, siendo el nivel 4 el de mayor efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, todos los grupos experimentales y control presentan diferente efecto antibacteriano sobre esta bacteria, excepto entre el aceite de muña al 50% y control negativo.

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

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–15 mm	Muy sensible 15-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Aceite de Muña - 50%	6,02			
Control negativo (DMSI)	6,10			
Aceite de Muña - 75%		11,56		
Aceite de Muña - 100%		14,20		
Control positivo (ciprofloxacino)				31,8800

En la tabla 6, se muestra la escala comparativa de Duraffourd mediante la cual se puede determinar la sensibilidad de *Staphylococcus aureus*, con respecto a los grupos de trabajo, se observa que esta bacteria es altamente sensible al control positivo (ciprofloxacino), es sensible al aceite de muña al 75% y 100% y presenta sensibilidad nula al control negativo (DMS) y aceite de muña al 50%.

IV. DISCUSIÓN

Staphylococcus aureus es un microorganismo que presenta una alta tasa de infecciones y a nivel nosocomial está presentando elevado porcentaje de resistencia a los antimicrobianos; por otro lado, la muña es un especie vegetal que ha demostrado en diversos estudios propiedades medicinales entre ellas el efecto antimicrobiano, por tal razón, el estudio mediante esta investigación demostró el poder antibacteriano que presenta el aceite esencial de esta planta a *Staphylococcus aureus*, mostrando el siguiente análisis de los resultados.

El estudio del efecto antibacteriano se realizó empleando la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, por medio del método de difusión en pozo donde se obtuvieron halos de inhibición al enfrentar el aceite de muña a diferentes concentraciones sobre esta bacteria in vitro, para el efecto se observó para el aceite de muña al 50% un halo de inhibición promedio de $6,02 \pm 0,21$ mm, para 75% un halo de inhibición de $11,57 \pm 0,26$ mm y para la concentración del 100% un halo promedio de $14,20 \pm 0,35$ mm.

El estudio muestra resultados similares a los encontrados por Paucar E; et al. (2020) en su estudio titulado “Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral” observó halos de inhibición de *Minthostachys mollis* al 100 % a las 24, 48 y 72 horas frente a la *Porphyromonas gingivalis*, midieron: 10,2 mm, 9,8 mm y 9,6 mm; frente al *Staphylococcus aureus*, midieron: 10,4 mm, 9,7 mm y 9,4 mm y, por último, frente a *Candida albicans* midieron: 9,8 mm, 8,9 mm y 8,5 mm. Así mismo, se corresponden con los estudios de Campo, M; et al. (2017), en su investigación “Composición química y actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las partes aéreas de *Minthostachys mollis* Griseb” donde muestra el poder antibacteriano del extracto etanólico de muña y la presencia de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, triterpenos, aminoácidos y flavonoides que le confieren esta propiedad. Además, el estudio realizado por Torrenegra, M; et al. (2017), titulado “Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*” donde demostró el aceite esencial de muña una elevada actividad antibacteriana del aceite de muña sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Escherichia coli*.

De manera contraria, a nivel nacional los estudios realizados por Mejía, J. y Silva, L. (2019) en su investigación titulada “Comparación del efecto antibacteriano de los aceites esenciales de las hojas de *Minthostachys mollis* kunth griseb (muña) y *Dodonaea viscosa* L. Jacq

(chamana) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*”, determinaron el efecto antibacteriano del aceite de muña mediante el método de Kirby Bauer de *Minthostachys mollis* sobre *Staphylococcus aureus* a las concentraciones de 10%, 50% y 100%; resultados que se contraponen a los encontrados, ya que a la concentración del 50% no presentó efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*. Del mismo modo, los resultados encontrados por Peña, D. y Gutiérrez, M. (2017), quienes realizaron un estudio titulado “Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en vías respiratorias bajas” se refutan en la proporción del tamaño de halo de inhibición obtenido por el aceite de muña sobre *Staphylococcus aureus* a la concentración de 50 µg/mL, el cual fue 19,3 mm valores muy superiores a los encontrados en el estudio sobre la misma bacteria y aceite al 100%.

Así mismo, Abanto, M. y Pérez, R. (2017) en su estudio “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* Kunth Griseb (muña) en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*” sostienen que el aceite de muña presenta actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Los datos recolectados fueron analizados mediante estadística descriptiva e inferencial empleando en esta última las pruebas de ANOVA y Tukey para contrastar la hipótesis de investigación considerando un nivel de confianza del 95% en todos los casos; se observó diferencias significativas en los grupos experimentales comparados con los grupos control, excepto en el grupo del aceite de muña al 50% el cual no presentó efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ya que no demostró ser significativamente diferente al grupo control negativo; por otro lado, el grupo control positivo representado por el ciprofloxacino presentó mayor efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus* que los aceites de muña a las concentraciones del 75% y 100%.

Mediante la escala de Duraffourd se pudo realizar un análisis de la sensibilidad de la bacteria a los aceites de muña y grupos control, presentando es altamente sensible al control positivo (ciprofloxacino), es sensible al aceite de muña al 75% y 100% y presenta sensibilidad nula al control negativo (DMS) y aceite de muña al 50%.

V. CONCLUSIONES

1. Se demostró la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* mediante el método de difusión en pozo y el análisis inferencial con ANOVA y Tukey.
2. Se determinó la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) a una concentración del 100 % sobre cepas de *Staphylococcus aureus* mediante la formación de un halo de inhibición de $14,20 \pm 0,35$ mm.
3. Se determinó la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) a una concentración del 75 % sobre cepas de *Staphylococcus aureus* mediante la formación de un halo de inhibición de $11,57 \pm 0,26$ mm.
4. No se determinó la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) a una concentración del 50 % sobre cepas de *Staphylococcus aureus* mediante la formación de un halo de inhibición de $6,10 \pm 0,27$ mm.

VI. RECOMENDACIONES

- Las plantas medicinales contienen principios activos que muestran gran aplicación en el campo de la salud; por lo tanto, se recomienda a las universidades seguir promoviendo las investigaciones sobre plantas medicinales.
- El uso de medicina natural es poco común actualmente; sin embargo, el consumo de estas no conlleva a contraindicaciones; por lo tanto, se recomienda a la sociedad el consumo y uso de plantas medicinales para el tratamiento de sus enfermedades.
- Se recomienda a las farmacias especializadas aplicar principios activos en sus formulaciones y previo a los controles de calidad realizar estudios de eficacia para poder incluir estas formulaciones en guías terapéuticas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Campo Fernández , et al. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb contra el *Staphylococcus aureus*. *Revista Cubana de Farmacia*. 2017; 51(04).
2. Castañeda Méndez PF, et al. Frecuencia de infecciones por *S. aureus* en pacientes hospitalizados en un hospital privado de tercer nivel de la Ciudad de México. *Revista Médica*. 2018; 09(04).
3. Cachay Figueroa , et al. Mortalidad en pacientes con bacteriemia por *Staphylococcus aureus* en hospitales de Lima, Perú. [Trabajo de investigación para optar por el grado académico de Bachiller en Medicina] Universidad Cayetano Heredia- Lima, 2018.
4. Aguilar Gamboa R, et al. Portadores nasofaríngeos de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* en personal de salud del hospital provincial docente belén de lambayeque. *Revista Experiencia en Medicina*. 2016; 01(02).
5. Paucar Rodríguez , et al. Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral. *Revista Cubana de Investuigaciones Biomedicas*. 2020; 40(05).
6. Campo Fernández , et al. Composición química y actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las partes aéreas de *Minthostachys mollis* Griseb. *Revista Cubana de Farmacia*. 2017; 51(2).
7. Torrenegra Alarcón , et al. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite. *Orinoquia*. 2016; 20(01).
8. Mejía Álvarez JA, Silva Acuña LF. Comparación del efecto antibacteriano de los aceites esenciales de las hojas de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "Muña" y *Dodonaea viscosa* L. Jacq "Chamana" en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico] Univeridad Privada Antonio Guillermo Urrelo- Cajamarca,2019.
9. Peña D, Gutiérrez M. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en vías respiratorias bajas. *Ciencia y Tecnología*, Universidad Nacional de Trujillo-Escuela de Posgrado. 2017; 13(03).
10. Abanto Machuca , Pérez Marchena R. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "muña" en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico] Univeridad Privada Antonio Guillermo Urrelo - Cajamarca 2016.
11. Vicuña Alvarado FT. Evaluación del efecto Inmunoestimulante del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) frente al patógeno *Aeromonas hydrophila* EN *Piaractus mesopotamicus* (Pacú). [Online].; 2019. Acceso 05 de Julio de 2020. Disponible en:

http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/7668/Evaluacion_VicunaAlvarado_Fariva.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

12. Torrenegra Alarcón , et al. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. Orinoquia. 2016; 20(1).
13. Pawer Pucurimay D, et al. Diferencias en la presencia de alcaloides y fenoles de cinco muestras de muña de expendio informal procedentes de mercados populares en Lima - Perú. Horiz Med. 2018; 18(03).
14. Angeles Quelrolo CE, Rangel Morales FM. Cinética del secado convectivo de hojas de *Minthostachys mollis* (Muña). [Online].; 2019. Acceso 05 de Julio de 2020. Disponible en: http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/3365/Angeles%20Queirolo%20y%20Rangel%20Morales_POSGRADO%20_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
15. Peña S. D, Gutiérrez R. M. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en vías respiratorias bajas. Revista Ciencia y Tecnología. 2017; 13(03).
16. Huari Guerrero GM. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) en *Streptococcus mutans*. [Tesis Para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista] Universidad Nacional Mayor de San Marcos - Lima, 2015.
17. Dávila Guerra CE. Actividad repelente del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Grisebach; y elaboración de una crema repelente contra insectos adultos de la familia Culicidae. [Tesis Para optar al título profesional de Químico Farmacéutico] universidad nacional de san marcos- lima, 2018.
18. Rojas Wisa OF. Evaluación fitoquímica y actividad anti-helicobacter pylori del aceite esencial de *Minthostachys mollis*“muña” en pacientes con gastritis del Hospital Militar Central. [Tesis Para optar el Grado Académico de Doctor en Farmacia y Bioquímica] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2017.
19. Bustamante Gonzales R. Evaluación del potencial antifúngico de los extractos etanólicos de *Phyllanthus niruri* y *Minthostachys mollis* frente al hongo *Botrytis cinerea*. [Tesis Para optar el Título Profesional de Bióloga con mención en Botánica] universidad nacional mayor de san marcos - Lima, 2018.
20. Huamani Quinte. Estudio de compuestos bioactivos del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) por cromatografía de gases-espectrometría de masas en tres niveles altitudinales del distrito de Huando. [Online].; 2015. Acceso 06 de Julio de 2020. Disponible en: <http://repositorio.unh.edu.pe/bitstream/handle/UNH/116/TP%20-%20UNH%20AGROIND%20%200030.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

21. Infantes Figueroa , Melina Yudith. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Escherichia coli* comparado con norfloxacin. [Online].; 2019. Acceso 06 de Julio de 2020. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/11314>.
22. Chávez Vivas , et al. CARACTERIZACIÓN DE *Staphylococcus aureus* obtenido del ambiente hospitalario y del personal de salud en un hospital de la ciudad de Cali. *Biosalud*. 2017; 16(2).
23. Seija V. Género *Staphylococcus*. [Online]. Acceso 27 de octubre de 2019. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Staphylococcus.pdf>.
24. López G L, et al. Caracterización microbiológica y molecular de *Staphylococcus aureus* en productos cárnicos comercializados en Cartagena Colombia. *Rev. costarric. salud pública*. 2016; 25(2).
25. Zendejas Manzo G, et al. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomed*. 2014; 25(3).
26. Martínez M. A. Aceites esenciales. [Online]; 2013. Acceso 06 de Julio de 2020. Disponible en: http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf.
27. Bermúdez-Vásquez J, et al. Composición química y actividad antimicrobiana de aceites esenciales. *Agron. Mesoam*. 2019; 30(01).
28. Perricone , et al. Bioactividad de los aceites esenciales: una revisión sobre su interacción con los componentes de los alimentos. *Frontiers in microbiology*. 2015; 6(76).
29. Bassolé IH, Juliani. Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. *Molecules*. 2012; 17.
30. Instituto Nacional de Salud (INS). manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. [Online].; 2002. Acceso 3 de noviembre de 2019. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>.
31. Instituto Nacional de Salud. manual de procedimientos bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos. [Online].; 2005. Acceso 3 de noviembre de 2019. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1669.pdf>.

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Autor (es): Bach. BARÓN GUERRERO, Yomar Esther/Bach. VELÁSQUEZ ESPINOZA, Cristián Arnaldo				
Tema: “EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (<i>Minthostachys mollis</i>) SOBRE CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i>”				
Problema general	Objetivo general	Hipótesis General	Variables y dimensiones	Metodología
¿Cuál será la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Demostrar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	El aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) si tiene eficacia antibacteriana sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Variable Independiente (x) X: Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> . Indicadores: X1: Administración del aceite esencial.	Tipo de Investigación: Investigación de tipo transversal, prospectivo y de diseño experimental. Población: Vegetal Conformada por la especie vegetal de <i>Minthostachys mollis</i> Biológica Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específicas		
P.E.1 ¿Cuál será la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) a una concentración del 100 % sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	O.E.1 Determinar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) a una concentración del 100 % sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	H.E.1 El aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) si tiene eficacia antibacteriana sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> a una concentración del 100 %. H.E.2 El aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) si tiene eficacia antibacteriana sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> a una concentración del 75 %.	Indicadores: X1: Administración del aceite esencial.	Vegetal Conformada por la especie vegetal de <i>Minthostachys mollis</i> Biológica Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>
P.E.2 ¿Cuál será la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) a una concentración del 75 % sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	O.E.2 Determinar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) a una concentración del 75 % sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	H.E.2 El aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) si tiene eficacia antibacteriana sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> a una concentración del 75 %.	Variable Dependiente (Y) Y: Efecto antibacteriano sobre <i>Staphylococcus aureus</i> . Indicadores:	Muestra: Vegetal Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> Biológica Cepas jóvenes de <i>Staphylococcus aureus</i> .
P.E.3 ¿Cuál será la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) a una concentración del 50 % sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Determinar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) a una concentración del 50 % sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	H.E.3 El aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) si tiene eficacia antibacteriana sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	Indicadores: Y1: Diámetro de los halos de inhibición.	Técnicas de recopilación de información: ficha de recolección de datos Técnicas de procesamiento de información: Pruebas de normalidad, ANOVA y TUKEY mediante el software estadístico SPSS ver. 26

Anexo 2. Operacionalización de variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>)	Aceite extraído a partir de las hojas de muña (<i>Minthostachys mollis</i>) por el método de arrastre de vapor de agua	Concentración	100%	Porcentaje
			75%	
			50%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Eficacia antibacteriana” in vitro sobre <i>Staphylococcus aureus</i> .	Capacidad del aceite esencial de inhibir el crecimiento bacteriano	Halo de inhibición	Diámetro < 8mm 9 - 15mm (+) 15-20mm (++) >20mm (+++)	mm Nula Sensible Muy sensible Sumamente sensible

Anexo 3. Instrumento de recolección de datos

“EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (<i>Minthostachys mollis</i>) SOBRE CEPAS DE <i>Staphylococcus aureus</i>”					
Número de repeticiones	GRUPOS EXPERIMENTALES Concentración del aceite esencial de muña (<i>Minthostachys mollis</i>)			GRUPOS CONTROL	
	50%	75%	100%	Control Negativo (DMS)	Control positivo (Ciprofloxacino)
1	6,0	11,5	14,3	6,1	32,0
2	5,9	11,3	14,1	6,2	31,9
3	6,0	11,5	14,6	5,9	31,8
4	6,0	11,9	14,2	6,6	31,6
5	6,0	11,9	14,5	6,1	32,0
6	6,3	11,7	13,7	5,6	31,8
7	6,0	11,5	13,7	6,2	31,4
8	5,5	11,8	13,6	5,8	31,8
9	5,7	11,3	14,7	6,0	32,0
10	6,2	11,3	14,1	5,6	31,5
11	6,1	12,0	14,2	5,4	32,0
12	6,3	11,7	14,5	6,2	32,0
13	6,0	11,1	14,3	6,5	31,5
14	6,1	11,6	14,6	6,4	32,3
15	6,2	11,4	13,9	6,1	32,6

Anexo 4. Certificación botánica de la especie vegetal

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

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como “Muña” proporcionada por los Bachilleres, Yomar Esther Barón Guerrero y Cristián Arnaldo Velásquez Espinoza, Tesis de la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Minthostachys mollis* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: ASTERIDAE
Orden: LAMIALES
Familia: LAMIACEAE
Especie: *Minthostachys*
Especie: *Minthostachys mollis*

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

Lima, 19 octubre del 2021


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton W. Beltrán Santiago
Físlogo - Botánico
C.B.P. 7719

Anexo 5. Certificado de análisis de la cepa



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-407** Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/6/21 Release information: Quality Control Technologist: Kieshia L. Negen Release Date: 2020/5/20
Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP smooth, Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p><small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="272 1294 470 1429">  <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</small> </div> <div data-bbox="272 1435 422 1480">  </div> <div data-bbox="443 1429 1348 1473"> <small>(*) 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.</small> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="272 1503 470 1637">  <small>TESTING CERT #2655.01</small> </div> <div data-bbox="523 1626 869 1648"> <small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small> </div> </div>	

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: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Sample Description: 0360
 Sample ID: 360-407
 Sample Creation Date/Time: 2018-09-05T12:23:16.417 MLB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E12 (+++) (A)	360-407	Staphylococcus aureus	2.34

Comments:

N/A

Anexo 6. Evidencias del trabajo de campo



Figura 2. Selección, lavado y secado de la muestra



Figura 3. Obtención del aceite esencial



Figura 4. Preparación de las distintas concentraciones del aceite



Figura 5. Activación de la cepa Staphylococcus aureus

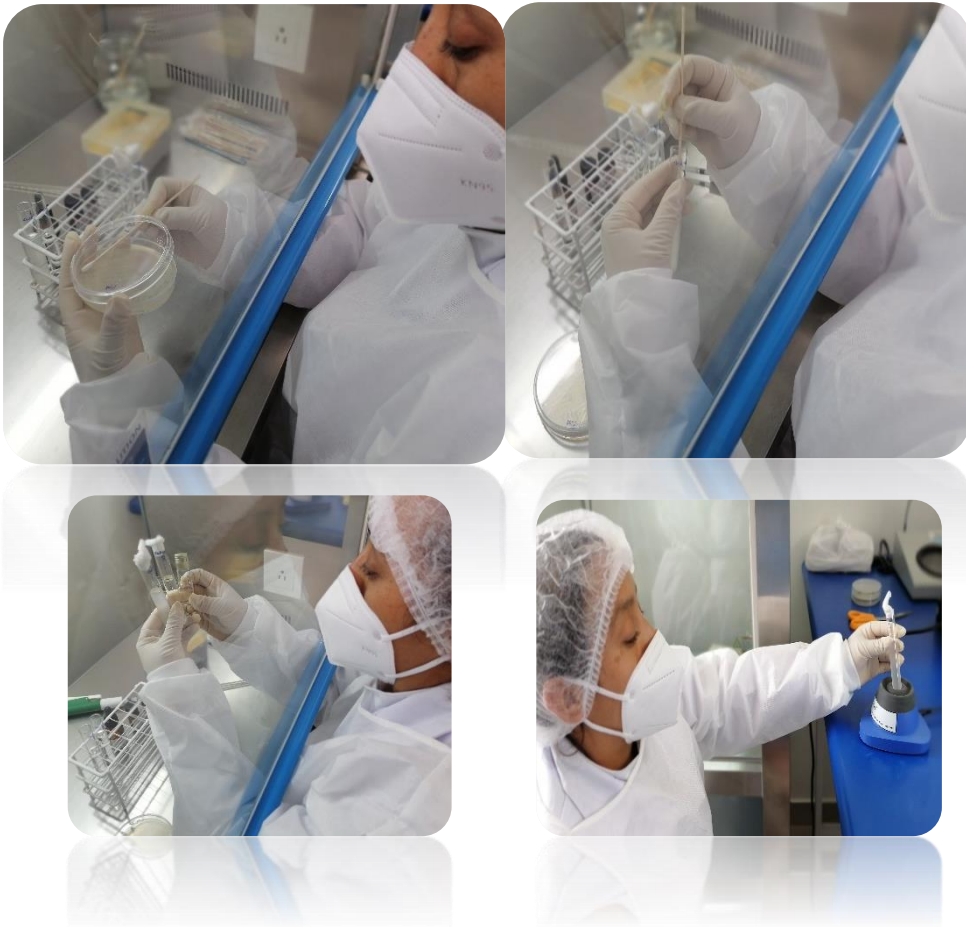


Figura 6. Preparación del inoculo

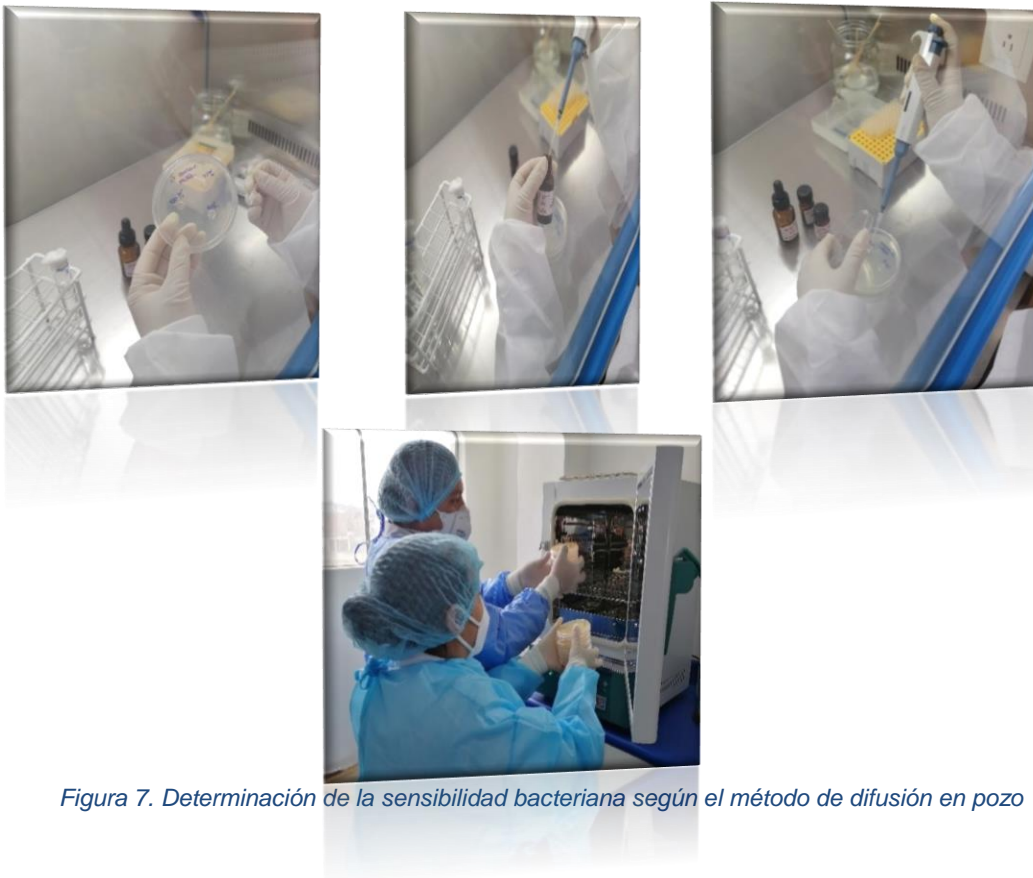


Figura 7. Determinación de la sensibilidad bacteriana según el método de difusión en pozo



Figura 8. Lectura del tamaño de los halos inhibitorios

UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO
FRANKLIN ROOSEVELT
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DECANATO

Huancayo, 17 de Diciembre del 2021
Hora: 08:40 hrs Modalidad Virtual.

Título de la tesis:

EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*)
SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus*

ASESOR: MG. ANTONIO FERNANDO QUEZADA REYES.


Nombres del Jurado Evaluador

Nombres del jurado evaluador	Firma
Presidente: DR. EDGAR ROBERT TAPIA MANRIQUE	
Secretaria: MG. JAVIER FLORENTINO CHURANGO VALDEZ	
Vocal : MG. ANTONIO FERNANDO QUEZADA REYES	
Suplente : MG. CARLOS ALFREDO CANO PEREZ	

Resultado de la presentación y sustentación de la tesis:

NOMBRE Y FIRMA DE LOS BACHILLER	CALIFICACIÓN	
 YOMAR ESTHER BARON GUERRERO	APROBADO CON MENCIÓN HONROSA	
	APROBADO POR UNANIMIDAD	X
	APROBADO POR MAYORÍA	
	DESAPROBADO	
 CHRISTIAN ARNALDO VELASQUEZ ESPINOZA	APROBADO CON MENCIÓN HONROSA	
	APROBADO POR UNANIMIDAD	X
	APROBADO POR MAYORÍA	
	DESAPROBADO	




 Dra. Benjamina Z. Ortiz Espinar
 DECANA
 FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
 UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO
 FRANKLIN ROOSEVELT