UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias

Escuela Profesional de Biología - Microbiología

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *in vitro* DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* "MUÑA" Y LA NITROFURANTOÍNA FRENTE A *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

TESIS

Presentada por:

Bach. Edison Sergio Pari Paccari

Para optar el Título Profesional de:

BIÓLOGO MICROBIÓLOGO

TACNA – PERÚ

2024

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS N° 415

En la ciudad de Tacna, en el auditorio de la Facultad de Ciencias, de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, siendo las 08:30 horas del día 13 de junio del 2024, estando presente el jurado calificador nominado por Resolución de Facultad N°10937-2024-FACI-UNJBG conformado por los siguientes docentes:

Dra. Soledad Bornás Acosta	PRESIDENTE
Dra. Angela Verónica Choque Miranda	SECRETARIO
Dr. César Julio Cáceda Quiroz	VOCAL

Acto seguido, se dio lectura a la resolución correspondiente, y del mimo modo se dio lectura al Articulo 22° del Reglamento de Grados y títulos de la Facultad de Ciencias.

A continuación, el presidente de Jurado Insto al bachiller: Edison Sergio Pari Paccari, a exponer la tesis titulada: **COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *in vitro* DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* "MUÑA" Y LA NITROFURANTOÍNA FRENTE A *Enterococcus faecalis* ATCC 29212**, para optar el Título Profesional de Biólogo Microbiólogo.

Siendo las 09:20 horas, el tesista concluye su exposición, luego se procedió a la formulación de las preguntas por parte de los miembros del jurado calificador, terminado este proceso, se invitó a que los miembros del jurado emitan su calificación de acuerdo al reglamento. El promedio de calificación dio el siguiente resultado:

Aprobado por Unanimidad, con el calificativo de BUENO, nota 15, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Ciencias. Siendo 09:55 horas, se dio por concluido el acto de sustentación de la Tesis, firmando los señores miembros del jurado calificador, en señal de conformidad.

Dra. Soledad Bornás Acosta
Presidente

Dra. Angela Verónica Choque Miranda
Secretario

Dr. César Julio Cáceda Quiroz
Vocal

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, **CÉSAR JULIO CÁCEDA QUIROZ** en mi condición de asesor acreditado por la Resolución de Facultad N° 10937-2024-FACI-UNJBG, de la tesis de investigación titulada: **COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *in vitro* DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* "MUÑA" Y NITROFURANTOÍNA FRENTE A *Enterococcus faecalis* ATCC 29212**

Presentado por el bachiller: **EDISON SERGIO PARI PACCARI** para optar el título profesional de **BIÓLOGO MICROBIÓLOGO.**

Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual **TURNITIN**, cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es de **6%.**

Por lo que **CERTIFICO LA SIMILARIDAD** de la tesis enunciada líneas arriba, la cual está expedita para continuar con los trámites para la obtención del Título Profesional de Biólogo Microbiólogo, según corresponda consiguientemente la publicación en el repositorio institucional.

Dr. CÉSAR JULIO CÁCEDA QUIROZ

DNI:00791214

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación está dedicado a Dios el forjador de mi camino, por darme la sabiduría y fortaleza para alcanzar mis objetivos.

A mis padres, Marcos y Rufina por su apoyo incondicional, su paciencia y sus consejos para hacer de mi mejor persona.

A mis hermanos, Mary, David y Yuri por los grandes momentos vividos y por alentarme motivándome a continuar a pesar de las dificultades.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por dirigirme y poner en mi camino a personas idóneas que hicieron posible la culminación de mi trabajo de investigación.

A mi asesor Dr. César Julio Caceda Quiroz, quien me ha guiado durante todas las fases de mi investigación, dándome valiosas sugerencias, acertadas críticas que contribuyeron enormemente en esta maravillosa experiencia.

Agradezco también al Blgo – Mblgo de laboratorio Edwin Denis Obando Velarde por compartir sus conocimientos y guiarme en este proceso, a una buena amiga Milena por sus aportes y experiencia.

A toda mi familia, en especial a mi hermano David quien siempre ha estado ahí para mí, inspirándome a seguir adelante; a mi esposa Dilma por su amor, paciencia y la bendición más grande que Dios me ha brindado para iniciar una nueva etapa en mi vida a mi pequeña hija Faraday.

CONTENIDO

DEDICATORIA……iv

AGRADECIMIENTOS.....v

CONTENIDO vi

ÍNDICE DE TABLAS.....ix

ÍNDICE DE FIGURAS.....xii

ÍNDICE DE ANEXOS.....xiii

RESUMEN.....xiv

ABSTRACT xvi

I. INTRODUCCIÓN 1

1.1. Planteamiento del problema.....2

1.2. Definición y delimitación del problema.....7

1.2.1. Delimitación Teórica.....9

1.2.2. Delimitación temporal.....10

1.2.3. Delimitación espacial.....10

1.3. Justificación del problema 10

1.3.1. Justificación teórica.....10

1.3.2. Justificación metodológica.....11

1.3.3. Justificación social.....11

1.4. Objetivos 11

1.4.1. Objetivo general 11

1.4.2. Objetivos específicos 12

1.5. Hipótesis 13

1.5.1. Hipótesis general 13

1.5.2. Hipótesis específicas 13

1.6. Determinación de variables 14

1.7. Operacionalización de variables 15

1.8. Antecedentes 16

1.8.1. Internacionales 16

1.8.2. Nacionales 21

1.9. Fundamento teórico 26

1.9.1. Minthostachys mollis “muña” 26

1.9.1.1. Aceite esencial de Minthostachys mollis “muña” 27

1.9.1.2. Enterococcus faecalis 30

1.9.1.3. Nitrofurantoína 31

II. MATERIALES Y MÉTODOS 34

2.1. Lugar de estudio 34

2.2. Tipo de estudio 34

2.3. Unidades de estudio 34

2.4. Población y muestra 34

2.4.1. Población 34

2.4.2. Muestra 35

2.5. Materiales y equipos 35

2.6. Metodología 37

2.6.1. Método 37

2.6.2. Procedimiento 38

2.7. Procesamiento y análisis de los resultados 46

III. RESULTADOS 48

3.1. Verificación de hipótesis general 58

3.1.1. Verificación de la primera hipótesis específica 69

*3.*1.2. Verificación de la segunda hipótesis específica 75

IV. DISCUSIÓN 81

CONCLUSIONES 88

RECOMENDACIONES 90

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 92

ANEXOS 102

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” y la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, por el método de difusión del disco (Kirby Bauer). 49

Tabla 2. Prueba de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. 52

Tabla 3. Determinación del grado de sensibilidad a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, según Duraffourd. 53

Tabla 4. Preparación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. 55

Tabla 5. Actividad antibacteriana *in vitro* de Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, por el método de difusión en disco Kirby-Bauer. 57

Tabla 6. Determinación del grado de sensibilidad de Nitrofurantoína. 58

Tabla 7.	Prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov (n>50) y Shapiro -Wilk (n≤50).	60
Tabla 8.	Prueba de homocedasticidad de varianzas (Levene).	61
Tabla 9.	Diseño completamente al azar (DCA).	63
Tabla 10.	Prueba de significancia de HSD Tukey de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.	65
Tabla 11.	Prueba de significancia de HSD Tukey de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.	68
Tabla 12.	Diseño completamente al azar (DCA) de las concentraciones de aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña”	71
Tabla 13.	Prueba de significancia de HSD Tukey de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.	72
Tabla 14.	Prueba de significancia de HSD Tukey de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys*	74

mollis “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Tabla 15. Prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov (n>50) y Shapiro -Wilk (n≤50). 77

Tabla 16. Prueba de hipótesis para diferencia de medias poblacionales 80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de Box plot y comparación entre promedios de los halos de inhibición (mm) de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” y de la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. 51

Figura 2. Distribución del promedio de los halos de inhibición en base a las concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” y de la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. 69

Figura 3. Distribución del promedio de los halos de inhibición en base a las concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. 75

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Instrumento utilizado……..103

Anexo 2. Identificación de la especie botánica……104

Anexo 3. Cromatografía de Gases del aceite esencial de *Minthostachys mollis*……..….105

Anexo 4. Cromatografía en capa fina del aceite esencial de *Minthostachys mollis*……...106

Anexo 5. Resultados descriptivos de las concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis*…….107

Anexo 6. Evidencias fotográficas……..110

RESUMEN

La presente investigación tuvo como finalidad comparar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Fue un estudio cuasi experimental prospectivo, el muestreo fue no probabilístico por conveniencia, que constó de seis tratamientos con ocho repeticiones obteniendo un total de 48 unidades de prueba. La obtención del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” fue por destilación por arrastre de vapor y se utilizó el Método Difusión en disco (Kirby Bauer) para determinar el grado de sensibilidad de la actividad antimicrobiana. Los resultados demuestrarón un 0,21 % de rendimiento de aceite esencial con una densidad de 955,5 mg/mL, siendo la pulegone (27,48 %) y menthone (16,48 %) los componentes con mayor proporción. El aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 tuvo un promedio de 19,195 mm de halo de inhibición a una concentración de 28,665 y con la Nitrofurantoína de 300 µg se obtuvo un halo de 28,45 mm; la CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” alcanzó una concentración de 22,56 y el CMB alcanzó a 23,09. Se concluyé que existe diferencia entre la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” comparado con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, siendo su significancia menor a 0,05;

es decir que la Nitrofurantoína presentó una mayor actividad antibacteriana frente al aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña”.

Palabras clave: *Minthostachys mollis, Enterococcus faecalis, nitrofurantoína.*

ABSTRACT

The purpose of this research was to compare the in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Minthostachys mollis* “muña” with Nitrofurantoin against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. It was a prospective quasi-experimental study, the sampling was non-probabilistic for convenience, which consisted of six treatments with eight repetitions obtaining a total of 48 test units. The essential oil of *Minthostachys mollis* “muña” was obtained by steam distillation and the Disc Diffusion Method (Kirby Bauer) was used to determine the degree of sensitivity of the antimicrobial activity. The results showed a 0.21% yield of essential oil with a density of 955.5 mg/mL, with pulegone (27.48%) and menthone (16.48%) being the components with the highest proportion. The essential oil of *Minthostachys mollis* “muña” against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 had an average of 19.195 mm of inhibition zone at a concentration of 28.665 and with Nitrofurantoin of 300 µg a zone of 28.45 mm was obtained; The MIC of the essential oil of *Minthostachys mollis* “muña” reached a concentration of 22.56 and the MBC reached 23.09. It was concluded that there is a difference between the in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Minthostachys mollis* “muña” compared to Nitrofurantoin against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, its significance being less than 0.05; That is to say, Nitrofurantoin presented

greater antibacterial activity against the essential oil of *Minthostachys mollis* “muña”.

Keywords: *Minthostachys mollis, Enterococcus faecalis*, nitrofurantoin.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el uso de las plantas como alternativa de tratamiento se sigue realizando, desde los años remotos y se basan en los conocimientos tradicionales, trasmitidos de generación en generación. Asimismo, se han demostrado científicamente algunas propiedades terapéuticas de diferentes plantas medicinales, mediante la extracción de sus principios activos (Alaba y Jiménez, 2014). Pero aún se desconocen muchos principios activos de las plantas que se utilizan como medicina tradicional (Aigaje-Sierra y Zurita-Solis, 2017).

En el Perú, existe una biodiversidad botánica y tiene un potencial natural en plantas medicinales que son un punto de partida para el desarrollo de nuevos medicamentos y futuras investigaciones innovadoras de nuevos antimicrobianos (Tuyo, 2013).

El inadecuado e indiscriminado uso de los antimicrobianos es la causa de que aumente los patógenos farmacorresistentes. Generando un aumento en el costo del tratamiento, muerte y discapacidad en los pacientes, periodos hospitalarios más largos; todo esto genera un problema de salud pública (Organización Mundial de Salud [OMS], 2021).

1.1. Planteamiento del problema

La OMS (2021) mencionó que en los últimos años se han elevado las tasas de resistencia a los antibióticos, los cuales son utilizados para el tratamiento de infecciones bacterianas consideradas comunes como infecciones urinarias, septicemia, infecciones de transmisión sexual y algunas diarreas; siendo una amenaza para la salud pública ya que se están agotando los antibióticos eficaces.

Las infecciones del Tracto Urinario (ITU) presentan mayor morbilidad en todo el mundo y son más frecuentes, siendo causadas por bacterias generalmente el 80 %. El Hospital Nacional Cayetano Heredia - Lima, realizó un estudio en pacientes no hospitalizados donde se encontró microorganismos causantes de las ITU, un 76 % la *Escherichia coli* y un 5 % *Klebsiella* spp.; sin embargo, en pacientes hospitalizados se encontró un 49 % *Escherichia coli*, un 11,4 % *Enterococcus* spp. y 8,4 % *Klebsiella* spp. (Instituto de Evaluación de Tecnologías en Salud e Investigación, 2019)

Según el doctor Víctc 2 las, médico urólogo del Hospital Nacional Alberto Sabogal de Es Salud, indica que en el Perú un 25 % de las mujeres ha tenido una infección urinaria en su vida, y los

varones alcanzan esos porcentajes pasados los 50 años (Seguro Social de Salud -Es Salud, 2022).

Los enterococos son bacterias Gram positivas que causan infecciones nosocomiales (Richards et al., 2013). *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) es responsable de infecciones en un 90 %; además, existen dos especies el *E. faecalis* y *E. faecium* que provocan infecciones del tracto urinario debido a sus diferentes mecanismos de patogenicidad (Kayaoglu y Ørstavik, 2004; Arias et al., 2010).

La OMS (2021) ha elaborado una lista de patógenos prioritarios, donde se encuentra *Enterococcus faecium* resistente a Vancomicina, en el nivel prioridad elevada, debido al aumento de farmacorresistencia y por ser capaz de causar brotes a nivel hospitalario.

En los últimos años se ha incrementado la resistencia a los antimicrobianos debido al uso inadecuado de los medicamentos (Instituto Nacional de Salud [INS], 2023). Los enterococos también han desarrollado resistencia a diferentes medicamentos antimicrobianos (Benbelaïd et al., 2014). Por lo que estas infecciones

pueden ser difíciles de tratar debido a la resistencia a los medicamentos de muchos *E. faecalis* (Codelia-Anjum et al., 2023).

Por lo tanto, los investigadores consideran un tema primordial la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos, y se ha incrementado el interés por el estudio de las plantas medicinales, sus propiedades biológicas y componentes que presentan acción antimicrobiana (Maroyi, 2013), debido a que existe un uso elevado de la medicina alternativa en la población (Vijayasanthi et al., 2012).

Según la OMS (2023), un 88 % de los países a nivel mundial aplicaron la medicina indígena, la fitoterapia, la acupuntura entre otras, por tal razón, el uso de la medicina tradicional para millones de personas es la primera búsqueda de la atención de salud.

La OMS (2023) realizó la I Cumbre Global en Medicina Tradicional, con la finalidad de integrar la medicina tradicional en los sistemas sanitarios, ya que se ha demostrado que son eficaces; y fortalecer el desarrollo de políticas y herramientas para promover el acceso a evidencias científicas.

Los países de Sudamérica tienen una gran variedad de plantas medicinales y además son muy utilizadas en la medicina alternativa o tradicional. En el Perú, debido a su variada geografía existen diversos ecosistemas que permiten una diversificada flora, entre ellas tenemos *Minthostachys mollis* (*M. mollis*) conocida como "muña", que crece en la sierra central y sur del Perú, la cual es muy utilizada por sus propiedades antiinflamatorias, antibacterianas, antieméticas, antiespasmódicas antitusivo y contra el mal de montaña. Estas propiedades farmacológicas se debe a sus componentes químicos de sus aceites esenciales, como son neomentol, mentol, mentona, eucaliptol, piperitona, pulegona, trans-β-cariofileno, carvacrol, timol, entre otros (Aigaje-Sierra y Zurita-Solis, 2017; Gonzales et al., 2021).

Nos enfrentamos a una problemática de salud pública, porque no contamos con herramientas eficaces para la prevención y el tratamiento de infecciones farmacorresistentes, además no contamos con acceso a antimicrobianos nuevos de calidad asegurada, lo que ocasionará un fallo en el tratamiento y muerte por la infección, que irá aumentando en la población (OMS, 2021). Por ello, es clave el desarrollo de proyectos de innovación de nuevos antibióticos, mediante investigaciones de la actividad antimicrobiana y

determinación de los compuestos de las plantas medicinales para brindar alternativas en el tratamiento.

Por ello, se planteó el siguiente problema: ¿Existe diferencia entre la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” comparado con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?; y sus problemas específicos:

- ¿Cuál es la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?
- ¿Cuáles serán las diferencias de la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” en sus diferentes concentraciones frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?
- ¿Cuál es la actividad antimicrobiana *in vitro* de la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?
- ¿Cuál es la Concentración Mínima Inhibitoria *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

- ¿Cuál es la Concentración Mínima Bactericida *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

1.2. Definición y delimitación del problema

Según la Sociedad Internacional de Enfermedades Infecciosas y el Centro para el Control de Enfermedades, mencionan que las ITU se encuentra en la quinta infección más habitual en pacientes hospitalizados, asimismo un 12,9 % representan las infecciones nosocomiales. *Enterococos* spp., es responsable de un 30 % de las ITU intrahospitalarias y también es el segundo patógeno asociado en ITU asociada al catéter (Codelia-Anjum et al., 2023). Las ITU son infecciones más comunes a nivel mundial y son causadas por diversos microorganismos; en el año 2019 más de 404,6 millones de personas han sido diagnosticadas con infecciones urinarias, lo que representó más de 200 000 muertes (Zilberberg et al., 2022).

La bacteria que comúnmente causa las ITU es *Escherichia coli* en un el 80 % y el 20 % causadas por *Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis, Enterococcus faecalis y Staphylococcus saprophyticus* (Flores-Mireles et al., 2015).

Enterococcus spp., es una bacteria que forma parte de microbiota intestinal de los humanos sanos. Algunas especies son consideradas patógenas nosocomiales debido a su resistencia a muchos antimicrobianos como a la vancomicina, y están asociados al *E. faecium* (77 %) y *E. faecalis* (9 %) (Yauri-Condor et al., 2021).

Sin embargo, en los últimos años se ha elevado el abuso de antimicrobianos, causando la resistencia. Las infecciones causadas por *Enterococcus* spp., son un desafío por sus características de sobrevivir en ambientes extremos, resistencia antimicrobiana intrínseca y maleabilidad genómica (Codelia-Anjum et al., 2023; Li et al., 2023).

En la medicina tradicional del Perú es muy utilizada la muña debido a las propiedades medicinales de los aceites esenciales, donde sus compuestos pueden variar debido a diversos factores como genética, interacciones con otros organismos y otros fatores abióticos (Linares-Otoya, 2020).

Por lo tanto, es importante identificar alternativas de tratamiento para este tipo de bacterias que generan resistencia,

determinando la actividad antimicrobiana de las plantas medicinales y plantear una alternativa de tratamiento en la medicina alternativa.

1.2.1. Delimitación Teórica

En la presente investigación se considera como marco teórico las variables actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña”, actividad antimicrobiana de la Nitrofurantoína y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Sustentado en los métodos que se utilizaran como el Método de Kirby Bauer para determinar el grado de sensibilidad en función al tamaño de los halos de inhibición y el Método de destilación por arrastre de vapor, para extraer el aceite esencial de *Minthostachys mollis*.

1.2.2. Delimitación temporal

La investigación se ejecutó en los meses de diciembre del 2023 a marzo del año 2024.

1.2.3. Delimitación espacial

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna.

1.3. Justificación del problema

1.3.1. Justificación teórica

La investigación se basó en el desarrollo de sus variables la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 comparado con la Nitrofurantoína, ampliando el conocimiento de los recursos naturales y uso en la medicina alternativa por sus propiedades antimicrobianas que presenta, considerándose una alternativa de tratamiento en infecciones bacterianas.

1.3.2. Justificación metodológica

La investigación se justifica porque se utilizó la metodología Kirby Bauer, para la obtención de los datos precisos y confiables, que nos permitió determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” mediante la medición de los halos de inhibición, y así se demuestra su validez y confiabilidad.

1.3.3. Justificación social

La presente investigación nos permitió conocer la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, siendo efectiva, y se puede considerar como una alternativa de tratamiento en la medicina alternativa.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Comparar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Comparar la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” en sus diferentes concentraciones frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* de la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Identificar la Concentración Mínima Inhibitoria *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Identificar la Concentración Mínima Bactericida *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis “*muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis general

Existe diferencia entre la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” comparado con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.5.2. Hipótesis específicas

- Existe actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Existe diferencia de la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” en sus diferentes concentraciones frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- Presenta actividad antibacteriana *in vitro* la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
- La Concentración Mínima Inhibitoria *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 presenta un mayor grado de sensibilidad.

- La Concentración Mínima Bactericida *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 presenta un mayor grado de sensibilidad.

1.6. Determinación de variables

a) Variables 1

   Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña”

b) Variable 2

   Actividad antimicrobiana de la nitrofurantoína

c) Variable 3

   Cepa de estudio: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

1.7. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicadores	Tipo de escala
Variable 1: Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*	Inhibición del crecimiento de las bacterias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 por el aceite esencial de *Minthostachys mollis*.	Formación del halo de inhibición *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis*.	Escala de Duraffourd	Nula (-) : ≤ a 8 mm Sensible (+) : 9-14 mm Muy Sensible (++): 15-19mm	Ordinal
			Método de Macrodilución	Concentración Mínima Inhibitoria	Ordinal
			Agar Müeller Hinton	Concentración Mínima Bactericida	Ordinal
Variable 2: Actividad antimicrobiana de la Nitrofurantoína	Inhibición del crecimiento de la bacteria *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, por acción antibacteriana de la Nitrofurantoína.	Formación del halo de inhibición *in vitro* de la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis.*	Escala de Duraffourd	Nula (-) : ≤ a 8 mm Sensible (+) : 9-14 mm Muy Sensible (++): 15-19mm	Ordinal
Variable 3: Cepa de estudio: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212*.*	Cocos Gram positivos de interés médicos causantes de bacteriemias primarias, infecciones urinarias y abdominales.	Activación de la Cepa, una vez pasado las 48 h de la incubación, se forma las colonias.	Cualitativa	Crecimiento Bacteriano de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212*.*	Nominal

1.8. Antecedentes

1.8.1. Internacionales

Herrera (2023) en su trabajo de investigación “Aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas del Ecuador y de especies similares presentes en otros países, revisión de estudios de actividad antimicrobiana”, tuvo como objetivo investigar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de las plantas aromáticas, el estudio de tipo cualitativa, descriptivo, comparativo, la muestra fue de 35 artículos científicos. Los resultados demostraron que 23 plantas tuvieron actividad antibacteriana comprobada, siendo de familia *Myrtaceae (Eucalyptus* spp., *Melaleuca alternifolia, Psidium cattleianum* y *Myrcianthes leucoxyla);* la familia *Lamiaceae (Thymus vulgaris, Minthostachys mollis, Origanum vulgare, Mentha pulegium, Rosmarinus officinalis L., Salvia officinalis L*.). Los aceites presentaron acción bactericida alterando la permeabilidad de la membrana bacteriana, fueron efectivos contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, poca acción sobre hongos. Concluyó que los aceites esenciales presentaron componentes con acción antibacteriano provenientes de la familia *Myrtaceae* de fácil extracción de aceites esenciales; así también la familia *Lamiaceae*, como *Minthostachys mollis* entre otros de fácil acceso presentando efectividad antibacteriana.

Collantes y Mena (2022) desarrollaron su trabajo titulado “Extracción del aceite esencial de tifo (*Minthostachys mollis*), mediante la metodología de arrastre de vapor, en Ecuador”, teniendo como finalidad la extracción del aceite esencial de tifo (*Minthostachys mollis*) por arrastre de vapor. Fue un estudio mixto cuali-cuantitativa, descriptiva, diseño experimental. La extracción de aceite de muña se realizó por arrastre de vapor. Los resultados obtenidos del rendimiento fueron de 0,689 % en un tiempo de 10 min, se identificaron 19 compuestos volátiles que constituyen el 100 % de la composición del aceite esencial entre los principales el carvacril acetato (44,01 %) y el carvacrol (16,51 %) por cromatografía de gases adaptado a un detector de masas. La CMI se encontró entre 0,1 hasta 5 %, la CMI *Pseudomonas aeruginosa* > *Salmonella enterica* = *Escherichia coli* = *Listeria monocytogenes* = *Bacillus cereus* > *Staphylococcus aureus* este presentó la mayor resistencia al aceite esencial con una CMI de 5 %. Concluyeron que la extracción del aceite esencial de *Minthostachys mollis* realizado por arrastre de vapor, obteniendo una relación de masa/disolvente en una proporción de 1:5 en 150 minutos, con un rendimiento de 0,6814 % de aceite esencial, los compuestos volátiles principales del aceite esencial de *Minthostachys mollis* fue el carvacril acetato (44,01 %) y el carvacrol (16,51 %), cuyos componentes encontrados presentaron una alta capacidad antioxidante.

Haro y Navas (2022) realizaron su investigación titulada “Perfil de susceptibilidad por *Enterococcus* spp. como responsable de infecciones nosocomiales en Latinoamérica, en Ecuador”, con el objetivo de investigar el perfil de susceptibilidad de *Enterococcus* spp. como responsable de infecciones nosocomiales a través de revisión bibliográfica, el estudio fue de nivel descriptivo con diseño documental y no experimental, transversal y retrospectivo, la muestra fue de 50 artículos con una vigencia de 10 años de ser publicadas y disponibles en las bases de datos. Sus resultados demostraron que las especies de *Enterococcus* aisladas fueron *E. faecalis* (más común), *E. faecium, E. gallinarum* y *E. casseliflavus, E. faecalis* fueron resistente a gentamicina, quinupristina/dalfopristina, y *E. faecium* a la ampicilina, vancomicina y tigeciclina, y ambas al linezolid. Concluyeron que las ITU (infecciones del tracto urinario) nosocomiales en su mayoría son causados por el género *Enterococcus* debido a su capacidad de resistencia a antimicrobianos.

González V. (2022) realizó su investigación “Infección urinaria producida por *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* asociada a sonda vesical: factores de riesgo y evaluación de los patrones de resistencia”, en España, su objetivo fue evaluar las tasas de resistencia y sensibilidad de las infecciones urinarias causadas por *E. faecium* y *E.*

faecalis en pacientes con sonda vesical, la muestra fue de 126 historias clínicas de pacientes con infección del tracto urinario (ITU) asociada a sonda vesical. Fue un estudio descriptivo, observacional y retrospectivo. Los resultados demostraron que *E. faecium* produjo el 42,86 % de los casos de ITU y el 57,14 % fueron causados por *E. faecalis, para E. faecium*, la resistencia para ampicilina fue de 94,4 %, fosfomicina 53,7 %, linezolid 24,07 %, vancomicina 16,67 % y teicoplanina 11,1 % y sensibles al ciprofloxacino y daptomicina con resistencia (9,27 % y 0 %). *E. faecalis*, presentó resistencia a los antibióticos gentamicina 93,05 %, linezolid 37,5 %, rifampicina 26,38 % y ampicilina 12,5 % de casos, siendo sensibles a la Vancomicina y teicoplanina con resistencia de 4,2 % y 0 % respectivamente. Concluyó que las ITU asociada a sondaje vesical fueron muy frecuentes en internamiento y la resistencia bacteriana fue variable a la zona geográfica donde se realizó el estudio.

Saavedra et al. (2020) en su estudio “Vigilancia nacional de aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis* resistentes al linezolid portadores del gen optrA en Colombia, 2014-2019”, tuvieron como finalidad describir las características epidemiológicas, fenotípicas y genéticas de aislamientos clínicos *Enterococcus faecalis* portadores del gen optrA. El estudio realizado fue retrospectivo, descriptivo y transversal. La muestra

fue constituida por 25 aislamientos de *Enterococcus* spp. resistentes al linezolid, entre octubre de 2014 a febrero de 2019, realizaron la confirmación del género, especie bacterianas y susceptibilidad antimicrobiana en el sistema automatizado Vitek-2 Compact R (bioMerieux), y determinaron CIM al linezolid usando el método epsilometrico E-testR. Los resultados obtenidos demostraron que en el 92 % de *Enterococcus faecalis* existió la presencia de optrA; por otro lado el 56,5 % de pacientes fueron de Santander, el 43,5 % de pacientes fueron de consulta externa y el 34,8 % hospitalizados. Todos los aislamientos optrA positivos fueron resistentes al linezolid, con una CIM entre 8 µg/mL y >256 µg/mL; asimismo, fueron resistentes a eritromicina, minociclina y tetraciclina; el 60,9% resistentes a ciprofloxacina. Todas las muestras fueron sensibles a ampicilina, teicoplanina y vancomicina en IAAS, usando el software WHONET5.6, indican que para 2018 la resistencia al linezolid en *E. faecium* fue de 1,7 % y en *E. faecalis* de 1,7 %. Llegaron a la conclusión que en los aislamientos clínicos de *E. faecalis* recibidos en la vigilancia nacional que la resistencia a linezolid se debe al mecanismo del gen optrA.

1.8.2. Nacionales

Gonzales G. (2022) realizó su investigación “Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en diferentes concentraciones sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, estudio *in vitro*”, tuvo la finalidad de determinar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 25 %, 50 %, 75 % y 100 % sobre el *Enterococcus faecalis in vitro*. El estudio fue de fue tipo experimental *in vitro*, prospectivo, transversal y comparativo; la muestra fue de 68 unidades de prueba *in vitro*. Los resultados demostraron que la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en 24 horas un promedio de 8,2 mm al 25 %; 10,0 mm al 50 %; 10,9 mm al 75 % y 11,8 mm al 100 % sobre cepas de *Enterococcus faecalis* y la eficacia antimicrobiana en 48 horas de 8,3 mm al 25 %; 10,3 mm al 50 %, 11,4 mm al 75 % y 11,6 mm al 100 %, para la clohexidina 0,12 % un promedio de 13,47 mm para todas las concentraciones. Realizó la prueba Anova y registró una significancia ($p<0,05$) en la concentración al 75 % ($p=0,022$) de 24 horas en el aceite esencial de *Minthostachys mollis*, y para las 48 horas la concentración al 75 % ($p=0,015$) que significa que existe diferencias en la efectividad de esta concentración experimental para inhibir en las 15 muestras. Concluyó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis*

presentó mayor eficacia antimicrobiana deseable al 100 %, al 50 % y el 75 % y al 25 % una menor eficacia antimicrobiana.

Hinostroza y Villaizan (2022) realizaron su investigación titulada "Efecto inhibitorio del aceite esencial de la muña *Minthostachys mollis* y té verde *Camellia sinensis* frente a *Staphylococcus aureus"*; con la finalidad de determinar el efecto de inhibición del aceite esencial *de Minthostachys mollis* y *Camellia sinensis* sobre el *Staphylococcus aureus.* El tipo de estudio fue aplicada, longitudinal, nivel explicativo, diseño cuasi experimental, con una muestra de 155 discos de sensibilidad embebidas con muña, té verde, muña más té verde, positivo y negativo. Los resultados demostraron que el 46,41 % fue nula, el 26,80 % fue sensible, el 19,61 % medio, el 7,19 % fue sumamente sensible al efecto del *Minthostachys mollis*; y el 23,53 % fue nula, el 15,69 % sensible, el 32,03 % medio, el 28,76 % sumamente sensible en cuanto al *Minthostachys mollis* más *Camellia sinensis*. Concluyeron que existió efecto inhibitorio en 24, 48 y 72 horas del *Minthostachys mollis* y *Camellia sinensis* sobre *Staphylococcus aureus*, con el p valor de 0,023.

Gonzales et al. (2021) realizaron el estudio de la "Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* Griseb. "muña" y *Piper carpunya* Ruíz & Pav. "pinku"", con la finalidad de determinar

la actividad antibacteriana con la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y *Piper carpunya*. Utilizaron la muña de Cajamarca y el pinku de Amazonas, para realizar la destilación por arrastre de vapor y obtener los aceites esenciales con una densidad de *M. mollis* 0,886 y *P. carpunya* 1,023; por medio de cromatografía de gases se determinaron 22 compuestos en muña entre la pulegona (40,94 %), mentona (32,72 %) y limoneno (1,92 %) y 24 en pinku encontraron metileugenol 40,49, safrol 31,24 % e isohomogenol 7,5 %. Para el análisis de inhibición se realizó con concentraciones de 0,14 -70,88 ug/mL para *M. mollis* y 0,16 - 81,85 para *P. carpunya*; la CMI frente a *E. coli, P. aeruginosa, S. aureus* y *E. faecalis* con el aceite esencial de *P. carpunya* presentando una menor CMI frente a *E. coli* y *S. aureus* comparado con *M. mollis*, y sin actividad antibacteriana para *P. aeruginosa* y *E. faecalis* para ambas especies. Concluyeron que los aceites esenciales de *M. mollis* y *P. carpunya* en concentraciones bajas tuvieron actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus.*

Paucar et al. (2021) desarrollaron su investigación titulada “Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral”, tuvo como finalidad determinar la actividad del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en diferentes concentraciones, frente a *Porphyromonas gingivalis,*

Staphylococcus aureus y *Candida albicans*, a las 24, 48 y 72 horas y comparado con doxiciclina y fluconazol. La investigación fue experimental *in vitro*, longitudinal y analítica, la muestra estuvo constituida por 15 réplicas (n = 15) por subgrupos (24 h, 48 h y 72 h). Aplicaron el método de arrastre de vapor para la extracción del aceite esencial con 80 kg de *Minthostachys mollis*, obteniéndose 22 mL de aceite esencial, luego fue diluido con dimetilsulfóxido en concentraciones de 100 %, 75 %, 50 % y 25 %. Obtuvieron resultados de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas identificando 36 compuestos químicos pulegona 30,17 % y mentona 16,55 %, con el método de Kirby–Bauer se identificaron los halos de inhibición del aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25 %, 50%, 75 % y 100 % frente a la *Porphyromonas gingivalis* (10,2 mm), *Staphylococcus aureus* (10,4 mm) y *Candida albicans* (9,8 mm) su actividad antimicrobiana disminuyó con el tiempo 24, 48 y 72 horas. Llegaron a la conclusión que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % presentó una efectividad inhibitoria mayor frente al *Staphylococcus aureus, Porphyromonas gingivalis* y *Candida albicans;* a las 24 horas o más tiempo disminuyó su efecto y comparado con la doxiciclina y el fluconazol su efecto es menor.

Sanga (2021) realizó su estudio titulado “Concentración Mínima Inhibitoria *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre

el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Universidad Católica de Santa María, Arequipa- 2021", con la finalidad de determinar la actividad bactericida del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis*. El estudio fue cuantitativo de tipo observacional, prospectivo, longitudinal, analítico, laboratorial, diseño experimental de nivel explicativo, la muestra fue no probabilístico con 67 réplicas en *Enterococcus faecalis.* Para la obtención del aceite esencial de muña de Puno, se utilizó el método por arrastre de vapor de agua, para el tratamiento de la cepa de *Enterococcus faecalis* se realizó la reactivación de la cepa en caldo tioglicolato, obtención de células madre estandarizado de la bacteria al 0,5 escala de Mac Farland, preparación del inóculo y método de diluciones. Los resultados obtenidos registraron la CMI a una concentración de 50 % de aceite esencial de muña se observó una mínima cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) concentración mínima capaz de inhibir el crecimiento bacteriano y CMB a una concentración de 60 % de aceite esencial de muña se observa una nula cantidad de UFC concentración mínima capaz de eliminar el crecimiento bacteriano. Siendo la conclusión que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* presentó actividad bactericida sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis.*

1.9. Fundamento teórico

1.9.1. Minthostachys mollis "muña"

M. mollis es una planta nativa que habita en los diferentes pisos ecológicos de nuestra sierra peruana, a una altitud de 2500 y 3500 msnm. (Alaba y Jiménez, 2014). *M. molli*s también conocida como muña o chancua; es una planta aromática, con tallos cuadrados, sus hojas ovaladas y sus flores son blancas, purpuras o violetas (Linares-Otoya, 2020).

La muña presenta diferentes componentes entre ellos el aceite esencial, glicósidos, mucílagos, saponinas, taninos, alcaloides y esteroles. También presenta carbohidratos, fierro, trazas de vitamina B1, calcio, fósforo, esencias y mentol (Alaba y Jiménez, 2014).

M. mollis en el Perú es muy utilizada en la etnofarmacología como infusiones, decocciones, frotaciones, aromaterapia, emplastos y macerados (Linares-Otoya, 2020).

También es muy usado el aceite esencial de muña para uso tópico con fines antiinflamatorios, analgésicos e insecticida (Linares-Otoya, 2020; Alaba y Jiménez, 2014). La aplicación sobre la piel en caso de infecciones por bacterias, hongos (Linares-Otoya, 2020).

Ubicación Taxonómica

Minthostachys mollis "muña" presenta la siguiente clasificación taxonómica, según el sistema de clasificación de Cronquist (1988) realizado por el Herbario Takana de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann:

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Minthostachys*

Especie: *Minthostachys mollis (Benth) Griseb*

Nombre vulgar: "muña"

1.9.1.1. Aceite esencial de Minthostachys mollis "muña"

Los aceites esenciales son fracciones líquidas volátiles, que se obtienen mediante destilación por arrastre con vapor de agua, sus componentes son responsables del aroma de las plantas y poseen propiedades importantes en la industria cosmética (perfumes y

aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes) (Martínez, 2003).

Sus compuestos pueden ser más de 100, los cuales son compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos (Martínez 2003; Collantes y Mena, 2022).

El aceite esencial de *M. mollis* está compuesto principalmente por monoterpenos como la Pulegona, Mentano e Isomentano, (Benites *et al.,* 2018; Senatore, 1998). Uno de los componentes más abundantes en el aceite de muña es la pulegona, quien brinda la propiedad antiinflamatoria, analgésico, antibacteriano, antifúngico e insecticida (Linares-Otoya, 2020).

Factores que hacen variar la composición química de la "muña" peruana. La Pulegona, uno de los compuestos principales, debe tener concentraciones suficientes; pero existen factores ambientales o interacciones, donde la cantidad se podría reducirse, por lo que no tendrá el efecto esperado (Linares-Otoya, 2020).

Los compuestos del aceite esencial de la muña pueden variar por diferencias genética, interacción con otros organismos y factores abióticos

produciendo cambios en el metabolismo de la planta y por consiguiente la variación de la composición de sus aceites (Linares-Otoya, 2020). Además, variá debido al estrés, la altura o la estación del año. Existen otros factores como son: la técnica de extracción, procesamiento o almacenamiento del material vegetal y las condiciones de crecimiento geobotánico (Collantes y Mena, 2022).

Aplicaciones de los aceites esenciales

- ✓ **Actividad farmacológica:** no tienen una forma farmacéutica definida ni dosis precisa, pero debido a su uso son considerados alcaloide, antibiótico o enzima. Las propiedades que presentan son bactericida o antimicótica; algunas esencias pueden ser peligrosas y hay que manipularlas con criterio según forma, dosis y circunstancias apropiadas (Martínez, 2003). La actividad antimicrobiana se debe a la interacción de sus componentes con diferentes partes en la célula, la variación de concentración, que genera el efecto biológico antimicrobiano (Collantes y Mena, 2022).

- ✓ **Acción antiséptica y bactericida:** Esta acción depende de los compuestos activos, siendo los más activos los aceites esenciales ricos en fenoles como timol, carvacrol, eugenol; y las esencias con

alcoholes y cetonas como mentol, mentona, timol) y otros. Por estas propiedades son usadas en problemas de las vías respiratorias, infecciones urinarias y antiséptico bucal o pasta dental (Martínez, 2003).

- ✓ **Acción sobre el aparato digestivo:** tienen propiedades antiespasmódicas y carminativo debido a los terpenos presentes en las plantas aromáticas, y son usadas en licores o infusiones porque ayudan a la digestión (Martínez, 2003).

1.9.1.2. Enterococcus faecalis

Enterococcus spp. son habitantes usuales de la microbiota intestinal de humanos y animales sanos. Son bacterias patógenas que causan diversos cuadros clínicos como bacteriemia, endocarditis infecciosa, infecciones del tracto urinario y, en casos raros, infecciones del sistema nervioso central (Yauri-Condor et al., 2021). En huésped inmunodeprimido puede causar infecciones de vías urinarias, infecciones en heridas y septicemia. Las infecciones urinarias menos severas pueden ser tratadas con ampicilina o nitrofurantoína (Tenover et al., 2005).

Enterococcus spp. se consideran patógenos nosocomiales debido a su capacidad de adquirir determinantes de virulencia y resistencia intrínseca a los antimicrobianos (Yauri-Condor et al., 2021). Han

desarrollado un alto grado de resistencia a ampicilina, vancomicina (aminoglucósidos) (Tenover et al., 2005).

El género *Enterococcus*., presenta 18 especies, de las cuales la especie *E. faecalis* es la causante del 85 al 95 % de las infecciones clínicas, mientras que el *E. faecium* ocasiona solo el 5 al 10 % (Haro y Navas, 2022).

Características

Enterococcus spp., son microorganismos cocos Gram positivo, anaerobios facultativos, no móviles de 0,5 a 0,8 µm, no esporulados. Reaccionan a catalasa negativo o débilmente positiva, fermentan la glucosa y carbohidratos, forman biopelículas. Son más resistentes a los cambios ambientales adversos, se pueden desarrollar a pH 9,6 y soportar temperaturas de 60 °C (Borda, 2018).

1.9.1.3. Nitrofurantoína

La nitrofurantoína es un antibiótico derivado del nitrofurano, actúa bloqueando la síntesis proteica en los ribosomas bacterianos (Ministerio de salud de Argentina, 2017).

Su acción bactericida aún no se encuentra establecido el mecanismo, se ha evidenciado que inhibe muchos sistemas enzimáticos

bacterianos en bacterias Gram positivas como Gram negativas (Agencia española de medicamentos y productos sanitarios [AEMPS], 2023).

- **Resistencia:** no están establecidos los mecanismos moleculares de resistencia, estudios de resistencia *in vitro* demostraron que presentan mutaciones y por consiguiente una disminución de la actividad enzimática reductora bacteriana. La nitrofurantoína mantiene su actividad bactericida en bacterias que poseen resistencia a otros antibióticos como cepas de enterobacterias que producen beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y resistentes a ampicilina, serinacarbapenemasas (como KPC), metalobetalactamasas clase B, o cefalosporinasas clase C (AmpC) (AEMPS, 2023).

- **Espectro de actividad antibacteriana:** La prevalencia de resistencia a la nitrofurantoína es mayor a 10 %. **Especies frecuentemente sensibles:** Aerobios Gram positivos (*Enterococcus faecalis, Staphylococcus saprophyticus, Streptococcus agalactiae*); aerobios Gram negativos (*Escherichia coli*). **Especies en las que la resistencia puede ser un problema**: Aerobios Gram negativos (*Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp.). **Especies intrínsecamente resistentes**:

Aerobios Gram negativos (*Proteus* spp., *Morganella morganii, Providencia stuartii, Serratia marcescens* y *Pseudomonas aeruginosa*) (AEMPS, 2023).

- **Contraindicaciones:** embarazo; lactancia; edad (menores de un mes); sensibilización previa; neuropatía periférica (nitrofurantoína); hepatitis aguda; neumonitis; enuria, coliburia, insuficiencia renal (nitrofurantoína); deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (nitrofurantoína) o de piruvato deshidrogenasa; hipersensibilidad conocida (Organización Panamericana de la Salud, 2019).

- **Efectos adversos:** náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal; anorexia, astenia, reacción cutánea alérgica, reacción pulmonar de hipersensibilidad aguda, subaguda y crónica; infiltrado pulmonar; alteración de la función hepática; anemia hemolítica, neuropatía periférica (Organización Panamericana de la Salud [OPS], 2019).

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de estudio

El trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

2.2. Tipo de estudio

El tipo de estudio fue aplicada, cuasi experimental prospectivo.

2.3. Unidades de estudio

- El aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña”
- Nitrofurantoina
- La cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

2.4. Población y muestra

2.4.1. Población

Cultivos de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 realizado *“in vitro”.*

2.4.2. Muestra

Se utilizó un diseño experimental de bloques (concentraciones con el aceite esencial *Minthostachys mollis* “muña”), se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, que constó de 6 tratamientos con 8 repeticiones obteniendo un total de 48 unidades de prueba, realizó un experimento, utilizando un diseño experimental de bloques.

2.5. Materiales y equipos

Material Biológico:

- ✓ Hojas de *Minthostachys mollis* “muña”
- ✓ Cepa microbiana: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Material plástico y vidrio:	**Unidades**
✓ Micropipeta de 5 µL.	01
✓ Micropipeta de 10 µL.	01
✓ Micropipeta de 100 µL.	01
✓ Pipetas de 1 mL.	10
✓ Pipetas de 5 mL.	05
✓ Pipetas de 10 mL.	01
✓ Placas Petri de 10 x100 mm.	40

	Unidades
✓ Matraces de 500 mL.	02
✓ Matraces de 250 mL.	05
✓ Tubos de ensayo de 13 x100 mm.	30
✓ Matraces de 100 mL.	05
✓ Vasos precipitados de 200 mL.	05
✓ Frasco de vidrio color ámbar de 20 mL capacidad	02
✓ Frascos de vidrio de 500 mL de capacidad	06
✓ Probeta de 100 mL.	01
✓ Pipeta Pasteur	01

Equipos y otros:	**Unidades**
✓ Discos de sensibilidad	100
✓ Nefelómetro de Mac Farland	01
✓ Autoclave	01
✓ Estufa	01
✓ Incubadora	01
✓ Balanza analítica digital	01
✓ Equipo de destilación	01
✓ Gradillas	02
✓ Mechero	03
✓ Equipo de destilación	01

	Unidades
✓ Cocinilla eléctrica	01
Medios de cultivos y reactivos diluyentes:	**Cantidad**
✓ Dimetil Sulfóxido (DMSO)	20 mL
✓ Agar Müeller Hinton (MH)	250 g
✓ Agar Nutritivo	150 g
✓ Medio Infusión Cerebro Corazón (BHI)	150 g

2.6. Metodología

2.6.1. Método

Los métodos que se utilizaron para este estudio:

- Método de Kirby Bauer para determinar el grado de sensibilidad en función al tamaño de los halos de inhibición (Técnica Duraffourd y Lapraz, 1983).
- Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial *Minthostachys mollis* (Kowalska-Krochmal y Dudek-Wicher, 2021).
- Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial *Minthostachys mollis* (Sykes y Rankin, 2022)

- Método de destilación por arrastre de vapor, para extraer el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Guenther et al., 1948)
- Metodología de identificación de la especie botánica, se realizará en el Herbario Takana de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, quien emitirá una constancia respectiva.

2.6.2. Procedimiento

2.6.2.1. Obtención y preparación de la muestra (Duraffourd y Lapraz, 1983)

a) Obtención

Las hojas de muña en estudio fueron obtenidas en el Mercado Grau del distrito de Tacna, provincia de Tacna, departamento de Tacna, en el mes de noviembre de 2023, fecha favorecida por la abundancia de muña debido al clima.

Las hojas de muña recolectadas se procedieron a revisar y verificar que no presentasen signos de enfermedades que interfieran en el desarrollo de la investigación; y luego fueron almacenadas en saquillos de papel para su traslado y conservación hasta su posterior identificación y procesamiento.

b) Tratamiento de las hojas de estudio

Como primer paso del procesamiento se realizó el secado natural de las hojas de muña en un lugar seco, sombreado y bien ventilado durante 06 días. Para garantizar el secado de forma óptima se cumplió con los siguientes pasos:

- Se trasladó las hojas de muña al área de secado cubiertas en saquillos papel evitando los efectos de la radiación solar directa.
- Se depositó en una plataforma horizontal no compacta (rejilla metálica) de 3 m de largo y 1 m de ancho.
- Se extendió las hojas de muña de forma uniforme en toda la plataforma.

- Posteriormente se seleccionó las hojas para la obtención del extracto hidroalcohólico, teniendo en cuenta un tamaño uniforme, sin síntomas de enfermedad.

2.6.2.2. Extracción del aceite esencial (Guenther et al., 1948)

La obtención del aceite esencial de las hojas de muña *Minthostachys mollis* se realizó por el método de destilación por arrastre de vapor de agua. El equipo de destilación contiene doble balón, un balón contiene el agua destilada que fue sometido a calor directo; mientras que en el segundo balón se colocó 1000 gramos de hojas de muña *Minthostachys mollis*, donde recibió los vapores de agua, y liberó el vapor mixto (agua - aceite esencial) hacia el condensador. El aceite esencial de *Minthostachys mollis* filtrado fue depositado en un frasco oscuro y cerrado herméticamente; finalmente se almacenó en refrigeración y oscuridad hasta el momento de su utilización.

a. Determinación de densidad

Probeta de 5 mL. vacía = 16,2270 g.

Probeta de 5 mL. con aceite = 17,1825 g.

Masa = 17,1825 g - 16,2270 g

Masa = 0,9555 g

Volumen = 1,0 mL

Fórmula N°1:

$$\mathrm{d} = \frac{\mathrm{m}}{\mathrm{v}}$$

d = densidad

M = masa

V = volumen

$$d = \frac{\mathrm{m}}{\mathrm{v}}$$

$$d = \frac{0{,}9555\ \mathrm{g}}{1\mathrm{mL}}$$

d = 955,5 mg/mL

b. Rendimiento de aceite esencial (RAE)

Se determinó el rendimiento de aceite esencial (RAE) en porcentaje (%) de la extracción del aceite esencial de “muña” que se realizó con el método de arrastre con vapor de agua en el Laboratorio de microbiología general de la ESBM-FACI de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Donde se obtuvo 2,1 mL de aceite esencial después de procesar 1 000 g de muña *Minthostachys mollis*, con un rendimiento de aceite esencial de 0,21 %, aplicando la siguiente fórmula:

Fórmula N° 2:

$$\%\ \mathrm{RAE} = \frac{\mathrm{Vol._{AE}\ (ml)}}{\mathrm{P_{muestra}(g)}} \mathrm{x100}$$

Donde:

% RAE = Porcentaje del aceite esencial (Rendimiento)

Vol. AE = Volumen del aceite esencial obtenido.

$P_{muestra}$ = Peso de la muestra a destilar.

$$\%\ \mathrm{RAE} = \frac{2{,}1\ \mathrm{ml}}{1000\ \mathrm{g}}\ \mathrm{x}\ 100$$

% RAE = 0,21 %

c. Microorganismo en estudio

Para este estudio se utilizó 01 microorganismo patógeno de importancia clínica, proporcionada por compra directa de la empresa Gen Lab Perú producto liofilizado ***Enterococcus faecalis*** **ATCC 29212.**

d. Preparación microbiana del inóculo

La cepa microbiana fue reactivada en tubos en el caldo medio Infusión Cerebro Corazón (BHI) e incubadas a 37 °C durante 24 horas.

2.6.2.3. Método directo de inoculación a partir de colonias aisladas (Instituto Nacional de Salud, 2002).

- ✓ De una placa de cultivo con agar no selectivo e incubada por 18 - 24 h, se seleccionó colonias aisladas, luego se preparó una suspensión directa en solución salina ó caldo.
- ✓ La suspensión fue ajustada a la escala 0,5 de Mac Farland.

a. Determinación del efecto antibacteriano (Técnica Duraffourd y Lapraz, 1983).

Se impregnaron volúmenes de 17,5 µL; 20,0 µL; 22,5 µL; 25,0 µL; 27,0 µL y 30,0 µL del aceite esencial de muña *Minthostachys mollis* sobre los discos de sensibilidad de 6 mm de diámetro, que fueron previamente desproteinizados (autoclave) y esterilizados por vapor seco (Horno).

Los siguientes pasos se realizaron de manera independiente para cada uno de los volúmenes a prueba:

- Se tomó 0,1 mL del cultivo bacteriano de la dilución correspondiente al tubo 0,5 como indica el Nefelómetro de Mac Farland ($1,5x10^8$ cel/mL) y se realizó la siembra por diseminación sobre toda la superficie de las placas de agar Müeller Hinton.
- Luego de 30 minutos, se colocaron los discos embebidos con los volúmenes de aceite esencial de muña *Minthostachys mollis* (17,5 µL; 20,0 µL; 22,5 µL; 25,0 µL; 27,0 µL y 30,0 µL)

respectivamente, los cuales fueron tomados con una pinza estéril y colocados sobre la superficie del agar Müeller Hinton; se dejó secar a temperatura ambiente por 5 minutos y se incubó a 37 °C durante 24 horas. Se realizó la lectura con la medición del halo de inhibición sobre el crecimiento bacteriano alrededor del disco.

b. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria "MIC" (Kowalska-Krochmal y Dudek-Wicher, 2021)**.**

La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) del aceite esencial de *Minthostachis mollis* se realizó por el método de Macrodilución en medio líquido, se realizó en 12 tubos, dentro de estos 10 tubos se colocaron los volúmenes correspondientes a su lugar de aceite esencial diluidas con el DSMO (partes iguales) con caldo BHI y 10 % del volumen total del inoculo bacteriano 0,5 de la escala de Mac Farland ($1,5X10^{8}$ células/ml), y además 01 control positivo y 01 control negativo, cuyo volumen final de 3 ml.

c. Determinación de la Concentración Mínima bactericida (CMB) (Sykes y Rankin, 2022).

Se determinó la Concentración Mínima Bactericida (CMB) después de obtener el MIC del aceite esencial de *Minthostachys molli*s “muña”. Se procedió la siembra en agar Müller Hinton de los 05 últimos tubos donde se presentó la desaparición de la turbidez (se sembró 0,1 mL por diseminación), luego fueron incubados a 37 °C durante 24 horas; se realizó la lectura teniendo en cuenta que la CMB eliminó el 99 % de colonias microbianas o tener la capacidad de producir la muerte microbiana total.

2.7. Procesamiento y análisis de los resultados

El diseño de investigación fue cuasi experimental, porque se realizaron 6 tratamientos (concentraciones) del aceite esencial de muña *Minthostachys molli*s y cada tratamiento tuvo 8 repeticiones, haciendo un total de 48 unidades experimentales.

La metodología estadística que se utilizó fue el análisis de la varianza (ANOVA) que permitió deducir si existen diferencias entre los

comportamientos para cada grupo, el resultado del análisis indicó que si existió diferencias significativas entre las medias marginales. La prueba de significación de Tukey permitió establecer las diferencias medias entre las concentraciones.

Para el procesamiento de datos se realizó la clasificación de la información y tabulación de los datos en el programa de Excel. El análisis de los datos, se utilizó las pruebas estadísticas descriptivas como el análisis de frecuencia (tablas y gráficos) y las medidas de tendencia central (promedio). Prueba de normalidad: Kolmogórov-Smirnov y Shapiro-Wilk.

Para la contrastación de la hipótesis se utilizó la estadística inferencial mediante el ANOVA y prueba de significación de Tukey; con un alfa=0,05 y un nivel de confianza de 95 %, mediante el Software estadístico SPSS versión 27 en español y gratuito.

III. RESULTADOS

En el presente capitulo se plasmaron los resultados obtenidos en la investigación titulada “Comparación de la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” y la nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212”, dando respuesta a nuestros objetivos, los cuales nos ayudaron a plasmar las conclusiones y recomendaciones.

Tabla 1

Actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de Minthostachys mollis “muña” y la Nitrofurantoína frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212, por el método de difusión del disco (Kirby Bauer).

Tratamientos	Aceite esencial		Repeticiones								Promedio
	Concentración	Volumen	Halo de inhibición								
	(mg)	(µL)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
T-1	16,72125	17,5	12,25	11,89	11,92	12,73	12,47	11,87	12,1	12,33	12,195
T-2	19,11	20	13,66	13,19	13,52	13,81	12,94	13,48	13,26	13,39	13,406
T-3	21,49875	22,5	14,64	14,72	14,74	14,29	14,27	14,85	14,38	13,98	14,484
T-4	23,8875	25	16,43	16,55	15,88	15,86	16,45	16,04	16,15	16,14	16,188
T-5	26,27625	27,5	18,71	18,65	18,23	18,87	18,62	18,59	18,11	18,49	18,534

Tratamientos	Aceite esencial		Repeticiones								Promedio
	Concentración	Volumen	Halo de inhibición								
	(mg)	(µL)	I	II	...	IV	V	VI	VII	VIII	
T-6	**28,665**	30	19,34	19,36	19,4	19,5	18,98	19,04	19	18,94	19,195
Control (-)			<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	
Control (+)			28,66	28,89	28,195	28,45	28,29	28,39	28,3	28,425	28,450

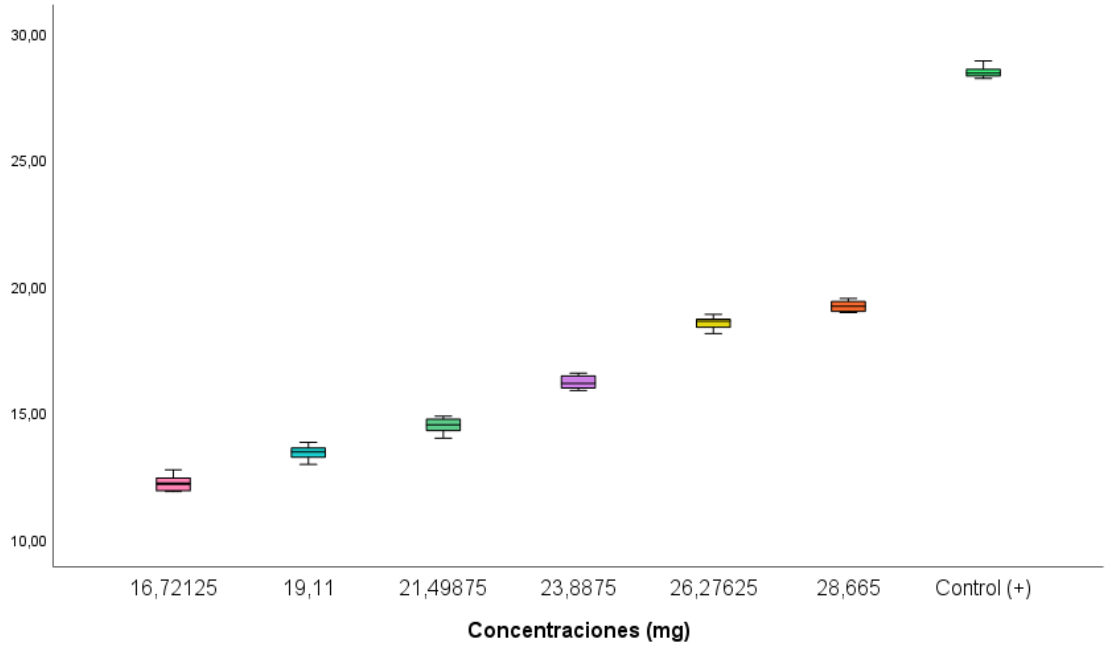
Interpretación

En la Tabla 1, se muestran los promedios de los halos de inhibición (mm) frente a la *Enterococcus faecalis ATCC 29212* a diferentes de concentraciones del *Minthostachys mollis* “muña” con la Nitrofurantoína.

Los resultados obtenidos indicaron un ligero mayor promedio en el halo de inhibición del control (+) con un promedio de 28,450 mm, por otro lado, la menor concentración fue de 16,72125 mg con un promedio de halo de inhibición de 12,195 mm. Demostrándose que sus halos estuvieron por arriba de la sensibilidad siendo directamente proporcional entre sus concentración y halo, es decir, a mayor concentración mayor fue el crecimiento del halo de inhibición (mm).

Figura 1

Diagrama de Box plot y comparación entre promedios de los halos de inhibición (mm) de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Minthostachys mollis "muña" y de la Nitrofurantoína frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212.



En la Figura 1, se observan los promedios de las concentraciones de los halos de inhibición al ser los mismos analizados mediante el ANOVA/HSD TUKEY a nivel de significancia de $p<0,05$. Se demostró que existe una diferencia estadística significativa entre los 6 tratamientos y el control (+).

Tabla 2

Prueba de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Minthostachys mollis "muña" frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212.

Tratamientos	Aceite esencial		Repeticiones								Promedio
	Concentración	Volumen	Halo de inhibición								
	(mg)	(µL)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
T-1	**16,72125**	17,5	12,25	11,89	11,92	12,73	12,47	11,87	12,1	12,33	12,195
T-2	**19,11**	20	13,66	13,19	13,52	13,81	12,94	13,48	13,26	13,39	13,406
T-3	**21,49875**	22,5	14,64	14,72	14,74	14,29	14,27	14,85	14,38	13,98	14,484
T-4	**23,8875**	25	16,43	16,55	15,88	15,86	16,45	16,04	16,15	16,14	16,188
T-5	**26,27625**	27,5	18,71	18,65	18,23	18,87	18,62	18,59	18,11	18,49	18,534
T-6	**28,665**	30	19,34	19,36	19,4	19,5	18,98	19,04	19	18,94	19,195

Interpretación

En la Tabla 2, se muestran los promedios de las mediciones de los Halos de inhibición (mm) presentados en los 6 tratamientos y con 8 repeticiones por cada tratamiento frente a la *Enterococcus faecalis ATCC 29212* a diferentes de concentraciones del aceite esencial del *Minthostachys mollis* "muña".

Donde se observó que el mayor promedio de halo de inhibición fue de 19,195 mm que se dio a una concentración de 28,665 mg, y el menor halo de inhibición fue de 12,195 mm con una concentración de 16,72125. Demostrándose que cuando aumenta la concentración de aceite esencial

de *Minthostachys mollis* “muña” aumentaron los halos de inhibición proporcionalmente.

Tabla 3

Determinación del grado de sensibilidad a diferentes concentraciones del aceite esencial de Minthostachys mollis, según Duraffourd.

N ° de Tratamientos	Aceite esencial		Grado de sensibilidad			
	Volumen (µL)	Concentración (mg)	Nula (-): ≤ a 8 mm (Nula= -)	Límite: 9-14 mm (sensible= +)	Media: 14 – 19 mm (Muy sensible=++)	Sumamente sensible: 20 mm a más (Sumamente sensible=+++)
T1	17,5	**16,72125**		12,195		
T2	20	**19,11**		13,40625		
T3	22,5	**21,49875**			14,48375	
T4	25	**23,8875**			16,1875	
T5	27,5	**26,27625**			18,53375	
T6	30	**28,665**			19,195	

Interpretación

En la tabla 3, se muestra el grado de sensibilidad de acuerdo con los promedios de inhibición según la escala de Duraffourd.

Se observa que existen dos concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* presentando grados de sensibilidad sensible de 16,72125 y 19,11, con halos de inhibición de 12,195 mm y 13,40625 mm respectivamente. Seguido de la sensibilidad media con las concentraciones 21,19875; 23,8875; 26,27625; 28,665 con halos de inhibición de 14,48375 mm; 16,1875 mm; 18,53375 mm y 19,195 mm, y por último se observó que no se presentó un grado de sensibilidad nula y de sensibilidad sumamente sensible.

Tabla 4

Preparación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y de la Concentración Mínima Bactericida (CMB) *del aceite esencial de Minthostachys mollis.*

TUBO	VOL. INICIAL µL	CONC. INICIAL mg/µL	VOL. FINAL (X3) µL	CONC. FINAL (X3) mg/µL	DMSO	MEDIO BHI (µL)	10 % BACTERIAS	VOL TOTAL DE LA SOLUCIÓN µL
T1	22,5	21,4987	67,50	64,496100	67,50	2565,00	300	3000
T2	22,78000	21,764167	68,34	65,292501	68,34	2563,32	300	3000
T3	23,06	22,029584	69,18	66,088752	69,18	2561,64	300	3000
T4	23,33	22,295001	69,99	66,885003	29,99	2600,02	300	3000
T5	**23,61**	**22,560418**	**70,83**	**67,681254**	**70,83**	**2558,34**	**300**	**3000 - CMI**
T6	23,89	22,825835	71,67	68,477505	71,67	2556,66	300	3000
T7	**24,17**	**23,091252**	**72,51**	**69,273756**	**72,51**	**2554,98**	**300**	**3000 -CMB**
T8	24,44	23,356669	73,32	70,070007	73,32	2553,36	300	3000
T9	24,72	23,622086	74,16	70,866258	74,16	2551,68	300	3000
T10	25	23,887503	75,00	71,662509	75,00	2550,00	300	3000
T+	-	-	0	0	75,00	2625,00	300	3000
T-	-	-	0	0	75,00	2925.00		3000

Interpretación

En la Tabla 4, se observó que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* se encontró en el tubo 5 a una concentración de 22,560418 mg., ya que a partir de esta concentración se inhibió el crecimiento microbiano con un claro proceso de ausencia de turbidez.

Se determinó que la Concentración Mínima Bactericida (CMB) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* se encontró en el tubo 7 a una concentración de 23,091252 mg; basándonos en los resultados obtenidos en la tabla 4; se tomaron los 3 primeros tubos con ausencia macroscópica de turbidez, encontrándose que en el tubo 7 la concentración capaz de matar el 99,9 % del agente microbiano, por lo tanto, aquí se encontró el CMB.

Tabla 5

Actividad antibacteriana in vitro de Nitrofurantoína frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212, por el método de difusión en disco Kirby-Bauer.

N ° T	Nitrofurantoína Concentración (µg)	Repeticiones Halo de inhibición(mm) I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	Promedio
T1	300	28,66	28,89	28,195	28,45	28,29	28,39	28,3	28,425	28,45

Interpretación

En la Tabla 5, se muestran los resultados del método de difusión en disco (Kirby Bauer), mediante las mediciones de los halos inhibición presentados en 8 repeticiones de Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis ATCC 29212*.

Donde se observó que el mayor promedio de halo de inhibición fue de 28,89 mm y el menor halo de inhibición fue de 28,195 mm con Nitrofurantoína a 300 µg. Asimismo, el promedio de las 8 repeticiones que se realizaron fue de 28,45 mm.

Tabla 6

Determinación del grado de sensibilidad de Nitrofurantoína.

Repeticiones	Nitrofurantoína	Grado de sensibilidad		
	Concentración (mg)	Sensibilidad límite: 9-14 mm	Sensibilidad Media 14 – 19 mm	Sumamente sensible 20 mm a más
		(Sensible= +)	(Muy sensible=+ +)	(Sumamente sensible=+ ++)
R1	300 µg			28,66
R2	300 µg			28,89
R3	300 µg			28,195
R4	300 µg			28,45
R5	300 µg			28,29
R6	300 µg			28,39
R7	300 µg			28,3
R8	300 µg			28,425

Interpretación

En la Tabla 6, se muestra el grado de sensibilidad de acuerdo con los promedios de los de inhibición según la escala de Duraffourd.

Se observa que la Nitrofurantoína presentó una concentración de 300 µg, las ocho repeticiones dieron un grado de sensibilidad muy sensible.

3.1. Verificación de hipótesis general

Antes de la comprobación de la hipótesis, se debieron comprobarse el supuesto de la normalidad de datos y la homocedasticidad de varianzas, para lo cual siguió el siguiente procedimiento:

a) Verificar el supuesto de normalidad

- ✓ **Planteamiento de la hipótesis**

H_0 **:** Los halos de inhibición siguen una distribución normal

H_1 : Los halos de inhibición no siguen una distribución normal

- ✓ **Nivel de significancia**

α= 5% = 0,05

- ✓ **Estadístico de prueba**

Tabla 7

Prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov (n>50) y Shapiro - Wilk (n≤50).

Tratamientos	Kolmogórov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
16,72125	0,189	8	0,200	0,923	8	0,451
19,11	0,106	8	0,200	0,991	8	0,996
21,49875	0,199	8	0,200	0,932	8	0,537
23,8875	0,196	8	0,200	0,914	8	0,381
26,27625	0,214	8	0,200	0,931	8	0,523
28,665	0,254	8	0,138	0,853	8	0,103
Control (+)	0,250	8	0,150	0,902	8	0,299

Nota. Datos procesados en SPSS versión 27,0

✓ **Decisión**

Como p-valor= (0,200; 0,200; 0,200; 0,200; 0,200; 0,138 y 0,150) son mayores al nivel de significancia α=0,05; entonces se acepta H_o.

✓ **Conclusión**

Al 5 % de significancia, se aplicó la prueba de normalidad Kolmogórov-Smirnov (n > 50), y se concluyó que las concentraciones provienen de una distribución normal, luego de efectuar la prueba de normalidad y éstas demostraron que las concentraciones siguieron una distribución de la curva normal, en

consecuencia, el estadístico prueba para comprobar las hipótesis debieron ser estadísticos paramétricos, en este caso fue el diseño completamente aleatorizado al azar (DCA).

b) Verificar el supuesto de homocedasticidad de varianzas

- ✓ **Planteamiento de la hipótesis**

H_0**:** $\sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \sigma_4^2 = \sigma_5^2 = \sigma_6^2 = \sigma_7^2$

H_1: $\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2 \neq \sigma_3^2 \neq \sigma_4^2 \neq \sigma_5^2 \neq \sigma_6^2 \neq \sigma_7^2$

- ✓ **Nivel de significancia**

α= 5 % = 0,05

- ✓ **Estadístico de prueba**

Tabla 8

Prueba de homocedasticidad de varianzas (Levene).

Concentraciones	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	0,454	6	49	0,838
Se basa en la mediana	0,462	6	49	0,833
Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,462	6	42,102	0,832
Se basa en la media recortada	0,470	6	49	0,827

Nota. Datos procesados en SPSS versión 27,0

✓ **Decisión**

Como p-valor= 0,838 es mayor al nivel de significancia α=0,05; entonces se acepta H_o.

✓ **Conclusión**

Al 5% de significancia, se concluyó que la varianza de las concentraciones fue igual, cumpliendo con el supuesto de homocedasticidad, para lo cual en las comparaciones múltiples de post hoc, se asumió que las varianzas son iguales, se aplicaron la prueba de significancia de HSD Tukey.

c) Verificar la hipótesis

✓ **Planteamiento de la hipótesis**

H_0**:** No existe diferencia entre la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” comparado con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

H_1: Existe diferencia entre la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” comparado con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

✓ **Nivel de significancia**

α= 5 % = 0,05

✓ **Estadístico de prueba**

Tabla 9

Diseño completamente al azar (DCA).

ANOVA

Concentraciones (mg)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1436,528	6	239,421	3385,012	< 0,001
Dentro de grupos	3,466	49	0,071		
Total	1439,994				

Nota: Datos procesados en SPSS versión 27,0

$$F_c = 3385,012 \qquad p = < 0,001$$

✓ **Decisión**

Como p-valor=0,001 es menor al nivel de significancia α=0,05; entonces se rechaza H_o.

- ✓ **Conclusión**

Al nivel del 5 % de significancia se concluyó que existe diferencia entre el efecto antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” comparado con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Tabla 10

Prueba de significancia de HSD Tukey de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Minthostachys mollis "muña" con la Nitrofurantoína frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212.

Comparaciones múltiples.

Variable dependiente: HSD Tukey

(I) Concentraciones (mg)	(J) Concentraciones (mg)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95 % Límite inferior	Límite superior
16,72125	19,11	-1,211250*	,132975	,000	-1,62002	-,80248
	21,49875	-2,288750*	,132975	,000	-2,69752	-1,87998
	23,8875	-3,992500*	,132975	,000	-4,40127	-3,58373
	26,27625	-6,338750*	,132975	,000	-6,74752	-5,92998
	28,665	-7,000000*	,132975	,000	-7,40877	-6,59123
	Control (+)	-16,255000*	,132975	,000	-16,66377	-15,84623
19,11	16,72125	1,211250*	,132975	,000	,80248	1,62002
	21,49875	-1,077500*	,132975	,000	-1,48627	-,66873
	23,8875	-2,781250*	,132975	,000	-3,19002	-2,37248
	26,27625	-5,127500*	,132975	,000	-5,53627	-4,71873
	28,665	-5,788750*	,132975	,000	-6,19752	-5,37998
	Control (+)	-15,043750*	,132975	,000	-15,45252	-14,63498
21,49875	16,72125	2,288750*	,132975	,000	1,87998	2,69752
	19,11	1,077500*	,132975	,000	,66873	1,48627
	23,8875	-1,703750*	,132975	,000	-2,11252	-1,29498
	26,27625	-4,050000*	,132975	,000	-4,45877	-3,64123
	28,665	-4,711250*	,132975	,000	-5,12002	-4,30248
	Control (+)	-13,966250*	,132975	,000	-14,37502	-13,55748

(I) Concentraciones (mg)	(J) Concentraciones (mg)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95 %	
					Límite inferior	Límite superior
23,8875	16,72125	3,992500*	,132975	,000	**Límite superior**	4,40127
	19,11	2,781250*	,132975	,000	2,37248	3,19002
	21,49875	1,703750*	,132975	,000	1,29498	2,11252
	26,27625	-2,346250*	,132975	,000	-2,75502	-1,93748
	28,665	-3,007500*	,132975	,000	-3,41627	-2,59873
	Control (+)	-12,262500*	,132975	,000	-12,67127	-11,85373
26,27625	16,72125	6,338750*	,132975	,000	5,92998	6,74752
	19,11	5,127500*	,132975	,000	4,71873	5,53627
	21,49875	4,050000*	,132975	,000	3,64123	4,45877
	23,8875	2,346250*	,132975	,000	1,93748	2,75502
	28,665	-,661250*	,132975	,000	-1,07002	-,25248
	Control (+)	-9,916250*	,132975	,000	-10,32502	-9,50748
28,665	16,72125	7,000000*	,132975	,000	6,59123	7,40877
	19,11	5,788750*	,132975	,000	5,37998	6,19752
	21,49875	4,711250*	,132975	,000	4,30248	5,12002
	23,8875	3,007500*	,132975	,000	2,59873	3,41627
	26,27625	,661250*	,132975	,000	,25248	1,07002
	Control (+)	-9,255000*	,132975	,000	-9,66377	-8,84623
Control (+)	16,72125	16,255000*	,132975	,000	15,84623	16,66377
	19,11	15,043750*	,132975	,000	14,63498	15,45252
	21,49875	13,966250*	,132975	,000	13,55748	14,37502
	23,8875	12,262500*	,132975	,000	11,85373	12,67127
	26,27625	9,916250*	,132975	,000	9,50748	10,32502
	28,665	9,255000*	,132975	,000	8,84623	9,66377

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Nota. Datos procesados en SPSS versión 27,0

Según la Tabla 10 se puede observar las comparaciones múltiples entre cada tratamiento de las concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Las concentraciones 16,72125; 19,11; 21,49875; 23,8875; 26,27625 y 28,665, fueron estadísticamente significativos con la Nitrofurantoína (Control +).

Tabla 11

Prueba de significancia de HSD Tukey de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Minthostachys mollis "muña" con la Nitrofurantoína frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212.

Halos de inhibición (mm)

HSD Tukey[a]

Concentración (mg)	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
16,72125	8	12,19500						
19,11	8		13,40625					
21,49875	8			14,48375				
23,8875	8				16,18750			
26,27625	8					18,53375		
28,665	8						19,19500	
Control (+)	8							28,45000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

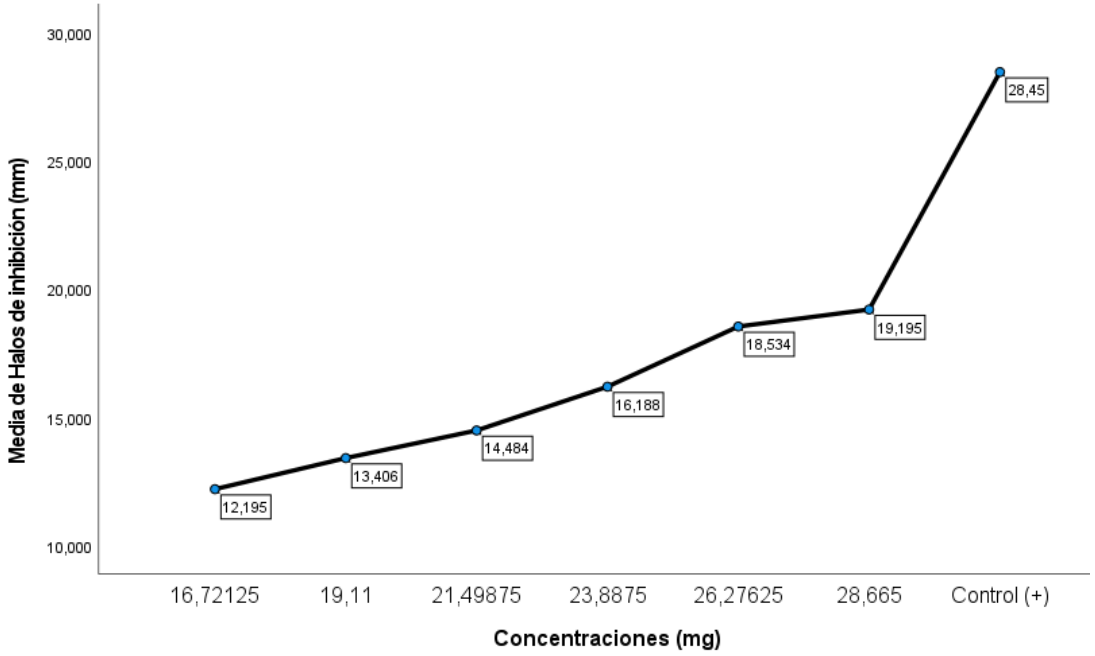
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 8,000.

Nota. Datos procesados en SPSS versión 27,0

Figura 2

Distribución del promedio de los halos de inhibición en base a las concentraciones del aceite esencial de Minthostachys mollis "muña" con la Nitrofurantoína frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212.



3.1.1. Verificación de la primera hipótesis específica

“Existe actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212”.

- ✓ **Planteamiento de la hipótesis**

  H_0 **:** No existe actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

  H_1: Existe actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

- ✓ **Nivel de significancia**

  α= 5% = 0,05

- ✓ **Estadístico de prueba**

Tabla 12

Diseño completamente al azar (DCA) de las concentraciones de aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña”

ANOVA

Concentraciones (mg)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	316,015	5	63,203	853,349	< 0,001
Dentro de grupos	3,111	42	0,074		
Total	319,125	47			

Nota: Datos procesados en SPSS versión 27,0

$$F_c = 853,349 \qquad p = < 0,001$$

✓ **Decisión**

Como p-valor = 0,001 es menor al nivel de significancia α = 0,05; entonces se rechaza H_o.

✓ **Conclusión**

Al nivel del 5 % de significancia se concluyó que existe actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Tabla 13

Prueba de significancia de HSD Tukey de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Minthostachys mollis "muña" frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212.

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: HSD Tukey

(I) Concentraciones (mg)	(J) Concentraciones (mg)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
16,72125	19,11	-1,211250*	,136074	,000	-1,61746	-,80504
	21,49875	-2,288750*	,136074	,000	-2,69496	-1,88254
	23,8875	-3,992500*	,136074	,000	-4,39871	-3,58629
	26,27625	-6,338750*	,136074	,000	-6,74496	-5,93254
	28,665	-7,000000*	,136074	,000	-7,40621	-6,59379
19,11	16,72125	1,211250*	,136074	,000	,80504	1,61746
	21,49875	-1,077500*	,136074	,000	-1,48371	-,67129
	23,8875	-2,781250*	,136074	,000	-3,18746	-2,37504
	26,27625	-5,127500*	,136074	,000	-5,53371	-4,72129
	28,665	-5,788750*	,136074	,000	-6,19496	-5,38254
21,49875	16,72125	2,288750*	,136074	,000	1,88254	2,69496
	19,11	1,077500*	,136074	,000	,67129	1,48371
	23,8875	-1,703750*	,136074	,000	-2,10996	-1,29754
	26,27625	-4,050000*	,136074	,000	-4,45621	-3,64379
	28,665	-4,711250*	,136074	,000	-5,11746	-4,30504
23,8875	16,72125	3,992500*	,136074	,000	3,58629	4,39871
	19,11	2,781250*	,136074	,000	2,37504	3,18746
	21,49875	1,703750*	,136074	,000	1,29754	2,10996
	26,27625	-2,346250*	,136074	,000	-2,75246	-1,94004
	28,665	-3,007500*	,136074	,000	-3,41371	-2,60129

(I) Concentraciones (mg)	(J) Concentraciones (mg)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
26,27625	16,72125	6,338750*	,136074	,000	5,93254	6,74496
	19,11	5,127500*	,136074	,000	4,72129	5,53371
	21,49875	4,050000*	,136074	,000	3,64379	4,45621
	23,8875	2,346250*	,136074	,000	1,94004	2,75246
	28,665	-,661250*	,136074	,000	-1,06746	-,25504
28,665	16,72125	7,000000*	,136074	,000	6,59379	7,40621
	19,11	5,788750*	,136074	,000	5,38254	6,19496
	21,49875	4,711250*	,136074	,000	4,30504	5,11746
	23,8875	3,007500*	,136074	,000	2,60129	3,41371
	26,27625	,661250*	,136074	,000	,25504	1,06746

*La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Nota: Datos procesados en SPSS versión 27,0

Según la tabla 13, se puede observar las comparaciones múltiples entre cada tratamiento de las concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” en relación con el *Enterococcus faecalis ATCC 29212*.

Se observa que todas las concentraciones fueron estadísticamente significativas del 16,72125 al 28,665 ($p<0,05$).

Tabla 14

Prueba de significancia de HSD Tukey de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Minthostachys mollis "muña" frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212.

Halos de inhibición (mm)

HSD Tukey[a]

Concentraciones		Subconjunto para alfa = 0,05					
(mg)	N	1	2	3	4	5	6
16,72125	8	12,19500					
19,11	8		13,40625				
21,49875	8			14,48375			
23,8875	8				16,18750		
26,27625	8					18,53375	
28,665	8						19,19500
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

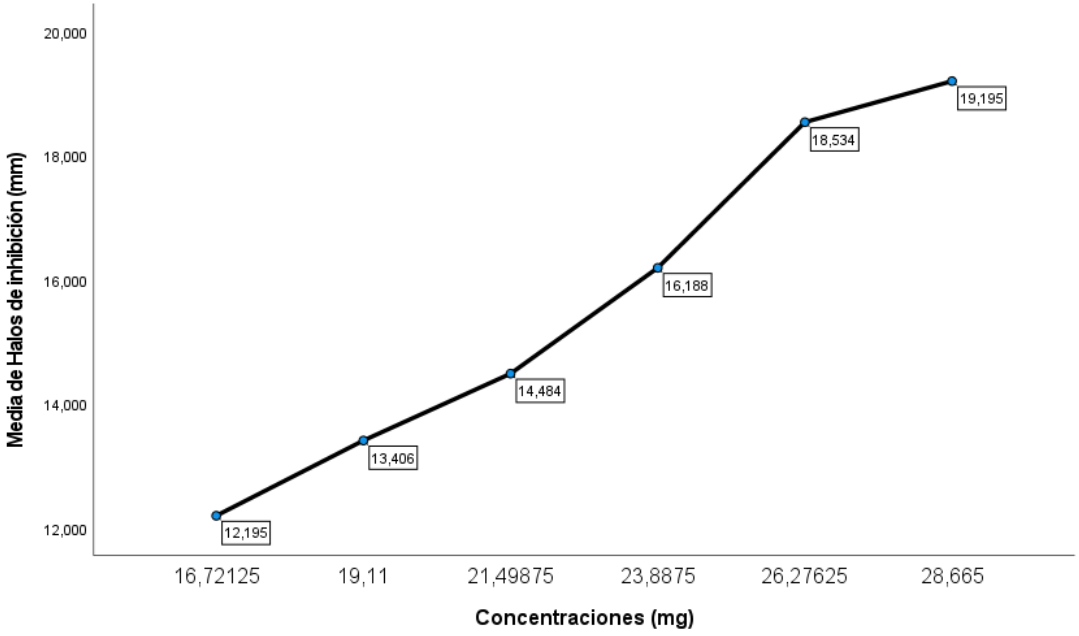
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 8,000.

Nota. Datos procesados en SPSS versión 27,0

Figura 3

Distribución del promedio de los halos de inhibición en base a las concentraciones del aceite esencial de Minthostachys mollis "muña" frente a Enterococcus faecalis ATCC 29212.



3.1.2. Verificación de la segunda hipótesis específica

En la prueba de hipótesis para diferencia de medias poblacionales, lo primero que debe hacerse es comprobar el supuesto de normalidad y la homogeneidad de varianzas, para lo cual seguimos el siguiente procedimiento.

a) Verificar el supuesto de normalidad

- ✓ **Planteamiento de la hipótesis**

  H_0 **:** Los halos de inhibición siguen una distribución normal

  H_1 : Los halos de inhibición no siguen una distribución normal

- ✓ **Nivel de significancia**

  α= 5 % = 0,05

- ✓ **Estadístico de prueba**

Tabla 15

Prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov (n>50) y Shapiro - Wilk (n≤50).

Tratamientos	Kolmogórov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Concentración 16,72125-26,27625	0,161	8	0,200	0,943	8	0,645
Concentración 28,665	0,254	8	0,138	0,853	8	0,103

Nota: Datos procesados en SPSS versión 27,0

✓ **Decisión**

Como p-valor= (0,645 y 0,103) son mayores al nivel de significancia α=0,05; entonces se acepta H_o.

✓ **Conclusión**

Al 5 % de significancia, se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (n ≤ 50), y se concluyó que los halos de inhibición provienen de una distribución normal, luego de efectuar la prueba de normalidad y éstas demostraron que los halos de inhibición siguieron una distribución de la curva normal, en consecuencia, el estadístico prueba para comprobar las hipótesis deben ser estadísticos

paramétricos, en este caso se aplicó la prueba de hipótesis para diferencias medias poblacionales.

b) Verificar el supuesto de homogeneidad de varianzas

✓ **Planteamiento de la hipótesis**

$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$

$H_1: \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$

✓ **Nivel de significancia**

α= 5 % = 0,05

✓ **Estadístico de prueba**

$F_c = 13,331$ p = 0,003

✓ **Decisión**

Como p-valor= 0,003 es menor al nivel de significancia α=0,05; entonces se rechaza H_0.

✓ **Conclusión**

Al 5 % de significancia, se concluyó que la varianza de los halos de inhibición no es igual, no cumpliendo con el supuesto de homogeneidad.

c) Verificar la hipótesis

✓ **Planteamiento de la hipótesis**

H_0 **:** No existe diferencia de la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" en sus diferentes concentraciones frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

H_1 : Existe diferencia de la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" en sus diferentes concentraciones frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

✓ **Nivel de significancia**

α= 5 % = 0,05

✓ **Estadístico de prueba**

Tabla 16

Prueba de hipótesis para diferencia de medias poblacionales.

		Prueba de muestras independientes								
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba T para la igualdad de medias						
									95 % de intervalo de confianza de la diferencia	
		F	**Sig.**	**t**	**gl**	**Sig. (bilateral)**	**Diferencia de medias**	**Diferencia de error estándar**	**Inferior**	**Superior**
Halo de inhibición de las concentraciones	**Se asumen varianzas iguales**	13,331	0,003	-46,818	14	< 0,001	-4,23375	0,09043	-4,43	-4,04
	No se asumen varianzas iguales			-46,818	10,682	< 0,001	-4,23375	0,09043	-4,43	-4,03

Nota: Datos procesados en SPSS versión 27,0

✓ **Decisión**

Como p-valor= 0,001 es menor al nivel de significancia α=0,05; entonces se rechaza H_o.

✓ **Conclusión**

Al nivel del 5 % de significancia se concluye existe diferencia entre el efecto la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” y las diferentes concentraciones con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Según el intervalo diferencia de medias poblacionales [-4,43; -4,03]=0,95, se concluyó que la concentración 28,665 es mejor que las concentraciones desde el 16,72125 a 26,27625.

IV. DISCUSIÓN

Se realizó el estudio titulado “Comparación de la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *minthostachys mollis* “muña” y la nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212”

Para la obtención del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” se aplicó el método por arrastre de vapor, se logró obtener un rendimiento de aceite esencial (RAE) de 0,21 % con una densidad de 0,9555 g/mL. Comparado a los estudios de Collantes y Mena (2022), difieren porque obtuvieron un rendimiento mayor entre 0,689 y 0,5344 %. Gonzales et al. (2021) obtuvieron resultados similares al nuestro siendo la densidad de 0,886 del aceite esencial de *M. mollis* por destilación por arrastre de vapor.

Se utilizó el método de disco difusión Kirby – Bauer, para determinar la sensibilidad antibacteriana *in vitro*, luego se estandarizó el inóculo a escala Mac Farland obteniendo 1,5 x 10^8 UFC/mL, se realizó el antibiograma siguiendo las pautas de Duraffourd y Lapraz, quienes consideran que los aceites esenciales presentan un rango de actividad: Nula, sensibilidad límite, sensibilidad media y sumamente sensible.

En las Tabla 1, 2 y 5, se muestran los promedios de las mediciones de los halos de inhibición (mm) frente a *Enterococcus faecalis ATCC 29212*

a diferentes de concentraciones del aceite esencial del *Minthostachys mollis* el mayor fue 19,195 mm (28,665 mg) y el menor fue 12,195 mm (16,72125). Los halos de inhibición de Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis ATCC 29212* fueron: el mayor fue 28,89 mm, el menor fue de 28,195 mm., y el promedio fue de 28,45 mm.

Gonzales (2022) obtuvo halos menores al nuestro, siendo diferentes sus resultados de la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en 24 horas un promedio de 8,2 mm al 25 %; 10,0 mm al 50 %; 10,9 mm al 75 % y 11,8 mm al 100 % sobre cepas de *Enterococcus faecalis* y la eficacia antimicrobiana en 48 horas de 8,3 mm al 25 %; 10,3 mm al 50 %, 11,4 mm al 75 % y 11,6 mm al 100 %.

Paucar et al. (2021) obtuvieron medidas de los halos menores al nuestro, por lo que sus resultados son diferentes, los halos de inhibición del aceite esencial del *Minthostachys mollis* al 25 %, 50 %, 75 % y 100 % frente a la *Porphyromonas gingivalis* un halo de 10,2 mm (100 %), 10,4 mm *Staphylococcus aureus* (100 %) y 9,8 mm *Candida albicans* (100 %) su actividad antimicrobiana disminuyó con el tiempo 24,48 y 72 horas y la concentración.

En las Tabla 3 y 6, se muestran el grado de sensibilidad según la escala de Duraffourd, dos concentraciones del aceite esencial de

Minthostachys mollis presentaron grados sensibles de 16,72125 y 19,11 con halos de inhibición de 12,195 mm y 13,40625 mm respectivamente, y las demás concentraciones 21,19875; 23,8875; 26,27625; 28,665 con halos de inhibición de 14,48375 mm; 16,1875 mm; 18,53375 mm y 19,195 mm, y sensibilidad media. La nitrofurantoína presentó un grado muy sensible en todas sus repeticiones.

Hinostroza y Villaizan (2022) en sus resultados obtenidos se asemejan al nuestro, obteniendo un grado sensible en la concentración al 100 %, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 50 % frente al *Staphylococcus aureus* el 82,4 % es nula y el 17,6 % sensible; al 75 % el 54,9 es nula, el 29,4 % sensible y el 15,7 % medio. Al 100 % 33,3 % es sensible, 43,1 % medio y 21,6 % sumamente sensible.

En la Tabla 4, se halló la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) del aceite esencial de *Minthostachys mollis* a una concentración de 22,560418 mg y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) se halló a una concentración de 23,091252 mg.

Los estudios de Collantes y Mena (2022), se realizaron con otras cepas bacterianas por lo que sus resultados son diferentes al nuestro, hallaron un CMI del aceite esencial de *Minthostachys mollis* con otras bacterias obteniendo un 0,1 hasta 5 %, la CMI de *Pseudomonas aeruginosa*

(0,1); Salmonella enterica (3,0); Escherichia coli; Listeria monocytogenes (3,0); Bacillus cereus (3,0) y Staphylococcus aureus (5,0) quien presentó mayor resistencia al aceite esencial con una CMI de 5 %. Gonzales et al. (2021) en sus resultados obtuvieron que el CMI del aceite esencial de *M. mollis* frente a *E. coli* fue de 8,86 µg/ml., para *P. aeruginosa* (>70,88), para *E. coli* (70,88) y *E. faecalis* (>70,88).

En las Tabla 9, 12, y 16, se presentaron las pruebas estadísticas de Anova $F_c = 3385,012$ con un p = < 0,001, existieron diferencias entre la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" comparado con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Y $F_c = 853,349$ con un p = < 0,001, existe actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. La prueba T para muestras independientes con un p-valor = 0,001 existe diferencia entre el efecto la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" y las diferentes concentraciones con *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Gonzales G. (2022) obtuvo resultados estadísticos similares al nuestro, mediante la prueba Anova que obtuvo un p=0,022 al 75 % a 24 horas en el aceite esencial de *Minthostachys mollis*, y un p=0,015 al 75 % a 48 horas, existe diferencias en la efectividad de esta concentración

experimental. Hinostroza y Villaizan (2022) sus resultados obtenidos son similares, donde obtuvo un p= 0,023 con la prueba de Friedman, existe efecto inhibitorio en 24, 48 y 72 horas de *Minthostachys mollis* frente a *Staphylococcus aureus.*

Paucar et al. (2021) también obtuvo resultados similares al nuestro, utilizaron la prueba de Tukey con un p=0,001, e indicaron que existe actividad antimicrobiana a una concentración de 100% de aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a *Staphylococcus aureus, Porphyromonas gingivalis* y *Candida albicans* a las 24 horas y a un p = 0,001 existió diferencias significativas en la actividad antimicrobiana en las horas 24,48 y 72.

Con los resultados obtenidos se ha demostrado que el aceite de *Minthostachys mollis presenta actividad antibacteriana frente a Enterococcus faecalis* ATCC 29212, asimismo existen investigaciones sobre la actividad antibacteriana con otros microorganismos, estas propiedades se deben a sus componentes; como menciona Herrera (2023) los aceites esenciales provenientes de la familia *Lamiaceae*, como *Minthostachys mollis* presentan componentes con acción antibacteriano, porque alteran la permeabilidad de la membrana celular, que ocasiona la

salida de componentes vitales para la vida bacteriana, esto depende también del microorganismo y de la concentración del aceite.

Los componentes que se encuentran en el aceite *Minthostachys mollis* en mayor cantidad quienes proporcionan la actividad antibacteriana según Gonzales et al. (2021) por medio de cromatografía de gases se determinaron 22 compuestos en muña entre la pulegona (40,94 %), mentona (32,72 %) y limoneno (1,92 %). Paucar et al. (2021) obtuvieron resultados de la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas identificando 36 compuestos químicos: pulegona 30,17 %, mentona 16,55 %, mentol 15,23 % y p-mentanona 10,49 %. Estos estudios son similares a los resultados obtenidos en la identificación de compuestos orgánicos que en total fueron 40, siendo los principales: la pulegona 27,48 % y la menthone 16,48 %.

Según Leon-Marrou et al. (2023) la mentona/pulegona principal monoterpénico del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, su composición porcentual puede variar y presentarse otros quimiotipos, como el dihidrocarvona/carvona, acetato de carvacrilo/carvacrol, limoneno y linalol. En el Perú la mayor proporción en los componentes del aceite esencial de muña es la mentona.

Hinostroza y Villaizan (2022) mencionaron que es posible que existan variaciones de componentes en el aceite esencial de *Minthostachys mollis* debido a factores ambientales sobre el contenido de compuestos en plantas, puede variar la intensidad de luz y el fotoperiodo, variando de región en región, la época de recolección y edad de las plantas, todos estos factores afectan la composición de los aceites esenciales.

CONCLUSIONES

1. Existe diferencia entre la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” comparado con la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, siendo su significancia menor al 0,05, es decir que la Nitrofurantoína (control +) presenta una mayor actividad antibacteriana frente al tratamiento 6 (concentración 28,665).

2. Existe actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, ya que su significancia es menor al 0,05, es decir, que en el tratamiento 6 (concentración 28,665) presentó mayor actividad antimicrobiana con respecto a las demás concentraciones.

3. Existe diferencia entre la actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” en sus diferentes concentraciones frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. La concentración 28,665 presentó una mayor actividad con respecto a las demás concentraciones desde el 16,72125 al 26,27625.

4. La actividad antimicrobiana *in vitro* de la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, según la escala de Duraffourd y Lapraz, presentó un grado de sensibilidad sumamente sensible con un halo de sensibilidad promedio de las 8 repeticiones de 28,45 mm.

5. La Concentración Mínima Inhibitoria *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "muña" frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, que se encontró en el tubo 5 a una concentración de 22,560418 mg.

6. La Concentración Mínima Bactericida *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis "*muña" frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, se encontró en el tubo 7 a una concentración de 23,091252 mg.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a los investigadores realizar estudios comparativos del efecto antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” y sus principales activos frente a otros antibióticos, así como otras bacterias resistentes de importancia hospitalaria.

2. Se recomienda a los profesionales realizar estudios con muestras de aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis* para investigar el mecanismo de resistencia que presenta esta especie.

3. Se sugiere a los profesionales de Biología que realicen estudios comparativos de la Concentración Mínima Inhibitoria y Bactericida del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” sobre diferentes cepas bacterianas de importancia clínica.

4. Se sugiere a los investigadores ampliar la investigación con estudios comparativos de la Concentración Mínima Inhibitoria y Bactericida del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña” y otras plantas medicinales frente a E. faecalis ATCC 29212.
5. A los docentes del Departamento de Biología de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann fomentar las investigaciones de

plantas medicinales, mediante talleres de importancia de las plantas medicinales y su uso alternativo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. AEMPS (2023) Ficha técnica de Nitrofurantoína. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/publico/lista.html

Aigaje-Sierra, A. y Zurita-Solis, M. (2017). Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100 % frente a *Porphyromonas gingivalis*. *Ciencias Médicas*, *3*, 3–20. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.23857/dom.cien.pocaip.2017.3.1.3-20

Alaba W. y Jiménez C. (2014) Efecto inhibitorio *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Año 01/ N° 01 / Enero - junio 2014.

Arias, C. A., Contreras, G. A., y Murray, B. E. (2010). Management of multidrug-resistant enterococcal infections. *Clinical Microbiology and Infection*, *16*(6), 555–562. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03214.x

Benbelaïd, F., Khadir, A., Abdoune, M. A., Bendahou, M., Muselli, A., y Costa, J. (2014). Antimicrobial activity of some essential oils against oral multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* in both planktonic and

biofilm state. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *4*(6), 463–472. https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C1203

Benites J, Guerrero, A, Salas F, Martínez JL, Jara-Aguilar R, Venegas-Casanova EA, SuarezRebaza L, Guerrero-Hurtado J y Buc Calderón P. (2018). Chemical composition, *in vitro* cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil Peruvian *Minthostachys mollis* Griseb. *Boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas 17(6):566-574.*

Borda D. (2018) *Efecto antibacteriano del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) comparado con el aceite esencial de Rosmarinus officinalis (romero) en concentración 50 y 100% sobre cepas de Enterococcus faecalis, Arequipa.* [Tesis de pregrado, Universidad Alas Peruanas del Perú].

Codelia-Anjum, A., Lerner, L. B., Elterman, D., Zorn, K. C., Bhojani, N., y Chughtai, B. (2023). Enterococcal Urinary Tract Infections: A Review of the Pathogenicity, Epidemiology, and Treatment. *Antibiotics*, *12*(4), 1–11. https://doi.org/10.3390/antibiotics12040778

Collantes T. y Mena K. (2022). *Extracción del aceite esencial de tifo (Minthostachys mollis), mediante la metodología de arrastre de vapor.* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Cotopaxi- Ecuador].

Duraffourd, C. y Lapraz, J. (1983). Cuadernos de Fitoterapia Clínica.

Masson. Barcelona.

Flores-Mireles, A., Walker, J., Caparon, C., y Hultgren, S. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*, *13*(5), 269–284. https://DOI: 10.1038/nrmicro3432

Gonzales G. (2022) *Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) en diferentes concentraciones sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212, estudio in vitro.* [Tesis de pregrado, Universidad Alas Peruanas del Perú]. Archivo digital. https://hdl.handle.net/20.500.12990/9718

Gonzales K., Salazar M. y Fuertes C. (2021) Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* Griseb. “muña” y *Piper carpunya* Ruíz & Pav. “Pinku.” *Ciencia e Investigación*, *24*(2), 21–26. https://doi.org/10.15381/ci.v24i2.22522

González V. (2022) Infección urinaria producida por *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* asociada a sonda vesical: factores de riesgo y evaluación de los patrones de resistencia. *Revista oficial da Sociedade Galega de Medicina Interna (SOGAMI) 83* (3), 8-10. https://galiciaclinica.info/PDF/66/2638.pdf

Guenther, E., Haagen-Smit, A., Langenau, E., y Urdang, G. (1948). The essential oils. *Jurnal Penelitian Pendidikan Guru Sekolah Dasar*,

6(August), 128.

Haro S. y Navas F. (2022) *Perfil de susceptibilidad por Enterococcus* sp *como responsable de infecciones nosocomiales en Latinoamérica.* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador]. Archivo digital. http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/9435

Herrera J. (2023) *Aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas del Ecuador y de especies similares presentes en otros países, revisión de estudios de actividad antimicrobiana.* [Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador]. Archivo digital. http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/31744/1/UCE-FCQ-CQF-HERRERA%20JESSICA.pdf

Hinostroza L., Villaizan L. (2022) *Efecto inhibitorio del aceite esencial de la muña Minthostachys mollis y té verde Camellia sinensis frente a Staphylococcus aureus.* [Tesis de pregrado, Universidad Peruana de los Andes, Huancayo]. Archivo digital. https://hdl.handle.net/20.500.12848/4172

Instituto de Evaluación de Tecnologías en Salud e Investigación (2019). Guía de Práctica Clínica para el Manejo de la Infección de Tracto Urinaria no Complicada: Guía en Versión Extensa. Lima: EsSalud. Disponible en: https://www. essalud.gob.pe/ietsi/pdfs/tecnologias_sanitarias/GPC_ITU_Vers_Extensa.pdf

Instituto Nacional de Salud (2002). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión / Elaboración: Rosa Sacsaquispe Contreras y Jorge Velásquez Pomar. Lima: Ministerio de Salud.

Instituto Nacional de Salud (2023). Resistencia a los antimicrobianos. Instituto Nacional de Salud. https://antimicrobianos.ins.gob.pe/acerca-de/resistencia-a-los-antimicrobianos.

Kayaoglu, G., y Ørstavik, D. (2004). Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship to endodontic disease. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, *15*(5), 308–320. https://doi.org/10.1177/ 15441113040 1500506

Kowalska-Krochmal, B., y Dudek-Wicher, R. (2021). The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens*, *10*(2), 1–21. https://doi.org/10.3390/pathogens10020165

León-Marrou M., Pagador S., Yupari-Azabache I. y Díaz-Ortega J. (2023) Actividad antifúngica *in vitro* de aceites esenciales de molle (*Schinus molle*) y muña (*Minthostachys mollis griseb*) sobre *Botrytis cinerea. Interciencia. June 2023 • Vol. 48 Nº 6*

Li, M., Yang, F., Lu, Y., y Huang, W. (2023). Identification of *Enterococcus faecalis* in a patient with urinary-tract infection based on metagenomic next-generation sequencing: a case report. *Indian Journal of Medical*

Microbiology, *42*, 97–99. https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2022.07.017

Linares-Otoya V. (2020) Consideraciones para el uso y estudio de la “muña” peruana *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb y *Minthostachys setosa* (Briq.) Epling. *Ethnobotany Research and Applications. Vol. 19 (2020) pág. 1-9.* http://dx.doi.org/10.32859/era.19.29.1-9.

Maroyi, A. (2013). Traditional use of medicinal plants in south-central Zimbabwe: Review and perspectives. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, *9*(1). https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-31

Martínez A. (2003) Aceites esenciales. Facultad Química Farmacéutica Medellín, febrero 2003 [Internet]. [citado 30 de octubre de 2023]. Disponible en: https://med-informatica.com/OBSERVAMED/ Descripciones/Aceites Esenciales UdeA_esencias2001b.pdf

Ministerio de salud de Argentina (2017). Guía de Medicamentos Esenciales en el PNA - Grupo Antimicrobianos. Primera edición 2017. Disponible en: https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2020-06/guia-de-medicamentos-esenciales-para-el-pna-antimicrobianos-2017.pdf

Organización Mundial de la Salud (2021). Resistencia a los antimicrobianos. Publicado el 17 de noviembre de 2021. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail /antimicrobial -resistance

Organización Mundial de la Salud (2021) Patógenos multirresistentes que son prioritarios para la OMS. 4 Mar 2021. https://www.paho.org/es/noticias/4-3-2021-patogenos-multirresistentes-que-son-prioritarios-para-oms

Organización Mundial de la Salud (2023) Cumbre Mundial de OMS sobre Medicina Tradicional destaca evidencias científicas e integración a los sistemas de salud. 28 Ago 2023. Disponible en: https://www.paho.org/es/noticias/28-8-2023-cumbre-mundial-oms-sobre-medicina-tradicional-destaca-evidencias-cientificas

Organización Panamericana de la Salud (2019). Tratamiento de las enfermedades infecciosas 2020-2022. Octava edición. Washington, D.C.: OPS; 2019. Disponible en: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51695/ 9789275321133_spa.pdf

Paucar E. Peltroche N. y Cayo C. (2021) Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, *40*(5), 450. link

Richards, M. J., Edwards, J. R., Culver, D. H., Gaynes, R. P., y Surveillance, I. (2013). Nosocomial infections in combined medical -*Surgical intensive care units*. *21*(8), 510–515.

Saavedra S. Bernal J. Montilla E. Torres G. Rodríguez M. Hidalgo A. Ovalle

M. Rivera S. Pérez E. y Duarte C. (2020) Vigilancia nacional de aislamientos clínicos de *Enterococcus faecalis* resistentes al linezolid portadores del gen optrA en Colombia, 2014-2019. *Rev Panam Salud Pública, 44*(1), 104. https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.104

Sanga R. (2021) *Concentración Mínima Inhibitoria in vitro del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) sobre el crecimiento de Enterococcus faecalis ATCC 29212. [*Tesis de pregrado, Universidad Católica de Santa María, Arequipa].

Seguro Social de Salud-Es Salud (2022) El 25% de mujeres en el Perú han padecido de infección urinaria. Publicado el 05/07/2022. Disponible en: http://noticias.essalud.gob.pe/?inno-noticia=essalud-el-25-de-mujeres-en-el-peru-han-padecido-de-infeccion-urinaria.

Senatore F. (1998). Volatile constituents of Minthostachys setosa (Briq.) Epl. (Lamiaceae) from Peru. *Flavour and Fragrance Journal 13(4):263–265.*

Sykes, J., y Rankin, S. (2022). Isolation and Identification of Aerobic and Anaerobic Bacteria. In *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat, Fifth Edition* (pp. 19–30). https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50934-3.00003-3

Tenover F., Hindler J. y Rosner E. (2005) Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. OPS: Centros de Control y

Prevención de Enfermedades (CDC) Atlanta. Disponible en: https://www.paho.org/es/documentos/manual-pruebas-susceptibilidad-antimicrobiana-2005

Tuyo, L. (2013). *E*fecto de la actividad antimicótica *'in vitro'* del aceite esencial de *Tagetes minuta L. 'Huacatay'* frente a *Candida albicans."* http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/1654/163_2013_ninaraque_mamani_p_fcag_agronomia.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Vijayasanthi, M., Kannan, V., Venkataswamy, R., y Doss, A. (2012). Evaluation of the antibacterial potential of various solvent extracts of Acacia nilotica Linn. leaves. *Hygeia Journal for Drugs and Medicine*, *4*(1), 91–96. http://www.hygeiajournal.com/Abstract.aspx?did=153%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=cagh&AN=20123365432%5Cnhttp://oxfordsfx.hosted.exlibrisgroup.com/oxford?sid=OVID:caghdb&id=pmid:&id=doi:&issn=2229-3590&isbn=&volume

Yauri-Condor K., Zavaleta Apestegui M., Sevilla-Andrade C., Piscoya Sara J., Vicente Taboada W. y Gonzales-Escalante E. (2021) Resistencia a vancomicina en aislamientos clínicos de *Enterococcus*. *Rev Med Hered. 2021; 32:270-271* DOI: https://doi.org/10.20453/rmh.v32i4.4129

Zilberberg, M. D., Nathanson, B. H., Sulham, K., y Shorr, A. F. (2022). Descriptive epidemiology and outcomes of emergency department visits with complicated urinary tract infections in the United States, 2016–2018. *Journal of the American College of Emergency Physicians Open*, *3*(2), 1–7. https://doi.org/10.1002/emp2.12694

ANEXOS

Anexo 1. Instrumento utilizado

Ficha de recolección de datos para medir el tamaño de los halos de inhibición en mm del *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 frente aceite esencial de *Minthostachys mollis* “muña”.

			Microorganismo - *Enterococcus faecalis* ATCC 29212								
N ° de Tratamientos	Aceite esencial		Repeticiones								Promedio
	Concentración	Volumen	Halo de inhibición								
	(mg)	(uL)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
T-1											
T-2											
T-3											
T-4											
T-5											
T-6											
Control (-)											
Control (+)											

CONTROL (+)	
NITROFURANTOÍNA	

Anexo 2. Identificación de la especie botánica

HERBARIO TAKANA (TKA)

Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann
Facultad de Ciencias
Ciudad Universitaria - Av. Miraflores s/n, Tacna - Perú

TKA HERBARIO TAKANA

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junin y Ayacucho"

Constancia N° 003 – TKA- 2024

EL DIRECTOR DEL HERBARIO TAKANA (TKA) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (hojas y flores) colectado por **Edison Sergio Pari Paccari**, identificado con DNI N° 43980875, bachiller de la escuela de Biología-Microbiología, Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann de Tacna, cuya determinación taxonómica servirá para su proyecto de Tesis: Comparación de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite de *Minthostachys mollis* "muña" y la Nitrofurantoína frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, ha sido estudiada y clasificada como: *Minthostachys mollis* (Benth) 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* (Benth) Griseb

Nombre vulgar: "Muña"
Determinado por: Bach. Cs. Biol. Javier Máximo Ignacio Apaza

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA - HERBARIO TAKANA (TKA)

Tacna, 04 de abril del 2024

Dr. PABLO JUAN FRANCO LEON
Director del Herbario (TKA)

cc: Herbario TKA

Anexo 3. Cromatografía de Gases del aceite esencial de *Minthostachys mollis*

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO–PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco, 19 de Enero del 2024

Solicitante : Edison Sergio Pari Paccari
Tipo de Análisis : Perfil de Compuestos orgánicos en aceite esencial
Método : Cromatografía de Gases GC-MSD.
Cantidad y tipo de Muestra : 1 frascos con contenido liquido denominado aceite esencial de Muña con 1.5 ml aprox.

Pico	TR	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Contenido Relativo %
1	1.0049	Ethanol	000064-17-5	83	0.1396
2	3.4026	Thujene	028634-89-1	94	0.2785
3	3.5167	alpha,-Pinene	000080-56-8	96	0.5112
4	4.1595	Sabinene	D03387-41-5	91	0.508
5	4.2271	--B-Pinene	018172.67-3	97	0.6753
6	4.4428	beta. -Myrcene	000123-35-3	91	0.7622
7	45189	3-Octanol	000589-98-0	83	0.6455
8	5.1194	o-Cymene	DD0527-B4-4	97	1.5326
9	5.2039	D-Limonene	005989-27-5	99	1.5781
10	5.3647	trans- beta -Ocimene	003779-61-1	97	0.1785
11	5593	B- cis-Ocimene	003338-55.4	96	1.0465
12	5.8298	gamma, -Terpinene	000099-85-4	97	0.2804
13	6.7812	B-Linalool	C00078-70-6	96	3.6454
14	7.3183	3-0ctanol, acetate	004884-61-3	42	0,4481
15	8.1978	-Menthone	014073-97-3	98	16.4816
16	8.4304	Isomenthone	000491-07-6	98	9.2194
17	8.5573	d-Menthol	000089-78-1	91	0.3103
18	8.6334	Isopulegon	029606-79.9	83	0.8674
19	9.6609	3-Heptene,2,2,3,5,6-pentamethyl-			
20	104475	Pulegone	116164-06-8	43	0.4708
		1-Methy-3,3-	015932-80-6	98	27.4842
21	10.6293	pentamethylenediaziridine	026177-34-4	38	1.3773
22	11.5807	Carvacrol	000499-75-2	94	0.7873
23	11.8641	pThymol	003228-02-2	94	4.2866
24	12.8113	Eucarvone	000503-93-5	83	0.889
25	13.1115	Thymol acetate	000528-79-0	97	0.3885
26	13.4583	1,4-Benzenediol, 2,5-dimethyt-	000615-90-7	45	1.8622
		Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethy)-			
27	13.6443	acetate	006380-2B-5	96	5.8354
28	13.8684	(-)-beta. -Bourbonene	D05208-59-3	89	0.4999
29	14.7522	Caryophylene	000087-44-5	99	3.5291
		Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-			
30	15.1243	methylethenyl)-	000529-00-0	50	0.6386
		1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-			
31	15.5472	tetramethyl-, Z, Z,Z.	1000062-61-9	98	0.5909
32	15.7586	Precocene I	017598-02-6	97	0.2548
33	16.2365	Germacrene D	023986-74-5	95	2.3591
34	16.6424	Bicyclogermacrene	067650-90-2	93	4.7572
		Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-			
35	16.7989	2,4-bis(1-methylethenyl)-	110823-68-2	91	0.195
36	18.5115	Spathulenol	006750-60-3	94	2.5333
37	18.6172	Caryophylene oxide	001139-30-6	90	0.5165
38	19.0739	Bicyclol6.1.0]non-1-ene	002570-06-1	49	0.6832
39	19.8604	isospathulenol	DD8750-60-3	93	0.7539
		1H-Cycloprop[e]azulen-7-al, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1ar-(1a. alpha 4a. alpha.,7. beta., 7a beta.			
40	21.5899	7b. alpha)-	0D6750-60-3	60	0.2122

Qual = Porcentaje de coincidencia con la base de datos Nist 11 (se reporta mayores al 70%)
CAS = Numero para identificar la molécula
TR = Tiempo de Retención, tiempo al cual son detectados (ver cromatograma)

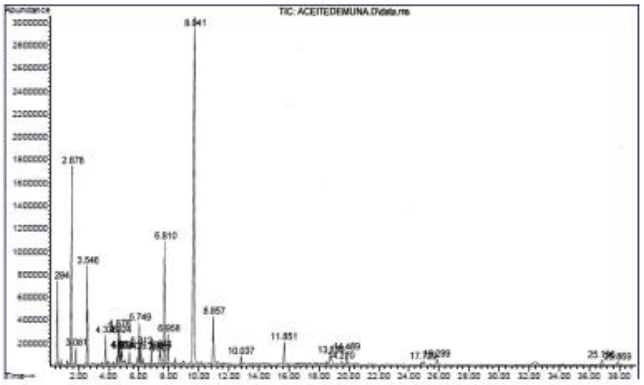
Químico. Jorge Choquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914

Anexo 4. Cromatografía en capa fina del aceite esencial de *Minthostachys mollis*

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO–PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cromatograma



Condiciones de análisis para Aceite esencial

Cromatógrafo:	Agilent 6890N
Software de Control:	Chemstation B.030
Detector de Masas:	Agilent 5975B
Energía de Ionizacion:	70eV
Modo de Ionizacion:	Impacto Electrónico (IE)
Modo de escaneo de masas:	40 a 400 uma
Retraso del disolvente:	0.0 minutos
Inyector Automático:	Agilent 7683B

Columna: Agilent HP-5MS 5% Fenil Metil Siloxano 30m x 0.25id x 0.5um film

Temperatura del Horno inicial 60 ^{0}C, incremento de 5 °C/minuto hasta 230 °C, 5 min 230 °C
Puerto de Inyección

Modo	: Split (con división)
Relación de Split	: 70:1
Temp. Inicial	: 200 °C
Tipo de Gas	: Helio
Flujo	: 1 mL/min
Volumen de Inyección	: 0.1 uL
Muestra inyecta	: Puro
Tiempo de Análisis	: 39.0 min

Referencia

- Pino Alea. J. A. I Curso Internacional Análisis de Aceites Esenciales Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco 2014.
- Lynam, K. 2014 Potential Allergens in Aromatherapy Oils by GC/MS Using an Agilent J&W DB-XLB Capillary Column Agilent Technologies, Inc. 2850 Centerville Road Wilmington, DE 19808 USA 5990-5293EN

Químico. Jorge Chaquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría – UNSAAC.
CQP - 914

Anexo 5. Resultados descriptivos de las concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis*

Descriptivos

Concentraciones (mg)			Estadístico	Error estándar
16,72125	Media		12,19500	,109087
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	11,93705	
		Límite superior	12,45295	
	Media recortada al 5%		12,18333	
	Mediana		12,17500	
	Varianza		,095	
	Desviación estándar		,308545	
	Mínimo		11,870	
	Máximo		12,730	
	Rango		,860	
	Rango intercuartil		,537	
	Asimetría		,598	,752
	Curtosis		-,603	1,481
19,11	Media		13,40625	,097430
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13,17586	
		Límite superior	13,63664	
	Media recortada al 5%		13,40972	
	Mediana		13,43500	
	Varianza		,076	
	Desviación estándar		,275574	
	Mínimo		12,940	
	Máximo		13,810	
	Rango		,870	
	Rango intercuartil		,418	
	Asimetría		-,278	,752
	Curtosis		-,095	1,481
21,49875	Media		14,48375	,105880
		Límite inferior	14,23338	

	95% de intervalo de confianza para la media	Límite superior	14,73412	
	Media recortada al 5%		14,49139	
	Mediana		14,51000	
	Varianza		,090	
	Desviación estándar		,299473	
	Mínimo		13,980	
	Máximo		14,850	
	Rango		,870	
	Rango intercuartil		,460	
	Asimetría		-,447	,752
	Curtosis		-,892	1,481
23,8875	Media		16,18750	,093192
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	15,96714	
		Límite superior	16,40786	
	Media recortada al 5%		16,18556	
	Mediana		16,14500	
	Varianza		,069	
	Desviación estándar		,263588	
	Mínimo		15,860	
	Máximo		16,550	
	Rango		,690	
	Rango intercuartil		,525	
	Asimetría		,129	,752
	Curtosis		-1,605	1,481
26,27625	Media		18,53375	,088840
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	18,32368	
		Límite superior	18,74382	
	Media recortada al 5%		18,53861	
	Mediana		18,60500	
	Varianza		,063	
	Desviación estándar		,251279	
	Mínimo		18,110	

	Máximo		18,870	
	Rango		,760	
	Rango intercuartil		,400	
	Asimetría		-,700	,752
	Curtosis		-,191	1,481
28,665	Media		19,19500	,079799
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	19,00631	
		Límite superior	19,38369	
	Media recortada al 5%		19,19222	
	Mediana		19,19000	
	Varianza		,051	
	Desviación estándar		,225705	
	Mínimo		18,940	
	Máximo		19,500	
	Rango		,560	
	Rango intercuartil		,405	
	Asimetría		,114	,752
	Curtosis		-2,259	1,481
Control	Media		28,45000	,079625
(+)	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	28,26172	
		Límite superior	28,63828	
	Media recortada al 5%		28,43972	
	Mediana		28,40750	
	Varianza		,051	
	Desviación estándar		,225214	
	Mínimo		28,195	
	Máximo		28,890	
	Rango		,695	
	Rango intercuartil		,315	
	Asimetría		1,170	,752
	Curtosis		1,074	1,481

Anexo 6. Evidencias fotográficas

Extracción del aceite esencial de *Minthostachys mollis,* "muña"

Minthostachys mollis.

Se pesó 1000 g. de *Minthostachys mollis,* "muña", se vertió al balón y se agregó agua hasta la mitad del balón para la extracción, durante 6 horas.

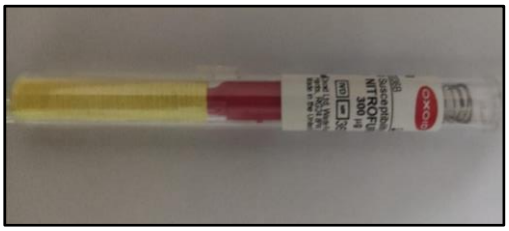
Equipo de extracción del aceite esencial de *Minthostachys mollis,* “muña”, por el Método de arrastre del vapor.

Aceite esencial de “muña”, se obtuvo una cantidad de 2,1 ml reservándose en un frasco estéril color ámbar.

Activación de la cepa bacteriana *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Agente biológico *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 proporcionado por el laboratorio de microbiología general de la ESBM-FACI alcanzando una suspensión de 0,5 de la escala de Mac Farland.

Preparación de los discos de sensibilidad

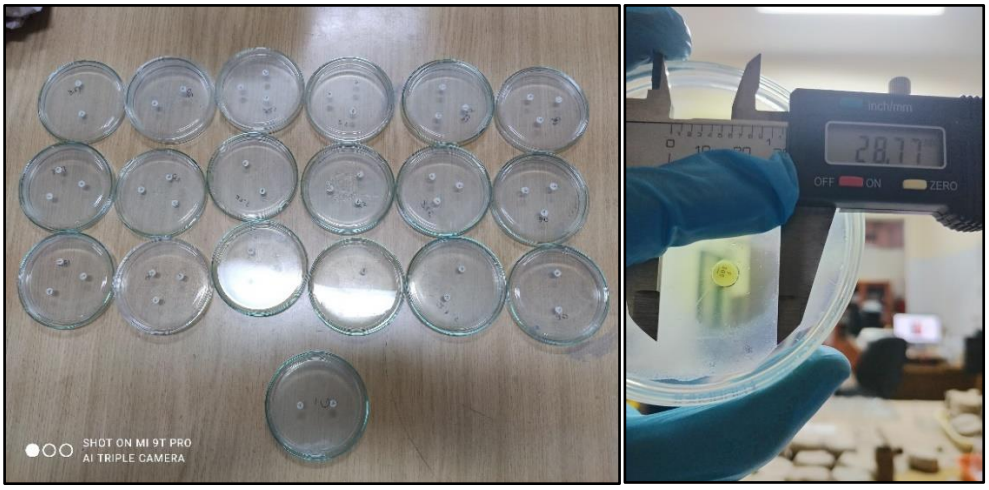


Discos de sensibilidad de nitrofurantoína (F) 300 µg Lote:3690486; Marca:OXOID

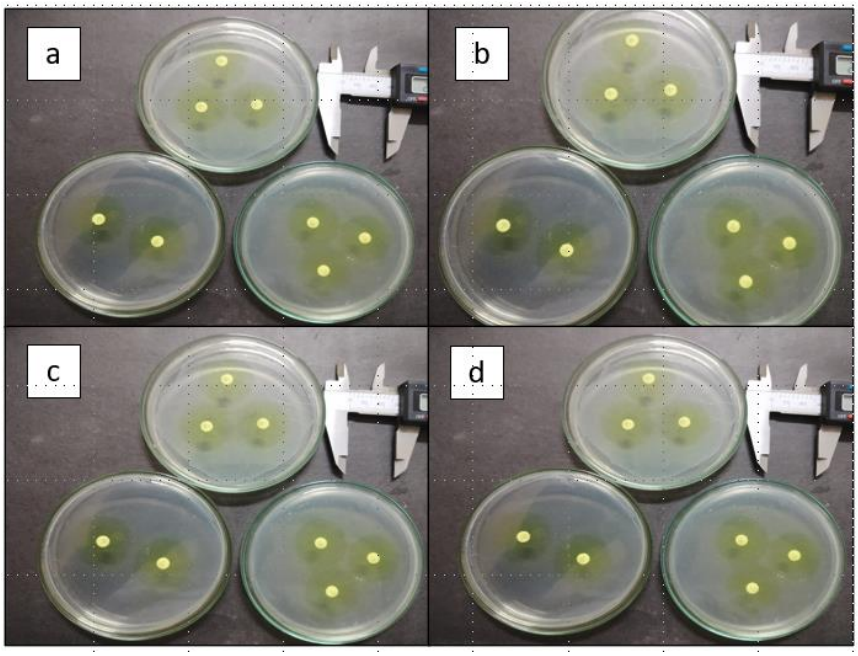
Desnaturalización de los discos a calor húmedo (autoclave) y luego a calor seco (horno de esterilización).

Método discos de difusión de kirby Bauer

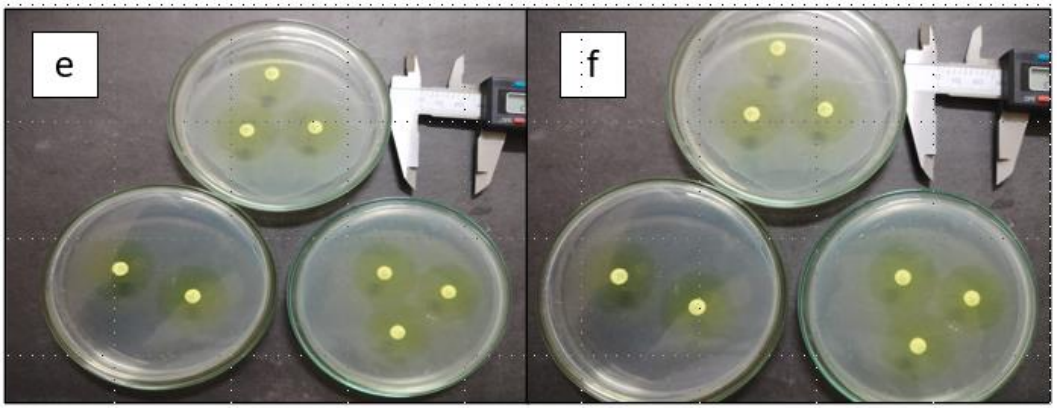
Aplicación del Método disco difusión en agar Müeller Hinton a diferentes volúmenes (17,5 µL, 20 µL, 22,5µL, 25 µL, 27,5 µL, 30 µL) del aceite esencial de *Minthostachys mollis,* “muña”, con 8 repeticiones.



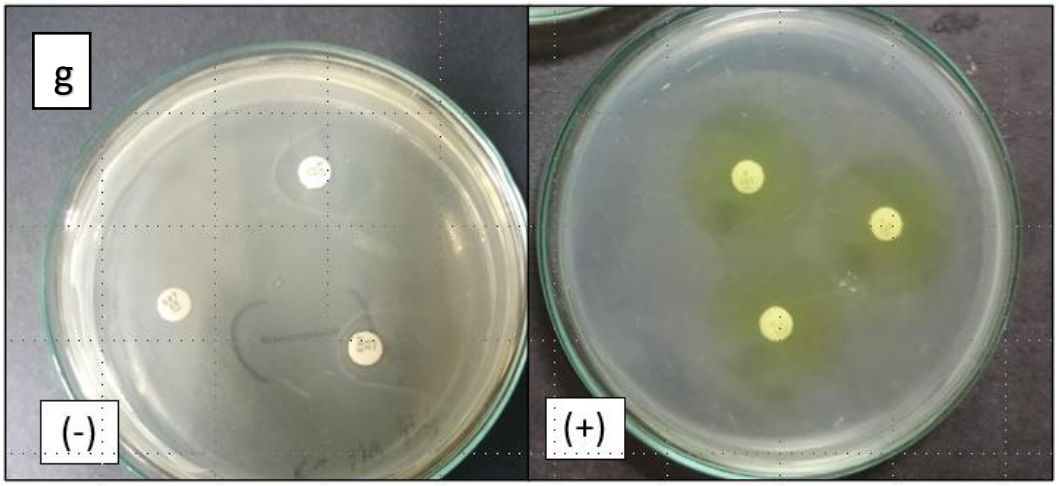
Lectura de los halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys mollis,* “muña”, frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 por el método difusión en disco (Kirby Bauer).



a) Halos de inhibición a 17,5 µL (16,72125 mg/mL)
b) Halos de inhibición a 20 µL (19,11 mg/mL)
c) Halos de inhibición a 22,5µL (21,49875 mg/mL)
d) Halos de inhibición a 25 µL (23,8875 mg/mL)



e) Halos de inhibición a 27,5 µL (26,27625mg/mL)
f) Halos de inhibición a 30 µL (28,665 mg/mL)

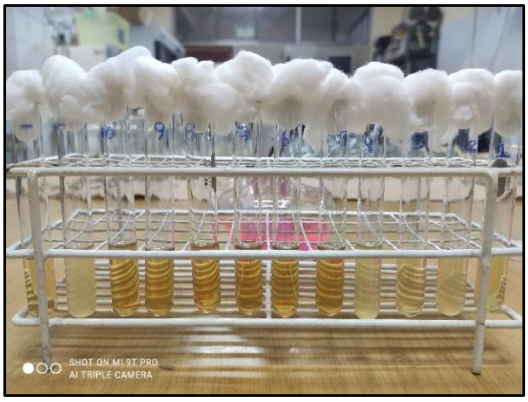


g) Control negativo (-) y control positivo (+) del aceite esencial aceite esencial de *Minthostachys mollis,* y la nitrofurantoina a frente al *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 por el método difusión en disco (Kirby Bauer).

h) Tabla de las mediciones de los halos de inhibición de los diferentes volúmenes con sus 8 repeticiones.

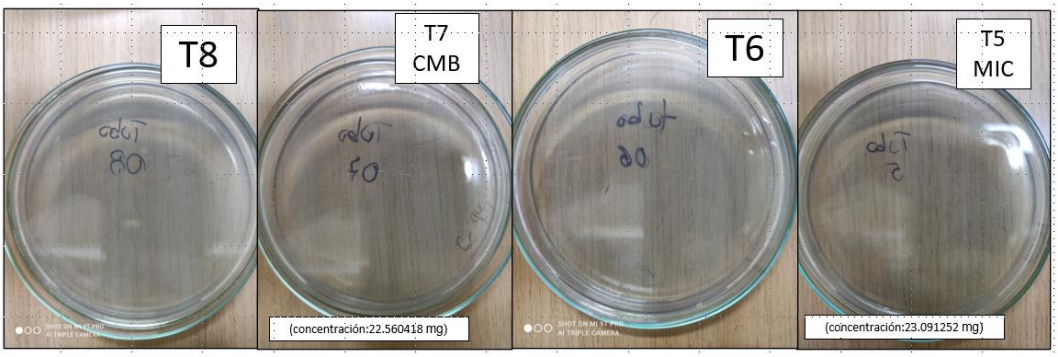
	Aceite Esencial		Repeticiones								
N° de tratamiento	Concentración	Volumen	Halo de inhibición (mm)								Promedio
	(mg)	(uL)	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
T-1	16,72125	17,5	12,25	11,89	11,92	12,73	12,47	11,87	12,1	12,33	12,195
T-2	19,11	20	13,66	13,19	13,52	13,81	12,94	13,48	13,26	13,39	13,40625
T-3	21,49875	22,5	14,64	14,72	14,74	14,29	14,27	14,85	14,38	13,98	14,48375
T-4	23,8875	25	16,43	16,55	15,88	15,86	16,45	16,04	16,15	16,14	16,1875
T-5	26,27625	27,5	18,71	18,65	18,23	18,87	18,62	18,59	18,11	18,49	18,53375
T-6	28,665	30	19,34	19,36	19,4	19,5	18,98	19,04	19	18,94	19,195
Control (-)			<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	<6	
Control (+)	300ug		28,66	28,89	28,195	28,45	28,29	28,39	28,3	28,425	28,45

Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) del aceite esencial de *Minthostachys mollis,* "muña", para *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 con sus respectivos controles.



Se observó que Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se encuentró en el tubo 5 a una concentración: 22,560418 mg.

Determinación de Concentración Mínima Bactericida (CMB)



Se determinó que la Concentración Mínima Bactericida (CMB) se encontró en el Tubo 7 a una concentración: 23,091252 mg.

Bach. Edison Pari Paccari
Tesista

Dr. César Julio Cáceda Quiroz
Asesor de Tesis