



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*
sobre *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Médico Cirujano

AUTOR:

Fernandez Robles, Heber Adrian (orcid.org/0000-0003-0647-754X)

ASESOR:

Dr. Quiñones Jauregui, Johnny Fernando (orcid.org/0000-0003-4115-5386)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Enfermedades Infecciosas y Transmisibles

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:

Promoción de la salud, nutrición y salud alimentaria

TRUJILLO – PERÚ

2023

DEDICATORIA

A mis padres por ser actores principales de este proceso, por apoyarme y brindarme su completa confianza, amarme y cuidarme en todos estos años de formación profesional y personal.

A mi pareja e hija, cuya existencia constituye parte vital de mi motivación para salir adelante, por ser el motor que me impulsa a hacer grandes cosas.

A mi hermana por sus consejos y amor incondicional, tanto ella como su familia han sido un pilar importante de apoyo para no rendirme en este camino largo.

Por último, a mi difunta abuela, que en vida y desde el cielo, guía y cuida a cada paso que doy, gracias por ser la primera persona en creer en mí.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme la mejor familia que pude tener, unida y amorosa, por darme cada cosa maravillosa que hay en mi vida y siempre cuidarme y guiar mi camino y el de mis seres queridos.

A mi familia por ser el soporte vital para lograr cada meta propuesta, desde mi formación académica y como persona. A mi pareja y mi hija por ser el ejemplo de apoyo incondicional y por el cual busco crecer día a día.

A mis amigos, íntimos e incondicionales, la familia que dios me regalo y los cuales han sido la parte divertida de todo este proceso personal.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Carátula

Dedicatoria.....ii

Agradecimientoiii

Índice de contenidos.....iv

Índice de tablas v

Índice de gráficos y figuras.....vi

Resumenvii

Abstract.....viii

I. INTRODUCCIÓN 1

II. MARCO TEÓRICO 6

III. METODOLOGÍA 11

3.1 Tipo y diseño de investigación..... 11

3.2 Variables y operacionalización..... 11

3.3 Población, muestra y muestreo..... 11

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos 12

3.5 Método de análisis de datos 15

3.6 Aspectos éticos 16

IV. RESULTADOS 17

V. DISCUSIÓN..... 20

VI. CONCLUSIONES 25

VII. RECOMENDACIONES..... 26

REFERENCIAS..... 27

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Descripción de la actividad antimicrobiana del AE de <i>M. mollis</i> y Ciprofloxacino sobre <i>Enterococcus faecalis</i> resistente a vancomicina, in vitro	17
TABLA 2: ANOVA de las medias de los halos de inhibición presentada por el AE de <i>M. mollis</i> y Ciprofloxacino, in vitro	19
TABLA 3: Prueba Tukey de comparación de la actividad antimicrobiana del AE de <i>Minthostachys mollis</i> y ciprofloxacino, in vitro.....	19

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y FIGURAS

GRÁFICO 1: Descripción del efecto antibacteriano del AE de <i>M. mollis</i> sobre <i>Enterococcus faecalis</i> resistente a vancomicina, in vitro	18
--	-----------

RESUMEN

El objetivo principal de la presente investigación fue demostrar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Enterococcus* resistente a vancomicina. El tipo de investigación fue aplicado, con un diseño de investigación experimental puro. Haciendo uso del muestreo no probabilístico, se seleccionaron a través de la técnica de muestreo aleatorio simple para cada grupo de observación. Los resultados del estudio concluyeron que, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* a una concentración de 100% presenta eficacia antibacteriana intermedia, mientras que, el ciprofloxacino tiene mayor efecto antibacteriano sobre *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina comparado del aceite esencial de *Minthostachys mollis*.

Palabras clave: Aceite esencial, *Minthostachys mollis*, muña, *Enterococcus*, vancomicina.

ABSTRACT

The main objective of the present study was to evaluate the antibacterial effect of *Minthostachys mollis* essential oil against vancomycin-resistant *Enterococcus*. The type of research was applied, with a pure experimental research design. Using non-probabilistic sampling, each observation group was selected through the simple random sampling technique. The results of the study concluded that *Minthostachys mollis* essential oil at a concentration of 100% has intermediate antibacterial efficacy, while ciprofloxacin has a greater antibacterial effect on vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* compared to *Minthostachys mollis* essential oil.

Keywords: Essential oil, *Minthostachys mollis*, *Enterococcus faecalis*, vancomycin.

I. INTRODUCCIÓN

A la actualidad en nuestro territorio, tenemos a disposición una amplia variedad de flora rica en propiedades curativas y medicinales que, al día de hoy no se les ha desarrollado estudios ni mucho menos han sido aprovechadas óptimamente. Dicha flora posee diversas bondades medicinales cuyos efectos van desde disminuir la inflamación, relajar los músculos y aliviar espasmos provocados a nivel gastrointestinal, además de combatir o inhibir el crecimiento bacteriano, etc. Sin lugar a dudas, cualidades que las hacen especiales y únicas, y, por ende, son vistos como objeto de estudio en materia investigativa para enriquecer la medicina tradicional, natural y moderna.¹ En nuestra situación actual se cuentan con diversos test empíricos y científicos para estudiar las propiedades curativas y paliativas de diferentes plantas con el único fin de obtener beneficio de las mismas para tratar diferentes enfermedades leves o crónicas¹.

Las plantas medicinales, así como los tratamientos coadyuvantes han ido acompañando al ser humano a lo largo de su evolución, es por ello que al día de hoy se contemplan en la medicina natural y complementaria a todos aquellos enfoques curativos y tratamientos que incorporan diversas terapias que ayudan a abordar de manera adecuada y evitar diferentes enfermedades, motivo por el cual, el empleo de hierbas medicinales se encuentra ampliamente difundido no solo en zonas alto andinas o nativas, sino también a nivel de ciudades, teniendo registro de las mismas con el fin de poder ser utilizadas para el bien del ser humano, formando parte así de la medicina tradicional y complementaria. ¹

En toda aquella gama de plantas medicinales encontramos a la muña (*Minthostachys mollis*), a la cual se le atribuye empíricamente, relativa propiedad antimicrobiana, la cual merece ser estudiada con fines terapéuticos complementarios, su uso se extiende a diversas zonas alto andinas de nuestro territorio y por esta misma difusión es que se han promovido diversas investigaciones acerca de las propiedades antimicrobianas de la muña. Se han realizado a partir de ésta, diversos estudios experimentales orientados y descriptivos orientados a conocer su potencia bactericida o bacteriostática y además poder comprender sus mecanismos mediadores de su actividad mediante la descripción de sus componentes químicos. A manera general se le ha atribuido

dentro de los componentes químicos de la muña, algunos principales tales como el carvacrol, mentol, pulegona, mentona, timol y eucaliptol, a los cuales se les ha tomado amplio interés científico por su actividad antimicrobiana.¹

La *Minthostachys mollis* o muña es parte de la flora oriunda autóctona de los andes peruanos, se encuentra en las distintas regiones naturales de la sierra peruana, su crecimiento se ve favorecido debido a la altura que normalmente es superior a los 2500 y hasta 3600 metros de altura sobre el litoral, en la cordillera de los andes. La muña puede llegar a medir de 1-1,5 metros de altura, presenta ramificaciones difusas, además de ramas largas, desarrollan follaje extenso y cáliz pubescente. Las hojas tienen la característica de ser opuestas, pecioladas, con una lámina sencilla con forma de elipse y hasta ovaladas; se conforma de aproximadamente 4-8 flores; entrenudos cuadrangulares y huecos, posee corola con forma de tubo, de forma zigomorfa, color blanco con manchas lilas y con el androceo conformado por cinco estambres que se adhieren a la corola, de menor tamaño en comparación con ella.²

Existen diferentes investigaciones que se han encargado de analizar el potencial antimicrobiano del AE de *Minthostachys mollis* frente a diversos patógenos comunes tales como *Helicobacter pylori*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas spp*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*, demostrando ser poseedor de un potencial antibacteriano significativo incluso en comparación con otros antibióticos de primera y segunda línea.³

El mecanismo antibacteriano del AE de la muña para inhibir a los patógenos es aún indeterminado, sin embargo, se postula que podría deberse a sus compuestos principales: los monoterpenos, los cuales actúan sobre la membrana bacteriana, incrementando la permeabilidad de la ésta, ocasionando de esta manera, desregulación y alteración en los canales iónicos, provocando la salida no controlada de diversas sustancias y elementos de la bacteria, iniciando una cascada de reacciones que concluyen en la muerte celular, este mecanismo se asemeja a la de los antibióticos bactericidas, ya que se encargan de erradicar las formas bacterianas mediante su actividad.²

En el contexto peruano, el uso de la medicina natural como complementaria a la medicina convencional es frecuente y se asocia a diversas problemáticas tales

como la precaria situación sanitaria a nivel nacional, que se traduce en una limitada cobertura en el ámbito de la salud y la complicación asociada a la obtención de medicamentos antibióticos, obliga al pueblo, especialmente a moradores de áreas rurales, a buscar otras opciones como la medicina natural. Este uso se fundamenta en el conocimiento empírico de las propiedades curativas de diversas plantas, entre las cuales destaca la *Minthostachys mollis*, también conocida como muña. Esta especie vegetal, que está extensamente repartida en los valles de los Andes, ha sido identificada por sus propiedades medicinales desde tiempos anteriores a los incas. En las cordilleras peruanas, se continúa utilizando ampliamente para abordar diversas dolencias, como trastornos digestivos, contracturas musculares y cuadros respiratorios por mencionar algunos beneficios.³

Las plantas propuestas como opciones terapéuticas representarían una alternativa valiosa a nivel sanitario sobre todo de las naciones en desarrollo, al proporcionar directamente agentes terapéuticos. Su utilización podría servir como alternativa a los medicamentos sintéticos fabricados en laboratorios o incluso potenciar su eficacia.¹

Las características antibióticas de los derivados de los AEs de *Minthostachys mollis* se pueden atribuir a los compuestos químicos claves identificados en esta planta. Se conoce que técnicas que permiten aislar específicamente, compuestos en solventes, por ejemplo, el fraccionamiento de los aceites esenciales, estas técnicas poseen un valor fundamental en el proceso de investigación, ya que nos proporciona de una manera precisa un panorama amplio acerca de las características químicas de las plantas y sus propiedades antimicrobianas.²

Desde la perspectiva farmacológica, las características de los AEs suelen ser diferentes a causa de la variabilidad de los compuestos químicos que poseen. Es altamente plausible que la efectividad antibiótica de estos no se atribuya solamente a un mecanismo, sino que resulte de la actividad sinérgica de varios compuestos que actúan en diferentes partes de la bacteria. En el particular caso de bacterias Gram que demuestran sensibilidad, resalta una teoría fisiológica que explicaría el mecanismo implicado, ésta sustenta que los aceites esenciales ingresan por medio de estructuras lipídicas que conforman la membrana celular y de la mitocondria, provocando cambios estructurales y aumentando su permeabilidad de ésta, esto

conlleva a una liberación iónica de moderada intensidad y otros contenidos celulares. Dicho proceso suele ser suficientemente capaz de alterar en su totalidad, no sólo el funcionamiento de la bacteria, sino también su estructura y su capacidad para sobrevivir, por lo cual eventualmente conlleva a la muerte celular.⁴

La creciente resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales ha generado la necesidad de explorar nuevas moléculas antibacterianas derivadas de fuentes naturales. En este contexto, proponemos investigar las propiedades de los AEs de *Minthostachys mollis* como una alternativa de tratamiento para diversas patologías presentes en nuestro entorno. Este enfoque busca no solo identificar novedosos compuestos moléculas antimicrobianas a partir de productos naturales, sino también validar el uso popular de la muña como recurso terapéutico.

Con el transcurso del tiempo, el interés se ha incrementado con respecto a la exploración y descubrimiento de novedosos compuestos de origen natural y sus características y constituyentes, los que, a su vez, han demostrado resultados positivos en investigaciones.

Tomando como punto de partida, aquella realidad antes mencionada, me sobreviene la siguiente pregunta ¿Cuál es la eficacia del AE de muña (*Minthostachys mollis*) sobre *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina?

El estudio en cuestión se apoya en la creciente necesidad de producción de principios activos novedosos, revolucionarios y efectivos contra gérmenes resistentes de nuestro medio. Esto ya que dicho perfil de resistencia antibiótica se evidencia a nivel nacional sumado a distintos factores asociados tales como la pobre cultura de prevención, pobre acceso a las unidades prestadoras de salud sobre todo en el primer nivel de atención, sumado a la perjudicial cultura popular de la automedicación y el poco control en la dispensación de los antibióticos dan como resultado el incremento vertiginoso de la resistencia antibiótica en el Perú, es por tanto que consideramos como objetivo central de la presente tesis es establecer y definir la eficacia antimicrobiana del AE de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Enterococcus* resistente a vancomicina. De esta manera, los hallazgos de la presente investigación pueden constituir un fundamento para ampliar la comprensión de las propiedades del aceite esencial mencionado. Esto puede estimular la realización de investigaciones similares en busca de descubrir

nuevas propiedades y proporcionar una referencia crucial para incorporar esta planta en el desarrollo de medicamentos innovadores como alternativas para diversas patologías.

La finalidad primordial de esta investigación consistió en evidenciar las propiedades antibacterianas del AE de *M. mollis*, motivo por el cual nuestra hipótesis principal (H_1) plantea la eficacia del aceite esencial frente a *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, mientras que la hipótesis nula (H_0) plantea la no eficacia del aceite esencial frente a *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina. A continuación, se tocarán tópicos relacionados al ámbito de investigación sobre este espécimen a nivel nacional e internacional, desde sus características propias hasta los avances obtenidos en la actualidad en el ámbito de la medicina.

II. MARCO TEÓRICO

Sánchez y Collantes en el año 2021, pretendían a través del estudio acerca de la Actividad antimicrobiana de fracciones obtenidas del AE de *Minthostachys mollis* tales como éter de petróleo, diclorometano y metanol del AE frente a gérmenes orales, demostrar la eficacia y potencia antibacteriana del AE de muña frente a patógenos de la flora bacteriana de la cavidad bucal. El planteamiento del uso de dicho AE es debido a que posee características que le permiten ejercer efecto inhibitorio frente a gérmenes tales como *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus mutans*. Dicha investigación evidenció la sensibilidad de las cepas anteriormente mencionadas frente a las fracciones del AE de *M. mollis*, tomando especial relevancia la *Candida albicans* ya que fue la cepa que presentó mayor sensibilidad en el estudio, reflejado en los halos de inhibición de mayor longitud frente a los demás gérmenes evaluados.⁵

Se demostró significancia en dicho experimento entre las repeticiones demostradas con los controles positivos, por consiguiente, el estudio experimental dio como concluyente que las fracciones obtenidas del AE de *M. mollis* presentaron una elevada eficacia inhibitoria en el crecimiento de las especies bacterianas estudiadas, sin embargo se recomienda una mayor indagación en comparación con diversos patógenos y en concomitancia con antibióticos y/o antifúngicos que puedan proporcionar un control positivo.⁵

En 2021, Páucar, Peltroche y Cayo llevaron a cabo su investigación experimental in vitro con la finalidad de poder evidenciar de manera objetiva la capacidad antimicrobiana y antifúngica del AE de *M. mollis* en diferentes diluciones y concentraciones poniéndolas en contraste con antibióticos de potencia relativa tales como las tetraciclinas (Doxiciclina) y los triazoles antifungicos como el Fluconazol, contra patógenos como la *Candida albicans*, *Porphyromonas gingivalis* y *S. aureus*. La realización del experimento se desarrolló tomando en consideración la variable de tiempo y efectividad, proporcionando controles positivos como la Doxiciclina y el Fluconazol para poder medir el efecto obtenido por el AE. Se realizó controles de tiempo a las 24, 48 y 72 horas.⁶

Dicha investigación permitió evidenciar que el AE de muña a diferentes concentraciones demostraron poseer un efecto bactericida con menor potencia a diferencia de la Doxiciclina y menor efecto antifúngico que el Fluconazol. Asimismo, se determinó que la potencia y eficacia inhibitoria del AE presentó su pico máximo a las 24 horas, el cual con las horas fue mermando y disminuyendo significativamente, lo cual se ve reflejado en las evaluaciones efectuadas a las 48 y 72 horas de iniciado la incubación, es por tanto que este estudio concluye que existe una diferencia marcada entre los efectos antibacterianos del AE de muña en comparación a los controles positivos, en función a efectividad y duración de efecto, incluso a concentraciones mayores del AE.⁶

Villar y col. En 2021 se proponen la realización de una investigación experimental con el propósito de producir materias primas biodegradables, las cuales posean propiedades antibacterianas con el objetivo de optimizar y garantizar el buen estado de conservación de los alimentos.⁷ Debido a ello es que deciden crear biopelículas biodegradables que contengan AE de muña, dando como resultado que dichos biofilms presentaron una eficacia inhibitoria intermedia o aceptable frente a patógenos como *Aspergillus niger*, *E. coli*, *S. epidermidis* y *S. Aureus* por contacto directo con las biopelículas, las cuales tenían AE de muña en proporciones diferentes con el fin de evaluar crecimiento bacteriano potencial en los alimentos, se concluye que la actividad mostrada por el AE de muña es aceptable o intermedia en función a la inhibición de las colonias de bacterias estudiadas.⁷

Laura T. en el año 2019 nos presenta en su estudio acerca de la comparación de la eficacia de dos AE's de *M. mollis* (muña) y eucalipto, frente a especies bacterianas prevalentes en nuestro medio. Su investigación abordó la función de dichos agentes antimicrobianos naturales frente a Coliformes fecales y *S. Aureus* en un estudio realizado in vitro, llevando a cabo su experimento haciendo uso de distintas diluciones y concentraciones de ambos aceites con el fin de comparar la potencia inhibitoria de ambos, observada mediante la longitud de los halos de inhibición provocados.⁸ El estudio reveló que la potencia inhibitoria ejercida por el AE de eucalipto es mayor en cuestión de longitud de halos a la del AE de muña, esto evidenciado además en las diferentes concentraciones probadas de ambos aceites esenciales frente a los gérmenes propuestos, por tanto el estudio concluyó

que el AE de eucalipto presenta mayor inhibición en comparación al de muña, sin embargo, se demuestra además que ambos poseen actividad antibacteriana significativa frente a *S. Aureus* y Coliformes fecales.⁸

Campo M. y col. (2019) en su estudio “Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* contra el *Staphylococcus aureus*”⁹, se plantean realizar una evaluación para determinar la composición química y establecer el efecto antibacteriano de *Minthostachys mollis* frente a *Staphylococcus Aureus* en un análisis experimental in vitro.

Dicha investigación fue de utilidad para poder determinar a los terpenoides involucrados en la actividad inhibitoria de la muña, se evidencio como resultados que los principales implicados en dichos procesos inhibitorios son los monoterpenos como el neomentol, pulegona y mentona, los cuales otorgan la potencia antibacteriana al AE de muña frente a patógenos como *S. Aureus*. Se concluye así en esta investigación que dichos principios activos son los principales efectores de la acción antimicrobiana de grado aceptable frente a *Staphylococcus Aureus*.⁹

Huamaní y col. (2021), presentan en su estudio titulado “Comparison of the Antifungal Efficacy of Four Concentrations of *Minthostachys mollis* (Muña) Essential oil against *Candida Albicans*: An In Vitro Study”¹⁰, la determinación de la eficacia antifúngica del AE de *Minthostachys mollis* en cuatro concentraciones contra *Candida albicans*, tomando como referencia el efecto antifúngico del Fluconazol sobre dicho hongo. El estudio en cuestión se realizó in vitro tomando en cuenta los estándares solicitados tanto para la obtención del AE, así como el cultivo de los gérmenes. Al realizar la comparación de los resultados obtenidos se determinó que el AE de muña al 100% mostró una mayor actividad antifúngica a las 24, 48 y 72h de evaluación, sin embargo, también se demostró que el Fluconazol había obtenido mejores resultados en comparación al AE, determinando y concluyendo de esta manera la eficacia antifúngica del AE de muña al 100% y del mismo demostrando la mayor actividad antifúngica del Fluconazol.¹⁰

Además, la muña posee un aroma distinguible por los habitantes de las zonas donde dicho espécimen crece, su olor peculiar permite diferenciarla de plantas que presentan similares características.²

La muña en total posee 12 subespecies distribuidas en el continente americano, predominantemente en países como Argentina, Venezuela y principalmente en Perú, que alberga hasta 6 de esta variedad, repartida empezando por el norte en Cajamarca hasta el Sur en Cusco. El ambiente propicio para el crecimiento de la muña es a alturas mayores a los 2500 m.s.n.m. es por ello que se distribuye en mayor densidad en las zonas centrales del país. Las especies oriundas de nuestra nación son:

- *M. spicata*
- *M. setosa*
- *M. glabrenscas*
- *M. saticifolia*
- *M. tomentosa*
- *M. mollis*¹¹

Las principales moléculas de acción son la pulegona; la cual es uno de los agentes más tóxicos que posee la muña, la cual le provee de su característica plaguicida. Se le conoce también como poleo y no solo se usa como medicinal sino también en la industria de la perfumería y los saborizantes. La carvona posee propiedades digestivas y también se extiende su uso a la industria de los saborizantes; por otro lado, el linalol es materia prima en la elaboración de compuestos insecticidas, también es uno de los ingredientes menores de la *Minthostachys mollis*.¹²

La mentona es otro componente importante de la muña ya que, junto a su par, la pulegona, significan aproximadamente el 75% de la composición del aceite y ambos son los que confieren en gran parte las propiedades digestivas y su característico sabor a menta. El *Carvacrol* no es un componente exclusivo de la muña, ya que además se encuentra en diversas plantas tales como el orégano o el tomillo, su preponderancia es menos proporcional a la de los demás compuestos, sin embargo, junto a la mentona y la pulegona son los principales activos antibacterianos de la muña.¹²

El mentol y el timol son los compuestos con mayor popularidad y uso, principalmente empleados para mitigar el dolor de garganta y como antiséptico y

antitusígeno respectivamente. Ambos son compuestos menores del A.E de *Mintostachys mollis*, pero posee un importante efecto medicinal en afecciones de las vías respiratorias altas.¹²

La resistencia de *Enterococcus spp.* a la vancomicina se obtiene mediante la determinación del valor de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Existe un órgano encargado de dichos valores obtenidos sobre sensibilidad bacteriana, éste se conoce como el Comité Europeo sobre pruebas de Susceptibilidad antimicrobiana (EUCAST), este ente determina que una concentración menor o igual 4 mg/mL se considera con sensibilidad, mientras que si la concentración mínima inhibitoria es mayor a 4 mg/dL se le considera resistente. Por otra parte, una guía orientada sobre estándares de laboratorio proporcionada por El Instituto para los Estándares Clínico y de Laboratorio (CLSI) determina estándares distintos a la EUCAST, considerando como sensible o susceptible cuando la concentración es menor o igual a 4 mg/mL y considera resistencia si dicha concentración es mayor a 32 mg/dL, además menciona que todo valor que quepa dentro de dicho rango se le determina como un efecto intermedia y que, según recomendación de dicho instituto, no amerita manejo antibiótico con vancomicina.¹³

El mecanismo de acción farmacodinámico de los glucopéptidos como la vancomicina se fundamenta en la unión a la D-alanilD-alanina terminal de los péptidos precursores del recubrimiento celular, además de ello, alteran todo el metabolismo enzimático para la síntesis de la misma.¹³ La intervención de diferentes genes tales como en vanA, B, D y M son los que principales implicados en la resistencia a la vancomicina de parte del agente patógeno. Como resultado de dicha codificación, se sustituyen los terminales D-Ala-D-Ala por terminales de lactato, a los cuales la vancomicina presenta afinidad significativamente menor, esto genera que la CMI de este antibiótico aumente hasta casi 1000 veces, produciendo así la resistencia. VanA es el gen más común implicado en la resistencia a la vancomicina y además a la telcoplanina. Cabe mencionar que dicho gen no solo se expresa en especies de *Enterococcus spp.*, sino también en gérmenes tales como el *Staphylococcus aureus*, por lo cual se ha demostrado resistencia a la vancomicina.¹³

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

3.1.1. Tipo de investigación:

- Cuantitativo

3.1.2. Diseño de investigación:

- Experimental puro

3.2. Variables y operacionalización

3.2.1. Variables:

- Dependiente: Efecto antibacteriano
 - *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina
 - Eficaz
 - No eficaz
- Independiente: Agente antibacteriano
 - a. *Minthostachys mollis*
 - b. Ciprofloxacino

- Matriz de operacionalización de variables: Ver anexo 1

3.3. Población, muestra y muestreo

3.3.1. Población:

- La población se encuentra conformada por cepas de *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina.

Criterios de Selección:

▪ **Criterios de inclusión:**

- ✓ Cepas de *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina que se mantuvieron indemnes y en las cuales no se produjo algún daño que pueda condicionar su respuesta frente al AE de *M. mollis*.

✓ Cepas de *Enterococcus spp.* aptas para activación incubadas entre 16 y 20 horas.

▪ **Criterios de exclusión:**

✓ Cepas de *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina que no se mantuvieron indemnes y en las cuales no se produjo algún daño que pueda condicionar su respuesta frente al AE de *M. mollis*.

✓ Cepas de *Enterococcus faecalis* no aptas para activación y no muestren crecimiento.

3.3.2. Muestra

- Para poder determinar la muestra de la presente tesis, se hizo uso de la fórmula de diferencia de medias que correspondió a los halos de inhibición y el número de repeticiones por cada conjunto de experimentación.

Cálculo del tamaño de la muestra – Ver anexo 2

3.3.3. Muestreo:

- No probabilístico. Se seleccionaron mediante la técnica de muestreo simple aleatorio sobre cada grupo de observación.

3.3.4. Unidad de análisis

- Cepas de *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1. Técnicas:

- Se hizo uso de la técnica de recolección de datos mediante la observación directa sobre la inhibición de crecimiento de

colonias de *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina.

3.4.2. Instrumento:

- Se hizo uso de una ficha de recolección de datos, la cual brindo los datos necesarios para la realización de esta tesis, con información detallada de los principios activos empleados.

Procedimientos:

Obtención del aceite esencial:

El aceite esencia de muña (*Minthostachys mollis*) al 100% con una pureza certificada fue obtenido de la empresa NUA PERÚ (<https://www.nuaperu.com/>), los cuales son producidos a través del método de arrastre con vapor de agua y cuentan con pureza certificada. (ver Anexo)

Evaluación de la actividad antimicrobiana:

- Método de Kirby-Bauer:** Se usó la técnica microbiológica Kirby-Bauer de disco difusión en agar para poder evaluarlo. En este caso, se tuvo en cuenta los parámetros establecidos por la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Se tomaron consideración y énfasis en los apartados M02-A12 y M100.¹⁵

- Elaboración del inóculo

Para preparar el cultivo inicial o inóculo, se adicionó una alícuota del microorganismo *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, con cultivo de 16-20 horas, a 3-4 ml de sodio cloruro al 0.9% en un tubo de ensayo previamente esterilizado para crear el inóculo, cuya turbidez del tubo debe ser de 0,5 en la escala de McFarland (1,5 x 10⁸ CFU/ml) cuando se mide.

- Siembra de microorganismos

La siembra de *Enterococcus faecalis* se llevó a cabo al cubrir en su totalidad el medio de cultivo en las placas Petri haciendo uso de un hisopo debidamente estéril que haya sido sumergido en el inóculo, para luego realizar la siembra por estrías en la superficie, logrando así una capa del microorganismo.

- Método de diluciones del Aceite Esencial (AE)

Se tomaron en cuenta 3 diluciones del AE de *Minthostachys mollis* (100%, 75% y 50%), haciendo uso de Dimetil Sulfóxido (DMSO); se procedió a rotular los tubos de ensayo previamente esterilizados, dichos tubos contienen las concentraciones previamente determinadas y luego se procedió a colocar 750 µL de aceite esencial y 250 µL de Dimetil Sulfóxido al tubo de 75% y 500 µL de aceite esencial y 500 µL de Dimetil Sulfóxido al tubo de 50%.

- Elaboración de los discos de sensibilidad

Teniendo las concentraciones determinadas del AE, se colocó 10 microlitros sobre cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6 mm de longitud cada uno debidamente esterilizados. Se tomó 10 microlitros de aceite esencial a concentración de 0.5 en uno de los discos, 10 microlitros de aceite a concentración de 0.75 en otro disco y por último adicionamos 10 microlitros de aceite al 100% en otro disco. Además, se agregó el control positivo en un disco estéril con Ciprofloxacino a 5 microlitros de dosis.

Llevándose a cabo 10 repeticiones por cada disco.

- Microorganismo frente a agente antimicrobiano

Haciendo uso de una pinza previamente esterilizada, se tomó los discos de sensibilidad previamente elaborados y se colocaron en el medio de cultivo previamente preparado con el microorganismo *Enterococcus faecalis*, de manera que cada disco se ubicó a 1 cm del borde de la placa de manera que la distancia entre todos los discos y el borde

fue de 1 cm en cada uno, por otro lado, se usó un disco con 5 µL de Ciprofloxacino como control positivo. Posterior a un reposo de 15 a 20 minutos de las placas, se invirtió y procedió a incubarse a 35-37°C por 16-20 horas.

- Lectura y análisis

Haciendo uso de la regla de Vernier, se procedió a medir la longitud transversal de las zonas inhibitorias con nulo crecimiento de *Enterococcus faecalis* para cada una de las concentraciones de *Minthostachys mollis* y también para el disco de Ciprofloxacino. Se hizo el análisis correspondiente según los criterios de CLSI para determinar cómo sensible o resistente.

- Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se preparó 9 tubos de ensayo con 2 mL de Caldo de Trypticase Soya a los cuales se les adiciona el aceite esencial de *Minthostachys mollis* de tal modo que el caldo de cultivo quede con aceite esencial a concentraciones de 0.78 µL, 1.56 µL, 3.13 µL, 6.25 µL, 12.5 µL, 25 µL, 50 µL, 100 µL y 200 µL. Posteriormente se adicionó 100 µL del inóculo de *Enterococcus faecalis* para luego incubarlo a 37°C por 24 horas. Mediante la turbidez de los tubos de ensayo se determinó la CMI, teniendo en cuenta al tubo con turbidez a la mínima concentración de aceite esencial.

3.5. Método de análisis de datos

Para la realización del análisis de los datos recolectados en la presente tesis haremos uso de la estadística descriptiva, con el fin de describir los halos de inhibición de cada caso, se sobreentiende que se hará uso de medidas de tendencia central y medidas de dispersión. Además del uso de tablas que comparen la eficacia o no eficacia de los controles. Se usará el análisis de varianza (ANOVA) obtenidos mediante el software IBM SPSS Statistics.

3.6. Aspectos éticos

El presente trabajo se llevó a cabo tomando énfasis en aspectos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, teniendo mayor interés en los numerales 12,14, 22, 23 y 24. Se pretende acato del código de Ética y Deontología del CMP. Para finalizar, es importante mencionar que para la elaboración de esta tesis no se necesitó el consentimiento informado ya que solo se trabajó con cepas bacterianas aisladas en un laboratorio y se analizaron los resultados de la interacción entre las variables ya establecidas.¹⁶

Se hace mención al artículo II, inciso 10 de la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, se insta que la adquisición de bienes forestales debe ser lícita para obtener plantas para fines de investigación, es por tanto que se reconoce que la adquisición de las especies para este proyecto se rige bajo los estatutos de dicha ley.¹⁷

IV. RESULTADOS

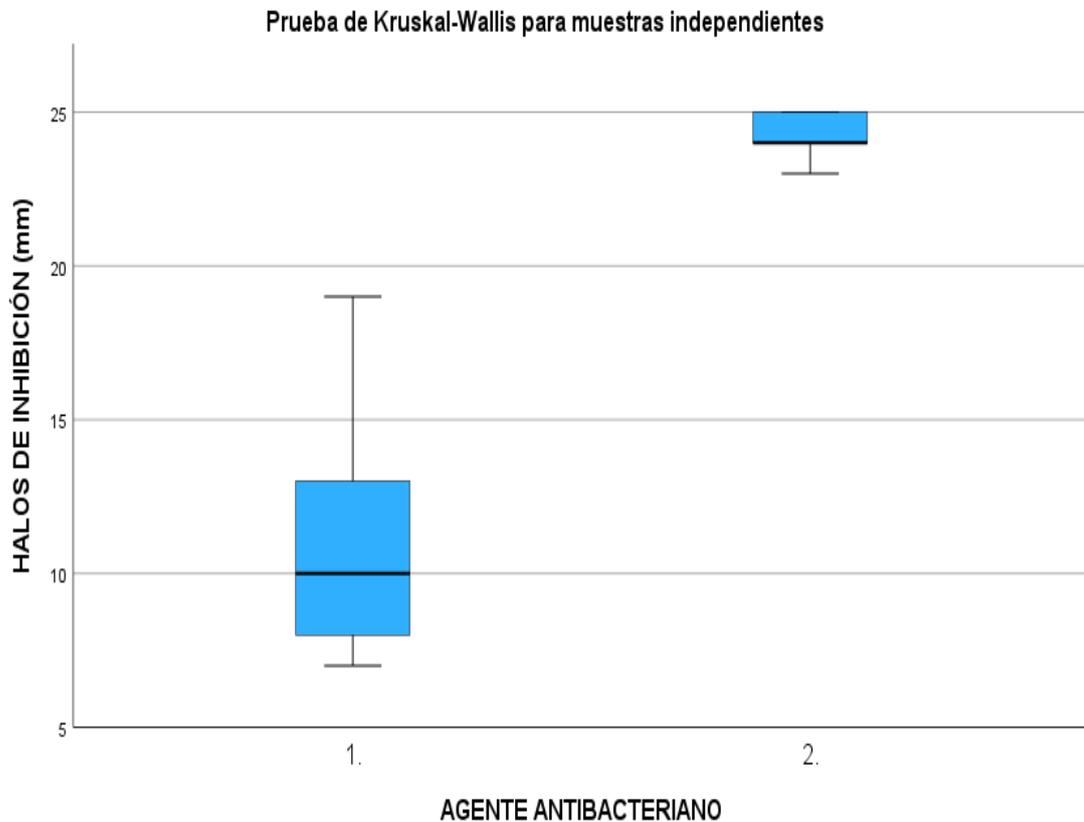
TABLA 1: Descripción de la actividad antimicrobiana del AE de *M. mollis* y Ciprofloxacino sobre *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, in vitro

Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i>	Zona de inhibición						
	Media (mm)	Desviación estándar	Error estándar	Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
50%	7.60	0.52	0.163	7.23	7.97	7	8
75%	10.00	0.82	0.26	9.42	10.58	9	11
100%	14.30	2.58	0.82	12.45	16.15	11	19
Ciprofloxacino	24.20	0.79	0.25	23.64	24.76	23	25

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver.26

INTERPRETACIÓN: La media del efecto antibacteriano del AE de *Minthostachys mollis* al 100% fue de 14,30, siendo inferior a los estándares establecidos por la CLSI que determinan un halo de inhibición menor a 16 milímetros es considerado como resistente, por lo tanto, es resistente o ineficaz contra *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina. Mientras que, el Ciprofloxacino mostró una media de 24,20, siendo esta la medida terapéutica más eficaz para el patógeno.

GRÁFICO 1: Descripción del efecto antibacteriano del AE de *M. mollis* sobre *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, in vitro



INTERPRETACIÓN: En los controles del AE de *Minthostachys mollis* a concentraciones del 100% se halla una media de los halos inhibitorios de 14,30 que dista significativamente del grupo de control positivo de Ciprofloxacino, el cual mostró una media de 24,20. Se evidencia en las gráficas la marcada diferencia entre los rangos obtenidos de ambos agentes antimicrobianos.

El aceite de *Minthostachys mollis* al 100% muestra una media de longitud de halo de inhibición de 14,30 que no logra alcanzar los valores obtenidos por el control positivo de Ciprofloxacino que presentó una media de 24,20.

TABLA 2: ANOVA de las medias de los halos de inhibición presentada por el AE de *M. mollis* y Ciprofloxacino, in vitro

Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i>	Suma de cuadros	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1610.875	3	536.958	260.870	0.00
Dentro de grupos	74.100	36	2.058		
Total	1684.975	39			

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver.26

INTERPRETACIÓN: Se revela que, los resultados obtenidos en la presente investigación son significativamente distintos, esto debido a que el $p=0,00$, demostrando un alto nivel de significancia entre los valores obtenidos.

TABLA 3: Prueba Tukey de comparación de la actividad antimicrobiana del AE de *Minthostachys mollis* y ciprofloxacino, in vitro

Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i>	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
50%	10	7.60			
75%	10		10.00		
100%	10			14.30	
Ciprofloxacino	10				24.20
Sig.		1.00	1.00	1.00	1.00

Fuente: Reporte de resultados SPSS Ver.26

INTERPRETACIÓN: Se observa que, al comparar la terapia, el ciprofloxacino fue quien obtuvo realmente un efecto positivo contra *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, debido a que el fármaco mostró un halo inhibitorio con una longitud de 24,20; posicionando como la terapia de elección en cuanto al tratamiento versus el patógeno se refiere.

V. DISCUSIÓN

Los enterococos representan patógenos significativos en entornos hospitalarios debido a la complejidad en su tratamiento, que se ve afectado por su resistencia a múltiples medicamentos de forma natural, así como por la capacidad de adquirir nuevos genes de resistencia.¹⁸ Los Enterococos son reconocidos como agentes primarios en infecciones adquiridas en entornos hospitalarios, especialmente *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. Estos microorganismos son responsables de infecciones severas como sepsis, infecciones neurológicas, afecciones dermatológicas, cardíacas, pulmonares, abdominales y, la más comunes, las urinarias.^{19, 20}

Los enterococos se distinguen por su resistencia natural a una amplia gama de antibióticos y su habilidad para desarrollar resistencias adicionales. Su resistencia inherente a los β -lactámicos se refleja en niveles más altos de concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) en comparación con los encontrados en el género *Streptococcus*.²⁰

Productos no farmacológicos y, tan comunes en nuestra realidad como el *Minthostachys mollis*, la cual se identifican por ser un arbusto perfumado que se encuentran típicamente en los Andes sudamericanos²¹, es utilizada en nuestro país desde hace años ya sea como ingrediente gastronómico, como parte de cultos y creencias de nuestros ancestros, sino también como medicina tradicional para diversos dolores como el abdominal o el urinario, debido a que se le atribuye cualidades similares a la de los antibióticos a predominio de bacterias Gram + y -.²²

Es por ello que nuestra investigación experimental pretende determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina comparado con ciprofloxacino in vitro.

Motivo por el cual se utilizaron las directrices vigentes de la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) las cuales establecen la eficiencia frente a *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina que debe tener una turbidez del tubo de 0,5 en la medición de McFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) y halos de inhibición mayores a 15 mm

cuando se mide en relación al método Kirby Bauer, el cual fue aplicado en este informe.

En los controles obtenidos (ver Anexo 3) podemos observar el halo inhibitorio en cada control y a distintas concentraciones del AE de *Minthostachys mollis*, encontrando relación en que mientras la concentración de AE es mayor, el efecto antimicrobiano se comporta de manera directamente proporcional a esta, contemplado de manera visible en los halos de inhibición más grandes en comparación a sus controles similares a diferentes concentraciones.

A concentraciones del 50% del AE de muña obtuvimos que los halos de inhibición no superaron los 8 mm de longitud en la medición, ni descendió bajo los 7 mm, se mantuvo dicho patrón en las 10 repeticiones obtenidas. Al compararlo con sus similares a concentración de 75% obtuvimos que los halos de inhibición mostraron un incremento en la longitud de los mismos.

Se determinó además que, en cada control realizado administrando el aceite esencial al 75%, los halos de inhibición mantuvieron un patrón similar a los demás. Teniendo como mínimo una longitud de 9 mm y máximo 11 mm, dicho hallazgo nos permite apreciar la relación directamente proporcional de la concentración del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y la capacidad antimicrobiana sobre *Enterococcus* vancomicina resistente medida en la longitud de los halos de inhibición.

Al observar los controles realizados con el aceite esencial al 100% de pureza pudimos apreciar que los halos de inhibición crecieron significativamente incluso llegando a mostrar halos de hasta 19 mm en dos repeticiones realizadas, encontramos además un control con un halo de inhibición de 11 mm, siendo éste, el mínimo valor obtenido a esta concentración de aceite esencial. Dichos resultados evidencian la capacidad antimicrobiana lograda por la administración del AE de *Minthostachys mollis* sobre *Enterococcus faecalis* vancomicina resistente.

Según nuestra matriz de variables, nos presenta efectividad mediante halos de inhibición mayores a 20 mm, a la observación encontramos que el 0% de las repeticiones al 100% del aceite esencial mostraron capacidad para superar dicho halo de inhibición, mostrando así actividad antimicrobiana observable o intermedia.

Cabe mencionar que dicho punto de corte no fue superado por los halos encontrados en las diferentes repeticiones y controles a diferentes concentraciones, ya que a la observación con un 0.75, 0.50 y 1.0, de concentración del AE, ningún halo de inhibición logró superar los 11 mm, 8 mm y 19 mm respectivamente, demostrando así que no lograron efectividad antimicrobiana a esas concentraciones. Queda demostrado que la concentración del aceite esencial es directamente proporcional a la actividad antimicrobiana observada en las placas.

Los resultados obtenidos nos permitieron cumplir con los objetivos de la investigación. De acuerdo con la Tabla 1, se observa que el promedio de la longitud de la zona inhibitoria causada por el AE de *Minthostachys mollis* al 100% mostró una longitud de 14,30, mientras que a un 75% fue de 10,00 y a un 50% fue de 7,30. Estos valores indican una actividad antibacteriana resistente en contra de la cepa de *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, siguiendo las pautas del CLSI. Al ponerlo en contraste con el grupo de control positivo de Ciprofloxacino, se revela una actividad menor del AE, esto ya que dicho grupo control presentó un promedio de longitud de halo de inhibición de 24.20.

Los resultados provenientes del presente informe investigativo demuestran similitud a los adquiridos en la investigación del 2021 realizado Páucar, Peltroche y Cayo⁵ en el cual se observó que *Minthostachys mollis* a diferentes concentraciones demostraron poseer una eficacia antimicrobiana con menor significancia a diferencia de Doxiciclina y Fluconazol, los cuáles fueron el grupo control. Por otro lado, Sánchez y Collantes en el año 2021⁴ determinaron que AE de *Minthostachys mollis* mostró eficiencia contra cepas de *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *S. mutans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Lactobacillus acidophilus*, debido a sus propiedades antimicrobianas.

La efectividad antibacteriana se atribuye a las propiedades medicinales ancestrales de la muña, que desde épocas preincas ha sido reconocida por las cualidades curativas de sus hojas. Estas hojas no solo funcionan para reducir tumores, sino que también se utilizan como antiinflamatorios, antiespasmódicos y antirreumáticos. Cuando se preparan en infusión con miel, ayudan a limpiar la flema en el pecho y a tratar llagas en el pulmón, riñones y vejiga. La muña, empleada en

infusiones, es efectiva para aliviar cólicos por gases y diarreas, tiene propiedades carminativas y es útil en el abordaje de diferentes patologías de la piel, además de tener propiedades expectorantes.

La Tabla 2 revela, a través del análisis de varianza (ANOVA), que hay una disparidad sustancial en relación de los valores promedio de las zonas de inhibición en los conjuntos estudiados ($p=0,000$), tanto para el AE de *Minthostachys mollis* en concentraciones de 0.5, 0.75% 1.0, como para el ciprofloxacino.

La Tabla 3 demuestra los resultados de la prueba post hoc de Tukey, indicando que el ciprofloxacino exhibió una mayor actividad antibacteriana en comparación con los aceites esenciales. El promedio de los valores de los halos de inhibición para el ciprofloxacino fue de 24,20, demostrando su eficacia in vitro, esto de acuerdo a los estándares de la CLSI que contempla sensibilidad a halos inhibitorias mayores a 21 milímetros.

Las disparidades identificadas podrían atribuirse a las variaciones en la calidad, composición y propiedades de los aceites esenciales, las cuales están influenciadas por la región geográfica, los métodos de recolección, las variables y estados del clima (T° , grado de humedad en el ambiente) y el intervalo de tiempo en el que se hayan obtenido. Estos factores podrían interferir en la efectividad antibacteriana de dichos aceites esenciales.

El ciprofloxacino se utilizó como control positivo debido a su inclusión en el esquema terapéutico actual. Este fármaco es estable y activo contra microorganismos grampositivos facultativos anaerobios como *Enterococcus faecalis*, y su accesibilidad en el Perú lo convierte en una opción común. Sin embargo, se observa una resistencia moderada frente a diversos gérmenes prevalentes de nuestro medio, lo que motivó este estudio a buscar opciones factibles dentro de la medicina natural y las practicas ancestrales de la cultura nacional.

Tras analizar los resultados obtenidos en la presente investigación experimental, se rechaza la hipótesis principal de que el AE de *Minthostachys mollis* posee una

eficacia antibacteriana intermedia o aceptable, debido a mostrar halos de inhibición que no superan los estándares de la CLSI y se toma por válida la hipótesis nula.

VI. CONCLUSIONES

- Se concluye con el presente informe experimental rechaza la hipótesis principal, hallando que el AE de *Minthostachys mollis* en diferentes concentraciones demuestra resistencia con respecto de actividad antibacteriana frente al patógeno expuesto. Se acepta la hipótesis nula.
- Comparado con el producto no farmacológico, se concluye que el Ciprofloxacino ejerce una mayor acción antibacteriana contra *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, mostrando halos de inhibición >20 mm, siendo el germen, sensible ante dicho antibiótico según estándares mostrados en la CLSI.

VII. RECOMENDACIONES

- Contrastar las propiedades antibacterianas del AE de *Minthostachys mollis* en las diferentes regiones del país sobre *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, esto debido a que el perfil de resistencia bacteriana suele cambiar en diferentes locaciones.
- Continuar realizando estudios in vitro comparando el potencial y eficiencia inhibitoria del AE de muña y sus derivados con el fin de evaluar su eficacia, cotejando con diversas especies patógenas prevalentes en nuestro país.
- Realizar estudios in vivo con animales, inoculando el *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina, para evaluar la efectividad, toxicidad y otros efectos del AE de muña, para obtener una dosis en humanos, a su vez poder determinar su perfil de seguridad y su dosis tóxica en humanos.
- Realizar trabajos de investigación sobre el sinergismo entre el AE de *Minthostachys mollis* y el Ciprofloxacino.

REFERENCIAS

1. Lock O, Pérez E, Villar M, Flores D, Rojas R. Compuestos bioactivos de plantas usadas en la medicina tradicional peruana. [Internet]. 2016 [Citado: 2023 mayo 08]; 11(3): 315-37. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27169179/>
2. Dhifi W, Bellili S, Jazi S, Bahloul N, Mnif W. [Internet]. 2016. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. Medicines. 2016 [Citado: 2023 mayo 08] 3(4), 25. Disponible en: doi:10.3390/medicines3040025
3. Rojas-Armas, J. P., Arroyo-Acevedo, J. L., Ortiz-Sánchez, J. M., Palomino-Pacheco, M., Hilario-Vargas, H. J., Herrera-Calderón, O., & Hilario-Vargas, J. (2019). Potential Toxicity of the Essential Oil from *Minthostachys mollis*: A Medicinal Plant Commonly Used in the Traditional Andean Medicine in Peru. Journal of Toxicology, 2019, 1–9. doi:10.1155/2019/1987935
4. Torrenegra A. Granados C. Duran M. León G. Yáñez R. Martínez C, et al. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. [Internet]. 2016 [Citado: 2023 mayo 08]: 20(1). [Aproximadamente 6 pp]. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012137092016000100008&script=sci_abstract&tlng=es
5. Sanchez T. Collantes I. Actividad antimicrobiana de fracciones obtenidas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a patógenos orales. 2021. Mayo. [Citado: 2023 mayo 08]; 20 (4): [aproximadamente 12 pp]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/1804/180468227015/html/>
6. Paucar E. Peltroche N. Cayo C. Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral. 2021. Febrero. [Citado: 2023 mayo 08]; 19pp. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v40s1/1561-3011-ibi-40-s1-e1450.pdf>

7. Villar K. Ruiz G. Fuertes C. Biopelículas a base de quitosano y aceite esencial de *Minthostachys Mollis* (Muña) con propiedades antioxidante y antimicrobiana. 2021. Diciembre. [Citado: 2023 mayo 08]; 87 (4). Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810634X2021000400309&script=sci_arttext&tlng=pt
8. Laura T. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales de eucalipto (*Eucalyptus globulus labill*); muña (*Minthostachys mollis*) frente a *Staphylococcus aureus* y Coliformes fecales. [Tesis para optar el título profesional de Ingeniero de alimentos]. Juliaca: Universidad Peruana Unión; 2019.
9. Campo M, Ambuludí D, et all. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* contra el *Staphylococcus aureus*. Revista Cubana de Farmacia [Internet]. 2019 [Citado: 2023 mayo 08]; 51 (4) Disponible en:
<https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/183>
10. Huamaní K, Vilchez L, Mauricio F, Jáuregui H, Munive-Degregori A, Mayta-Tovalino F. Comparison of the Antifungal Efficacy of Four Concentrations of *Minthostachys mollis* (Muña) Essential Oil against *Candida albicans*: An In Vitro Study. Journal of Contemporary Dental Practice. 2021;22(11):1227-1231. doi: 10.5005/jp-journals-10024-3225
11. Medalith G. efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*, tesis para optar el título profesional de cirujano dentista, UNMSM- Lima, Perú; 2014. Disponible en:
https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3680/Huari_gg.pdf?sequence=1&isAllowed=y
12. Mora F. cols. Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil *Minthostachys mollis* from Venezuela Andes. Natural Product

- communications, Mora F. et al, 2009; 4(7). Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X0900400726>
13. Rubinstein E, Keynan Y. Vancomycin-resistant enterococci. Crit Care Clin. 2013 oct;29(4): Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccc.2013.06.006>
14. Manual MSD versión para profesionales [Internet]. [citado 27 de junio de 2023]. Generalidades sobre los fármacos antibacterianos – Enfermedades infecciosas. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/espe/professional/enfermedadesinfecciosas/bacterias-y-f%C3%A1rmacosantibacterianos/generalidades-sobrelosf%C3%A1rmacosantibacterianos?query=Introducci%C3%B3n%20a%20los%20antibi%C3%B3ticos>
15. CLSI-2020.pdf [Internet]. [citado 20 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf>
16. CÓDIGO DE ETICA Y DEONTOLOGÍA
17. LFFS-Y-SUS-REGLAMENTOS.pdf [Internet]. [citado 30 de junio de 2023]. Disponible en: https://www.serfor.gob.pe/portal/wpcontent/uploads/2016/03/LFFS-Y_SUS-REGLAMENTOS.pdf
18. Melo-Cristino J, Resina C, Manuel V, Lito L, Ramirez M. First case of infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. Lancet. 2013 Jul. Disponible en: www.thelancet.com/Infectionwithvancomycin-resistant-Vol-382-Ju013/doi
19. Cercenado E. *Enterococcus*: resistencias fenotípicas y genotípicas y epidemiología en España. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011; 29 (Supl 5): 59 – 65.
20. Arredondo J, Echeguren A, Arzate P, Medina J. Susceptibilidad antimicrobiana de *Enterococcus faecalis* y *faecium* en un hospital de tercer nivel. Rev Latin Infect Pediatr 2018; 31 (2): 56 – 61

21. Ayats J. RESISTENCIA A LA VANCOMICINA EN EL GÉNERO *Enterococcus*. [Internet] [Consultado y citado el 27 de noviembre del 2023]. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/envancor.pdf>
22. Ambuludí D; Cepeda N. ESTUDIO FITOQUÍMICO PRELIMINAR DEL FOLLAJE DE *Minthostachys mollis* Griseb CULTIVADA EN QUITO. [Internet] [Consultado y citado el 27 de noviembre del 2023]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/3704/12/minthostachys%20mollis%20tesis.pdf>
23. Horna Huamán, Gabriela. Eficacia Antibacteriana De *Zingiber officinale* Y *Propolis de apis* Mellifera sobre *Helicobacter Pylori* Comparado Con Amoxicilina Más Claritromicina in Vitro. 2020. [Internet] [Consultado y citado el 27 de noviembre del 2023]. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCVV_fd11e5488b6ed1a3f049749d8f9710a6/Details

ANEXOS

ANEXO 1:

Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
VI: Agente antibacteriano	Se define de este modo a aquella sustancia capaz de eliminar patógenos bacterianos o que sea capaz de inhibir su crecimiento y desarrollo sin resultar en daño del organismo ni del ambiente ni del objeto donde se halle	Grupos experimentales: G1: Aceite esencial de <i>Minthostachys mollis</i> Grupo de control positivo: Ciprofloxacino	Polifenoles totales (mg/ml) Ciprofloxacino 5µg.	Cualitativa nominal
VD: Eficacia antibacteriana	“Resultado de una acción o fuerza inhibitoria o que destruye microorganismos, puede ser bactericida o bacteriostático”, capacidad de erradicar o detener el crecimiento bacteriano.	Se medirá mediante los halos de inhibición: Sensible: > 21 mm Intermedio 16-20mm Resistente <16 mm	Eficaz No eficaz	Cualitativa nominal

ANEXO 2:

Fórmula para cálculo de tamaño de muestra

En donde:

- n: Número total de placas para utilizar como muestra
- $Z_{\alpha/2} = 1.96$.
- $Z_{\beta} = 0.84$
- $\delta\delta = 1.53$
- $X_1 = 20$ mm, medida del halo inhibitorio de Ciprofloxacino
- $X_2 = 18$ mm, medida del halo inhibitorio de *Minthostachys mollis*

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2S^2}{(X_1 - X_2)^2}$$

$$n = (1.96 + 0.84)^2 \times 1.53 / (20-18)^2$$

$$n = 5.99$$

ANEXO 3:

Resultados controles *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina frente a aceite esencial de *Minthostachys mollis*

CONTROLES	100%	75%	50%	Ciprofloxacino
1	13 mm	10 mm	08 mm	25 mm
2	15 mm	11 mm	07 mm	23 mm
3	13 mm	10 mm	08 mm	24 mm
4	17 mm	11 mm	08 mm	25 mm
5	13 mm	10 mm	07 mm	24 mm
6	11 mm	09 mm	07 mm	24 mm
7	13 mm	09 mm	07 mm	24 mm
8	19 mm	11 mm	08 mm	23 mm
9	17 mm	10 mm	08 mm	25 mm
10	12 mm	09 mm	08 mm	25 mm

ANEXO 4: Certificación de *Minthostachys mollis*

ACEITE ESENCIAL DE MUÑA

Ficha técnica



Identidad:	Aceite esencial de muña
Parte de la planta extraída:	Partes aéreas
Nombre botánico:	<i>Minthostachys mollis</i>
Familia botánica:	Lamiaceae
País de origen:	Perú
Cultura:	Orgánica
Proceso para la obtención:	Destilación completa por arrastre de vapor
Calidad:	Aceite esencial definido botánica y bioquímicamente (HEBBD) 100% puro (libre de otros aceites esenciales) 100% integral (sin decoloración, sin detergencia, sin rectificación) 100% natural (no desnaturalizado con moléculas sintéticas)
Presentación:	Botellas de vidrio ámbar con gotero
Fecha de producción:	Octubre 2022
Usar antes de:	Octubre 2026
Propiedades organolépticas:	Apariencia: Líquido límpido móvil Color: Incoloro a amarillento Olor: Fresco, herbal y mentolad
Solubilidad:	Insoluble en agua
Composición:	Principales componentes bioquímicos - Cromatografía de gases: Pulegona (46.70%), mentona (15.89%), isomentona (13.34%), linalol (2.94%), cariofileno (2.03%), carvacrol acetato (1.85%)

*Según la DIGEMID este producto no requiere registro sanitario por ser comercializado como un insumo para aromaterapia (expediente N° 10-072279-1)

ANEXO 5: Certificación de análisis

Cliente de bioMérieux:
Equipo N°:

Informe de examen

Editado por: Labadmin

Aislamiento: ATCC51299-1 (Aprobado)

Tipo de tarjeta: GP Código de barras: 2422404503650184 Prueba de instrumento: 00001D698A11 (Serial No. 5322)

Tipo de tarjeta: AST-P663 Código de barras: 8232378203416693 Prueba de instrumento: 00001D698A11 (Serial No. 5322)

Técnico de preparación: Laboratory Administrator(Labadmin)

Bionúmero: 116002765773671

Cantidad de organismo:

Organismo seleccionado: **Enterococcus faecalis**

Comentarios:	
---------------------	--

Información de identificación	Tarjeta: GP	N° de lote: 2422404503	Fecha caduc.: 26-jun-2024 12:00 COT
	Estado: Final	Tiempo de análisis: 6,00 horas	Finalizado: 17-jun-2023 18:29 COT
Origen del organismo	VITEK 2		
Organismo seleccionado	97% Probabilidad Enterococcus faecalis Bionúmero: 116002765773671 Nivel de confianza: Identificación excelente		
Organismos de análisis y pruebas a separar:			
Mensajes análisis: No se requieren los siguientes antibióticos: Detección de cefoxitina, Oxacilina, Ceftarolina, Resistencia inducible a clindamicina, Rifampicina, Trimetoprima/Sulfametoxazol,			
Perfil(es) típico(s) contraindicante(s) Enterococcus faecalis LeuA(79),AGLU(83),			

Información de sensibilidad	Tarjeta: AST-P663	N° de lote: 8232378203	Fecha caduc.: 31-may-2024 12:00 COT
	Estado: Final	Tiempo de análisis: 9,90 horas	Finalizado: 17-jun-2023 22:29 COT
Información de sensibilidad	Estado: Final	Tiempo de análisis: 9,90 horas	Finalizado: 17-jun-2023 22:29 COT

Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación
Detección de cefoxitina			Eritromicina	≥ 8	R
Bencilpenicilina	2	S	Clindamicina		
Ampicilina	≤ 2	S	Linezolid	1	S
Oxacilina			Daptomicina	≥ 8	
Ceftarolina			Vancomicina	≥ 32	R
Gentamicina de nivel alto (sinergia)	SYN-R	R	Tetraciclina	≤ 1	S
Estreptomina de nivel alto (sinergia)	SYN-R	R	Nitrofurantoína	≤ 16	S
Ciprofloxacino	≤ 0,5	S	Rifampicina		
Levofloxacino	0,5	S	Trimetoprima/Sulfametoxazol		
Resistencia inducible a clindamicina					

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02

Guía de interpretación de CMI: Copia de Global CLSI-based CLSI M100 (2023)

Nombre de juego de parámetros de AES: Copia de Global CLSI-based+Natural Resistance 2023

Guía de interpretación terapéutica: Copia de NATURAL RESISTANCE

Última modificación de parámetros de AES: 21-mar-2023 12:26 COT

Información de sensibilidad	Tarjeta: AST-P663	N° de lote: 8232378203	Fecha caduc.: 31-may-2024 12:00 COT
	Estado: Final	Tiempo de análisis: 9,90 horas	Finalizado: 17-jun-2023 22:29 COT

Antibiótico	CMI	Interpretación	Antibiótico	CMI	Interpretación
Detección de cefoxitina			Eritromicina	>= 8	R
Bencilpenicilina	2	S	Clindamicina		
Ampicilina	<= 2	S	Linezolid	1	S
Oxacilina			Daptomicina	>= 8	
Ceftarolina			Vancomicina	>= 32	R
Gentamicina de nivel alto (sinergia)	SYN-R	R	Tetraciclina	<= 1	S
Estreptomina de nivel alto (sinergia)	SYN-R	R	Nitrofurantoína	<= 16	S
Ciprofloxacino	<= 0,5	S	Rifampicina		
Levofloxacino	0,5	S	Trimetoprima/Sulfametoxazol		
Resistencia inducible a clindamicina					

Versión instalada de VITEK 2 Systems: 9.02

Guía de interpretación de CMI: Copia de Global CLSI-based CLSI M100 (2023)

Nombre de juego de parámetros de AES: Copia de Global CLSI-based+Natural Resistance 2023

Guía de interpretación terapéutica: Copia de NATURAL RESISTANCE

Última modificación de parámetros de AES: 21-mar-2023 12:26 COT

Aislamiento: ATCC51299-I (Aprobado)

Tipo de tarjeta: GP Código de barras: 2422404503650184 Prueba de instrumento: 00001D698A11 (Serial No. 5322)

Tipo de tarjeta: AST-P663 Código de barras: 8232378203416693 Prueba de instrumento: 00001D698A11 (Serial No. 5322)

Técnico de preparación: Laboratory Administrator(Labadmin)

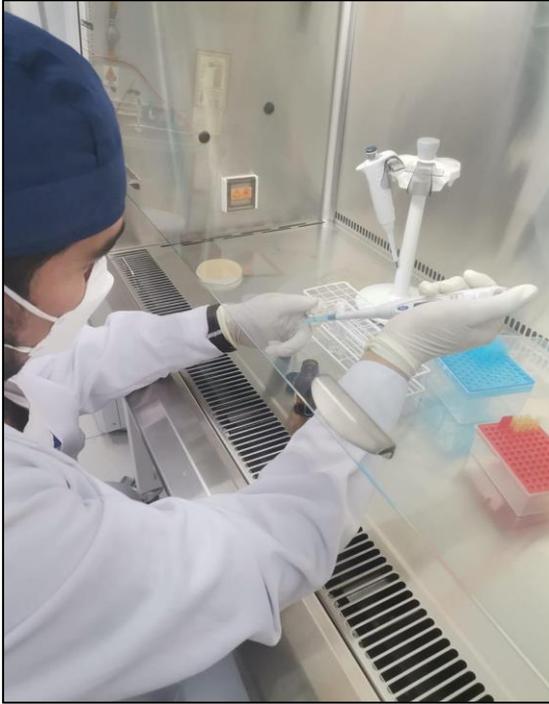
Bionúmero: 116002765773671

Cantidad de organismo:

Organismo seleccionado: Enterococcus faecalis

Conclusiones de AES:	Última modificación: 21-mar-2023 12:26 COT	Juego de parámetros: Copia de Global CLSI-based +Natural Resistance 2023
Nivel de confianza:	Coherente	
Fenotipos marcados para revisión:	GLICOPÉPTIDOS	RESISTENTE (SIMILAR VAN A),RESISTENTE (SIMILAR VAN B)

ANEXO 6: Procedimiento





UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA**

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, JOHNNY FERNANDO QUIÑONES JAUREGUI, docente de la FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD de la escuela profesional de MEDICINA de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - TRUJILLO, asesor de Tesis titulada: "Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre *Enterococcus faecalis* resistente a vancomicina

", cuyo autor es FERNANDEZ ROBLES HEBER ADRIAN, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 10.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

En tal sentido, asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada, por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas vigentes de la Universidad César Vallejo.

TRUJILLO, 08 de Diciembre del 2023

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
JOHNNY FERNANDO QUIÑONES JAUREGUI DNI: 44284319 ORCID: 0000-0003-4115-5386	Firmado electrónicamente por: JFQUINONESQ el 11-12-2023 16:53:57

Código documento Trilce: TRI - 0688973