Universidad Norbert Wiener

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA ACADÉMICO DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Tesis

Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *minthostachys spicata* y polvo de *minthostachys mollis* sobre *enterococcus faecalis* ATCC 29212, Lima 2026

Para optar el Título Profesional de

Químico Farmacéutico

Presentado por:

Autora: Chavez Sinte, Amy Strella

Código ORCID: https://orcid.org/0009-0004-6948-5082

Autora: Correa Chávez, Mayerli

Código ORCID: https://orcid.org/0009-0001-3153-3286

Asesora: Dra. Alvarado Chávez, Britt

Código ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0601-6973

Lima – Perú

2026

Universidad Norbert Wiener	DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN		
	CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033	VERSIÓN: 01 REVISIÓN: 01	FECHA: 08/11/2022

Yo, **Amy Strella Chavez Sinte y Mayerli Correa Chavez** egresadas de la Facultad de **Ciencias de la Salud** y Escuela Académica Profesional de **Farmacia y Bioquímica** de la Universidad privada Norbert Wiener declaro que el trabajo de investigación "**Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y polvo de *Minthostachys mollis* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Lima 2026**" Asesorado por el docente: Dra. Britt Alvarado Chávez DNI 31667036, ORCID https://orcid.org/0000-0002-0601-6973 tiene un índice de similitud de **20 (veinte) %** con código trn: oid:14912:615094278 verificable en el reporte de originalidad del software Turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.

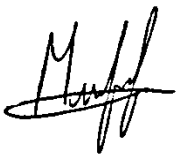


……

Firma de autor 1

Amy Strella Chavez Sinte

DNI: 73956341

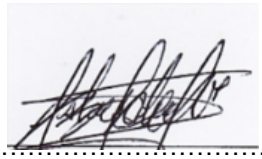


……

Firma de autor 2

Mayerli Correa Chavez

DNI: 74839264



……

Firma

Dra. Britt Alvarado Chavez

DNI: 31667036

Lima, 17 de Agosto de 2026

Dedicatoria

Por Amy Strella Chavez Sinte

A mis padres, por ser mi mayor apoyo durante toda esta etapa. Gracias por su esfuerzo, paciencia y por confiar siempre en mí, incluso cuando yo misma dudaba. Todo lo que he logrado también es gracias a ustedes.
A mis hermanas, por acompañarme en este camino, por escucharme, hacerme reír en los momentos difíciles y estar presentes de una u otra forma durante este proceso.
Y a toda mi familia, por el cariño, las palabras de ánimo y el apoyo que me brindaron para poder alcanzar esta meta tan importante en mi vida profesional.

Con mucho cariño y gratitud.

Por Mayerli Correa Chavez

Dedico este peldaño profesional a mis amados padres, quienes, con sus sacrificios silenciosos, su fe inquebrantable y su amor infinito edificaron los cimientos de mi vida, enseñándome que la educación es la herencia más noble y demostrándome que este título universitario les pertenece tanto como a mí.
A mis hermanos, por su complicidad eterna, por ser el refugio de risas y aliento que me devolvió la perseverancia en los momentos de absoluto cansancio; y a mi pareja, por convertirse en mi puerto seguro y apoyo incondicional, sosteniendo mi mano con paciencia infinita en los días grises y celebrando cada pequeño paso como si fuera propio. A todos ustedes, que creyeron en mí cuando el camino se tornaba difuso, les entrego este logro como el testimonio más puro de que su amor fue el verdadero motor que transformó mi esfuerzo en esta realidad científica.

Agradecimientos

Por Amy Strella Chavez Sinte

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mis padres, quienes con su esfuerzo, apoyo y paciencia me motivaron a continuar y culminar esta etapa tan importante de mi vida profesional.

A mis hermanas y a toda mi familia, gracias por sus palabras de aliento, comprensión y compañía durante el desarrollo de esta tesis.

Asimismo, agradezco a mi asesora y a todas las personas que contribuyeron en mi formación académica y profesional, brindándome orientación y conocimientos a lo largo de este proceso.

Finalmente, agradezco a Dios por darme fortaleza y perseverancia para alcanzar esta meta.

Por Mayerli Correa Chavez

En primer lugar, agradezco a Dios por otorgarme la salud, la sabiduría y la templanza necesarias para superar con éxito cada desafío a lo largo de este camino. De manera muy especial, expreso mi profunda gratitud a mi asesora, la Dr. Britt Alvarado Chávez por su valiosa guía, paciencia y rigurosidad metodológica, las cuales fueron fundamentales para la culminación de esta investigación.

A mis amados padres, les doy las gracias por su esfuerzo constante y su paciencia infinita. A mis hermanos, por su apoyo incondicional y por brindarme siempre un refugio de aliento en los momentos de mayor presión. A mi pareja, por su comprensión, su compañía constante y por sostener mi mano firmemente en cada etapa de este proceso.

ÍNDICE

Declaración jurada

..... **¡Error! Marcador no definido.**

Dedicatoria 3

Agradecimientos 4

Índice de tablas 8

Índice de figuras 9

Resumen 11

Abstract 12

I. INTRODUCCIÓN 13

1.1. Planteamiento del problema 14

1.2.1. Problema general 15

1.2.2. Problemas específicos 15

1.3. Justificación 16

1.3.1. **Justificación teórica** 16

1.3.2**. Justificación metodológica** 16

1.3.3. **Justificación práctica** 17

1.4. Objetivos de la investigación 18

1.4.1**. Objetivo general:** 18

1.4.2. **Objetivos específicos:** 18

1.5. Formulación de hipótesis 19

1.5.2**. Hipótesis general** 19

1.5.3. **Hipótesis específicas** 19

II. MARCO TEÓRICO 20

2.1. Antecedentes 20

2.1.1. Nacionales 20

2.1.2. Internacionales 23

2.2. Bases teóricas 26

2.2.1. Actividad antimicrobiana 26

2.2.2. *Minthostachys spicata* 27

2.2.3. *Minthostachys mollis* 28

2.2.4. Extracto hidroalcohólico 28

2.2.5. *Enterococcus faecalis* 29
2.2.6. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 29
2.2.7. Ciprofloxacino 30
2.2.8. Técnica de difusión en agar 30
2.2.10. Escala de Duraffourd 31
III. METODOLOGÍA 32
3.1. Enfoque de investigación 32
3.2. Tipo de estudio 32
3.3. Diseño de investigación 32
3.4. Población y criterios de selección 32
3.4.1. Población 32
3.5. Muestra y muestreo 33
3.5.1. Muestra 33
3.5.2. Muestreo 33
Tabla 1. Variables y operacionalización 34
3.7. Procedimientos y técnicas 35
3.7.1. Preparación del material vegetal 35
3.7.2. Preparación de la cepa bacteriana 36
3.7.3. Preparación del medio de cultivo 36
3.7.4. Técnica de difusión en agar (Kirby–Bauer) 37
3.7.5. Medición e interpretación de resultados 37
3.8. Plan de análisis 38
3.9. Aspectos éticos y de integridad científica 38
IV. RESULTADOS 40
4.1 Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* frente a *Enterococcus faecalis* 40
4.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis* 41
4.3 Análisis de normalidad de los datos correspondientes a EHP 100% 42
4.4 Análisis de significancia estadística de los halos de inhibición en EHP 100% 43
V. DISCUSIÓN 45
VI. CONCLUSIONES 49
VII. RECOMENDACIONES 50
VIII. REFERENCIAS 51
IX. ANEXOS 57
ANEXO 1: Matriz de consistencia 57

ANEXO 2: Matriz de operacionalización de variables 60
ANEXO 3: Constancia de la Taxonomía de la *Minthostachys spicata* 61
ANEXO 4: Reporte de análisis de actividad antimicrobiana emitido por el Centro de Control Analítico de la UNMSM. Evidencias fotográficas del procedimiento experimental. 62
4.1. Ficha de registro de medición de halos de inhibición 62
4.2. Instrumento utilizado para la inhibición 64
Figura 1. Vernier digital utilizado para la medición de los halos de inhibición. 64
4.3. Evidencia fotográfica 64
Figura 2. Medición de los halos de inhibición a las 24 horas 65
Figura 3. Medición de los halos de inhibición a las 48 horas 65
Figura 4. Medición de los halos de inhibición a las 72 horas 65
ANEXO 5: Comandos del software R 66
ANEXO 6: Carta de Aprobación por el Comité de Ética e Integridad Científica 70
ANEXO 7: Certificado de la cepa *Enterococcus Faecalis ATCC 29212* 71
ANEXO 8: Reporte de Turnitin 75

Índice de tablas

Tabla 1. Variables y operacionalización …… 32

Tabla 2.

Halos de inhibición observados según concentración y tiempo de evaluación. …….. 38

Tabla 3.

Medidas de los halos de inhibición de la concentración EHP 100% en los tiempos de 24, 48 y 72 horas. …… 40

Tabla 4.

Prueba de normalidad Shapiro-Wilk de los halos de inhibición de EHP 100%. …….. 41

Tabla 5.

Prueba t de Student para una muestra aplicada a los halos de inhibición de EHP 100%. …… 42

Índice de figuras

Figura 1. Distribución de los halos de inhibición de EHP 100% a las 24, 48 y 72 horas…… 40

Título en español:

Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y polvo de *Minthostachys mollis* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Lima 2026

Title in english:

Antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of *Minthostachys spicata* and powder of *Minthostachys mollis* against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Lima 2026

Autor(es) y filiación:

Autora: Br. CHAVEZ SINTE, AMY STRELLA
Egresada del Programa Académico de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Norbert Wiener, Lima, Perú.
Autora: Br. CORREA CHAVEZ, MAYERLI
Egresada del Programa Académico de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Privada Norbert Wiener, Lima, Perú.

Resumen

Introducción: Las plantas medicinales andinas constituyen una fuente importante de compuestos bioactivos con potencial antimicrobiano, especialmente frente a bacterias de relevancia clínica como *Enterococcus faecalis*, reconocida por su elevada resistencia a diversos tratamientos. **Objetivo:** Determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y del polvo de *Minthostachys mollis* frente *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio experimental con enfoque cuantitativo. La actividad antimicrobiana se evaluó mediante la técnica de difusión en agar, evaluando los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas. Se analizaron tres concentraciones del extracto de *Minthostachys spicata* (25 %, 50 % y 75 %) y una concentración del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 %. Se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y la prueba t de Student para el análisis estadístico. **Resultados:** No se evidenció actividad antimicrobiana en *Minthostachys spicata* en ninguna de las concentraciones evaluadas. En contraste, *Minthostachys mollis* al 100 % presentó halos de inhibición promedio de 18.25 mm, 17.92 mm y 17.34 mm a las 24, 48 y 72 horas, respectivamente. Los resultados fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$). **Conclusión:** El extracto hidroalcohólico del polvo de *Minthostachys mollis* al 100 % evidenció actividad antimicrobiana significativa frente a *Enterococcus faecalis*, a diferencia de *Minthostachys spicata*, que no mostró efecto inhibitorio en las condiciones evaluadas.

Palabras clave: Agente antimicrobiano; plantas medicinales; extractos vegetales; Método de Difusión en Disco de Kirby-Bauer; *Enterococcus faecalis*.

Abstract

Introduction: Andean medicinal plants are an important source of bioactive compounds with antimicrobial potential, particularly against clinically relevant bacteria such as *Enterococcus faecalis*, known for its resistance to various treatments. **Objective:** To determine the antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of *Minthostachys spicata* and the hydroalcoholic extract of powdered *Minthostachys mollis* against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. **Materials and methods:** An experimental study with a quantitative approach was conducted. Antimicrobial activity was evaluated using the agar diffusion method, measuring inhibition halos at 24, 48, and 72 hours. Three concentrations of *Minthostachys spicata* extract (25%, 50%, and 75%) and one concentration of powdered *Minthostachys mollis* hydroalcoholic extract (100%) were analyzed. Statistical analysis included the Shapiro-Wilk normality test and one-sample Student's T-test. **Results:** Didn't exhibit antimicrobial activity was observed for *Minthostachys spicata* at any tested concentration. In contrast, *Minthostachys mollis* at 100% produced inhibition zones of 18.25 mm, 17.92 mm, and 17.34 mm at 24, 48, and 72 hours, respectively. These results were statistically significant ($p < 0.05$). **Conclusion:** The hydroalcoholic extract of powdered *Minthostachys mollis* at 100% exhibited significant antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis*, whereas *Minthostachys spicata* showed no inhibitory effect under the evaluated conditions.

KEYWORDS: Antimicrobial Agents; medicinal plants; plant extracts; Bauer Kirby Disk Diffusion Method; *Enterococcus faecalis*.

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana se ha convertido en un problema de salud pública a nivel mundial, limitando la eficacia de los tratamientos convencionales y favoreciendo la persistencia de infecciones difíciles de erradicar. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la resistencia bacteriana podría causar más de 10 millones de muertes al año para 2050 si no se desarrollan nuevas estrategias terapéuticas (1,14). Así, el *Enterococcus faecalis*, una bacteria grampositiva oportunista, es uno de los principales agentes causantes de infecciones hospitalarias, endodónticas y urinarias, destacando por su resistencia natural a múltiples antibióticos (2,3). Ante este panorama, la búsqueda de alternativas terapéuticas basadas en productos naturales ha cobrado relevancia científica, especialmente en países como el Perú, donde existe un amplio conocimiento ancestral sobre el uso de plantas medicinales (7,11).

Entre las especies más utilizadas en la medicina tradicional andina se encuentran *Minthostachys spicata* y *Minthostachys mollis*, conocidas comúnmente como "muña", cuyos aceites esenciales y compuestos bioactivos han demostrado potencial antimicrobiano en diversos estudios preliminares (10). Sin embargo, requieren mayor evidencia científica que respalde su uso frente a *Enterococcus faecalis*.

En este contexto, la presente investigación tiene como objetivo determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y del polvo comercial de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis* in vitro. Para ello, se realizaron pruebas microbiológicas mediante la técnica de difusión en agar, comparando la actividad antimicrobiana de ambos preparados naturales. El estudio buscó establecer la efectividad comparativa entre ambas presentaciones, también aportar evidencia científica que respalde su uso como agentes antimicrobianos naturales.

Este estudio busca aportar evidencia científica sobre el uso de recursos naturales como alternativa frente a la resistencia bacteriana, revalorando el conocimiento tradicional peruano y contribuyendo al desarrollo de estrategias terapéuticas accesibles, sostenibles y eficaces.

1.1. Planteamiento del problema

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada año se producen más de 700,000 muertes relacionadas con infecciones resistentes a los antimicrobianos, y se considera que esta cantidad podría alcanzar los diez millones en 2050 de no adoptar medidas urgentes[1]. Las bacterias Gram positivas, como *Enterococcus faecalis*, están entre los principales agentes asociados a infecciones nosocomiales multirresistentes, causando infecciones urinarias, endocarditis y bacteriemias especialmente en pacientes hospitalizados, inmunodeprimidos o sometidos a procedimientos invasivos (2).

Enterococcus faecalis es una bacteria anaerobia facultativa, de forma cocoide y Gram positiva. Esta especie tiene la capacidad de sobrevivir en condiciones ambientales adversas, formar biopelículas resistentes y transmitir genes de resistencia, dificultando su erradicación en ambientes clínicos (3,4). Además, su persistencia en equipos médicos, soluciones hospitalarias y superficies inertes la convierte en un reservorio de infecciones recurrentes, incrementando los días de hospitalización y el uso de antibióticos de amplio espectro (5).

Ante el incremento de cepas resistentes, el interés por las terapias alternativas y naturales se ha fortalecido. Las plantas medicinales del género *Minthostachys*, originarias de los Andes, han sido tradicionalmente utilizadas por sus propiedades digestivas, antiinflamatorias y antisépticas. En particular, *Minthostachys spicata* y *Minthostachys mollis* contienen aceites esenciales ricos en pulegona, mentona y eucaliptol, compuestos con reconocida actividad antimicrobiana (6,7). Diversos estudios in vitro han demostrado que el extracto hidroalcohólico y el aceite esencial de *Minthostachys spicata* presentan actividad inhibitoria frente a bacterias como *Staphylococcus aureus*, *E. coli* y *E. faecalis*, evidenciada por halos de inhibición en medios de cultivo (8,9).

Por otro lado, *Minthostachys mollis* también ha mostrado efectos antibacterianos, especialmente a través de su aceite esencial. En un estudio realizado en Perú, se evidenció actividad bactericida sobre el crecimiento de cepas de *Enterococcus faecalis*, siendo las concentraciones más altas las que tuvieron mayor efecto sobre ellas (10). No obstante, en el mercado peruano se encuentra disponible el polvo liofilizado comercial de *Minthostachys mollis*, el cual es utilizado en forma de infusión o cápsulas por su presunta acción digestiva o

antiséptica. A pesar de ello, no se ha determinado científicamente si este polvo presenta una actividad antimicrobiana similar o comparable a la de su aceite o extracto etanólico (11).

De acuerdo con la revisión bibliográfica realizada, se identificó una limitada evidencia sobre estudios que comparen simultáneamente la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en diferentes concentraciones (25 %, 50 % y 75 %) con la del polvo comercial de *Minthostachys mollis*, utilizando como cepa de ensayo a *Enterococcus faecalis*. Esta falta de evidencia limita la validación científica del uso tradicional y comercial de estas especies andinas como agentes antibacterianos. Asimismo, impide establecer parámetros de eficacia frente a microorganismos patógenos clínicamente relevantes, lo que podría contribuir al desarrollo futuro de productos fitoterapéuticos seguros, eficaces y respaldados por evidencia científica.

Esta investigación busca atender dicha brecha mediante un análisis comparativo de la actividad antimicrobiana in vitro de ambas especies frente a *Enterococcus faecalis*, generando conocimiento que contribuya a la valorización de los recursos fitoterapéuticos peruanos, el uso racional de plantas medicinales y el combate contra la resistencia bacteriana en un contexto de salud global y local, por ello planteamos las siguientes interrogantes:

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

1.2.2. Problemas específicos

1. ¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata*, en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, frente a las cepas de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

2. ¿Cuál es el comportamiento de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata*, en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, a las 24, 48 y 72 horas de evaluación frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

3. ¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

4. ¿Cuál es el comportamiento de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % a las 24, 48 y 72 horas de evaluación frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?

1.3. Justificación

1.3.1. **Justificación teórica**

La justificación teórica de esta investigación radica en la necesidad de encontrar alternativas naturales frente a la resistencia antimicrobiana, un problema creciente en la salud pública. El *Enterococcus faecalis ATCC 29212* es una cepa de importancia clínica debido a su participación en infecciones persistentes y su resistencia a múltiples antibióticos, lo que dificulta su tratamiento. En este contexto, las especies *Minthostachys spicata* y *Minthostachys mollis*, conocidas como muña, han sido empleadas en la medicina tradicional y contienen compuestos fenólicos con potencial antimicrobiano. Validar científicamente la actividad del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y el polvo de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis* puede aportar una alternativa terapéutica accesible y sostenible, revalorizando los recursos naturales y contribuyendo al desarrollo de nuevas estrategias contra bacterias resistentes.

1.3.2**. Justificación metodológica**

El presente estudio adopta un enfoque experimental, en concordancia con el objetivo general de determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de

Minthostachys spicata y del polvo de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Se empleará la técnica de difusión en agar (Kirby-Bauer modificada), un método estandarizado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) para evaluar la sensibilidad antimicrobiana frente a compuestos de origen natural y fármacos de referencia. Este procedimiento es ampliamente reconocido por su reproducibilidad, bajo costo y capacidad para evaluar simultáneamente diferentes concentraciones y tratamientos en una misma placa (12).

La elección de este método permitirá medir de forma precisa el halo de inhibición generado por cada tratamiento (extracto en tres concentraciones, polvo, antimicrobiano estándar y control negativo), lo que facilitará la en comparación de la eficacia relativa entre las muestras y el fármaco de referencia.

El diseño experimental completamente al azar será aplicado para minimizar sesgos y garantizar que las diferencias observadas se deban a las propiedades intrínsecas de cada tratamiento, asegurando que los resultados obtenidos sean válidos y confiables para el análisis microbiológico in vitro (13).

1.3.3. **Justificación práctica**

La investigación propuesta tendrá una relevancia directa en el campo de la microbiología farmacéutica y en el desarrollo de alternativas terapéuticas de origen natural. La evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y del polvo de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 permitirá generar evidencia científica que respalde o descarte su potencial uso como complemento o alternativa a fármacos convencionales.

En un contexto en el que la resistencia antimicrobiana constituye un problema de salud pública a nivel global, los resultados de este estudio podrán ser de utilidad para investigadores, laboratorios y profesionales de la salud interesados en el aprovechamiento de compuestos bioactivos presentes en plantas medicinales.

Asimismo, el conocimiento generado podría servir de base para estudios posteriores en fases in vivo o en formulaciones farmacéuticas, contribuyendo a la validación de la medicina tradicional andina y promoviendo la conservación y uso racional de los recursos vegetales del Perú (14).

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. **Objetivo general:**

Determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y del extracto hidroalcohólico obtenido a partir del polvo *de Minthostachys mollis* frente *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.4.2. **Objetivos específicos:**

1. Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata*, en sus tres concentraciones (25 %, 50 % y 75 %), frente a la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
2. Determinar el comportamiento de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % a las 24, 48 y 72 horas de evaluación frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
3. Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.
4. Determinar el comportamiento de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % a las 24, 48 y 72 horas de evaluación.

1.5. Formulación de hipótesis

1.5.2. **Hipótesis general**

H_1: El extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y el polvo de *Minthostachys mollis* presentan actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

H_0: El extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y el polvo de *Minthostachys mollis* no presentan actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

1.5.3. **Hipótesis específicas**

1. El extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en concentraciones de 25%, 50 % y 75 % presenta actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

2. El extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % presenta actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 durante las 24, 48 y 72 horas de evaluación.

3. El extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % presenta actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

4. El extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % presenta actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 durante las 24, 48 y 72 horas de evaluación.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Nacionales

Caytuiro y Chacón (15) desarrollaron una investigación destinada a determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroetanólico de *Minthostachys mollis* (muña) en comparación con la clorhexidina, utilizando como microorganismo de prueba a *Streptococcus mutans* ATCC 25175. El estudio fue de tipo prospectivo y se trabajó con 60 placas de cultivo, en las que se evaluaron tres concentraciones del extracto (0,12%, 50 % y 100 %), contrastándolas con clorhexidina al 0,12 % a las 24 y 48 horas de incubación. Para el análisis estadístico se aplicó la prueba H de Kruskal-Wallis, el test post hoc de Dunn y, para comparar tiempos, las pruebas de Wilcoxon y t de Student. En los resultados se evidenció que el extracto al 100 % generó los halos de inhibición más amplios (20,79 mm y 20,12 mm), seguido por el extracto al 50 %, mientras que la clorhexidina mostró zonas de inhibición intermedias (17,95 mm y 17,22 mm). Además, el extracto al 100 % presentó una actividad significativamente superior a la de la clorhexidina ($p < 0,05$). Los autores concluyen que el extracto hidroetanólico de muña en su máxima concentración presentó el mejor desempeño antibacteriano en ambos tiempos de evaluación, respaldando su potencial aplicación en el campo odontológico.

Osorio (16) tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli.* Para ello desarrolló un estudio experimental in vitro, donde el aceite esencial fue obtenido mediante la técnica de arrastre por vapor de agua. La acción antimicrobiana se determinó mediante el método de difusión en agar de Kirby-Bauer, empleando concentraciones del 50%, 75% y 100%, y comparando los halos de inhibición con el antibiótico Cotrimoxazol como control positivo. El análisis estadístico se realizó con ANOVA y la prueba HSD de Tukey, obteniéndose valores de significancia de 0.130 para S. aureus y 0.00 para *Escherichia coli*. Los resultados mostraron que, en *Staphylococcus aureus*, la concentración del 50% (10.13 mm) no presentó sensibilidad, mientras que las concentraciones del 75% (14.40 mm) y 100% (15.11 mm) evidenciaron sensibilidad intermedia según los criterios del CLSI. En *Escherichia coli*, la concentración del 50% (13.87 mm) mostró sensibilidad intermedia, y las concentraciones del 75% (17.33 mm)

y 100% (19.20 mm) fueron clasificadas como sensibles. En conclusión, el estudio confirma que el aceite esencial de muña posee una actividad antibacteriana moderada frente a *Staphylococcus aureus* y una eficacia significativa contra *Escherichia coli*, de acuerdo con los parámetros del estándar CLSI M100.

Ordinola y Vera (17) desarrollaron un estudio cuyo propósito principal fue evaluar la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de tres especies medicinales, entre ellas *Minthostachys mollis* (muña), una planta ampliamente reconocida en la medicina tradicional andina por su potencial antibacteriano. Su investigación incluyó la determinación del efecto inhibitorio in vitro, la concentración mínima inhibidora (CMI), la concentración mínima bactericida (CMB) y la toxicidad en Artemia salina. El trabajo se ejecutó en tres fases: primero, la identificación de las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*, así como la obtención y preparación de las distintas concentraciones de los extractos etanólicos. Posteriormente, mediante una versión modificada del método de difusión de Kirby-Bauer, evaluaron la capacidad inhibitoria a concentraciones de 1000, 800, 600, 400 y 200 mg/mL. Sus resultados mostraron que *Minthostachys mollis* generó halos de inhibición promedio entre 24 y 15 mm frente a *Staphylococcus aureus*, evidenciando una actividad notable, mientras que no se observó efecto frente a *Klebsiella pneumoniae*. En las pruebas de dilución en caldo, la CMI y CMB para *Minthostachys mollis* fueron de 90 mg/mL, lo cual confirma una acción antimicrobiana consistente. Finalmente, en el bioensayo de toxicidad con A. salina, este extracto mostró una CL50 de 3.6 mg/mL. En conjunto, el estudio aporta evidencia sólida de que *Minthostachys mollis* presenta una actividad antibacteriana significativa frente a *Staphylococcus aureus*, respaldando su uso ancestral y su potencial relevancia farmacológica.

Gonzales (18) desarrolló una investigación cuyo propósito fue evaluar la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. El trabajo tuvo un enfoque experimental in vitro, con carácter prospectivo, transversal y de comparación entre grupos. Para el ensayo se emplearon 68 discos impregnados con distintas concentraciones del aceite esencial (25 %, 50 %, 75 % y 100 %), aplicándose la técnica de difusión en discos. Se trabajó además con un control positivo basado en clorhexidina al 0,12 % y un control negativo

constituido por agua destilada. Los resultados mostraron que, tras 24 horas de incubación, el aceite esencial generó halos de inhibición máximos de 10,0 mm a la concentración de 50 %, 10,9 mm al 75 % y 11,8 mm al 100 %, evidenciando su acción antimicrobiana. A las 48 horas se mantuvo esta tendencia, observándose promedios máximos de 10,3 mm al 50 %, 11,4 mm al 75 % y 11,6 mm al 100 %. Con base en estos hallazgos, se determinó que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* presenta actividad inhibitoria frente a *Enterococcus faecalis* en concentraciones iguales o superiores al 50 %, por lo que podría considerarse una alternativa con potencial uso como agente antimicrobiano contra esta bacteria Gram positiva.

Garcia y Tantalean (19) desarrollaron una investigación orientada en evaluar la actividad antibacteriana, en condiciones in vitro, de los extractos etanólico y metanólico de *Minthostachys mollis* ("muña") frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. El trabajo empleó un enfoque cuantitativo y un diseño experimental con grupo control. Para la investigación se utilizaron 2 kg de la planta recolectada en el distrito de Jaén, en Cajamarca, seleccionada mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia. Los extractos fueron obtenidos mediante maceración y la actividad antibacteriana se midió mediante la técnica de difusión en pozo para la evaluación, y el análisis estadístico se efectuó considerando un nivel de confianza del 95%. Los resultados mostraron que los extractos etanólicos al 100% y 50% produjeron halos de inhibición de 8,58 mm (DE = 0,38) y 8,52 mm (DE = 0,36), respectivamente. Por su parte, los extractos metanólicos al 100% y 50% alcanzaron diámetros de halo de 10,75 mm (DE = 0,31) y 8,99 mm (DE = 0,37). El análisis estadístico mediante ANOVA y la prueba de Tukey evidenció diferencias significativas entre ambos tipos de extractos, siendo el extracto metanólico el que presentó una mayor actividad inhibidora. En conclusión, se corroboró la actividad antibacteriana de los extractos de *muña* frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, resaltando el mayor efecto del extracto metanólico.

Culquipoma y Gil (20) realizaron un estudio con el propósito de determinar el efecto antibacteriano de una crema elaborada a partir del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La investigación se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, de tipo aplicada, con diseño experimental y de corte transversal. Para obtener el aceite esencial se empleó la técnica de arrastre por vapor utilizando 5 kg de hojas de muña, y posteriormente se prepararon cremas con

concentraciones del 10 % y 20 % siguiendo las indicaciones del Formulario Nacional, segunda edición.

La evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial y de las formulaciones tópicas se llevó a cabo mediante el método de difusión en pozo. Como controles negativos se consideraron el dimetilsulfóxido (DMSO) y la base de la crema. Los resultados mostraron que el aceite esencial al 10 % produjo un halo promedio de 10,92 ± 0,39 mm, mientras que la concentración al 20 % alcanzó 13,55 ± 0,36 mm. En cuanto a las cremas, la formulación al 10 % registró un halo de 13,62 ± 0,35 mm y la del 20 % uno de 16,89 ± 0,35 mm. Los controles negativos no evidenciaron actividad inhibidora, obteniéndose 6,21 ± 0,19 mm para la crema base y 6,02 ± 0,22 mm para el DMSO.

Los datos obtenidos evidencian que *Staphylococcus aureus* presentó sensibilidad tanto al aceite esencial como a las cremas al 10 %, y una mayor respuesta frente a la crema al 20 %, mientras que los controles no mostraron efecto antimicrobiano. En conclusión, las cremas preparadas con aceite esencial de *Minthostachys mollis* en concentraciones del 10 % y 20 % demostraron actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*.

2.1.2. Internacionales

Reyes et al. (21) desarrollaron una investigación cuyo propósito fue identificar los compuestos bioactivos presentes en el aceite esencial y en el extracto acuoso obtenidos de hojas frescas y secas de *Clinopodium bolivianum* (Inca muña), además de examinar su acción antibacteriana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Para ello, los aceites esenciales se obtuvieron mediante hidrodestilación y las infusiones acuosas se prepararon a distintas temperaturas. La composición química se analizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC–MS) y cromatografía líquida de ultra alta resolución (UPLC). La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó mediante difusión en disco y microdilución en caldo, determinándose el diámetro de inhibición, la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida. Los resultados mostraron que el aceite esencial derivado de hojas secas de *Clinopodium bolivianum* ejerció la mayor actividad frente a *Staphylococcus aureus*, alcanzando valores de inhibición de 23.30 ± 1.15 mm, con una MIC de 2.74 g/L y una MBC de 5.49 g/L; dicho efecto fue superior al obtenido con los

extractos acuosos. Entre los compuestos predominantes se identificaron isomentona (28.74 %), linalool (17.50 %) y pulegona (12.05 %). El estudio concluyó que el aceite esencial seco presenta una potente acción antibacteriana atribuida a su elevado contenido de monoterpenos oxigenados, lo que resalta el potencial terapéutico y conservante de esta planta andina y respalda su uso tradicional como alternativa frente a microorganismos resistentes.

Velarde et al. (22) llevaron a cabo un estudio destinado a comparar la actividad antibacteriana in vitro del extracto y del aceite esencial obtenidos de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) frente a dos géneros bacterianos y cinco cepas patógenas. La investigación fue de tipo experimental, con enfoque cuantitativo, y empleó una versión modificada del método de pozos en agar de Kirby–Bauer para evaluar la capacidad inhibitoria. El rendimiento del aceite esencial alcanzó el 1,19 %. A concentración del 100 %, este aceite mostró el mayor efecto antimicrobiano, suprimiendo el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Proteus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, con diámetros promedio de inhibición de 27 mm, 25 mm, 22 mm, 21 mm y 20 mm, superiores tanto a los del extracto como a los obtenidos con doxiciclina. Asimismo, logró inhibir a *Enterococcus faecalis* y *Enterobacter* spp., mostrando una respuesta superior en comparación con el extracto, doxiciclina y ciprofloxacina. El análisis estadístico indicó diferencias significativas entre al menos dos de los grupos evaluados, con valores de $p < 0,05$ y un nivel de confianza del 95 %, según las pruebas ANOVA de un factor, Tukey y Kruskal–Wallis. En síntesis, *Proteus* spp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* fueron más susceptibles al aceite esencial de muña al 100 % que al extracto y a la doxiciclina. Además, este aceite fue el único tratamiento capaz de inhibir de manera efectiva el desarrollo de *Enterobacter* spp. y *Enterococcus faecalis*.

Rojas et al. (23) plantearon como objetivo optimizar la obtención del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* [HBK] Griseb., recolectadas en Ecuador, utilizando destilación por arrastre de vapor. Para ello aplicaron un diseño de superficie de respuesta, considerando como variables el tiempo de extracción (60, 105 y 150 minutos) y la proporción entre material vegetal y agua destilada (1:3, 1:4 y 1:5). La combinación más eficiente correspondió a 150 minutos de extracción y una relación 1:5, obteniéndose

un rendimiento del 0,67 %. La composición química del aceite esencial fue determinada utilizando cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, identificó como compuestos predominantes al acetato de carvacrilo (44,01 %), carvacrol (16,51 %) y mentona (8,20 %). Asimismo, se determinó su capacidad antioxidante mediante los métodos FRAP y ABTS, registrándose valores de CI50 de 243,21 μmol Fe^{2+}/g y 0,12 mg/mL, respectivamente. Finalmente, se confirmó actividad antimicrobiana frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Quispe (24) tuvo como objetivo elaborar aceite de muña y resaltar los beneficios de este aceite. La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de la Carrera de Ingeniería en Producción y Comercialización Agropecuaria de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés. La extracción del aceite esencial de muña se efectuó mediante el método de destilación por arrastre de vapor, técnica ampliamente utilizada para la extracción de compuestos volátiles de origen vegetal. En los últimos años, el aceite esencial de muña ha sido considerado como una alternativa de origen natural para el tratamiento del dolor muscular. Si bien la evidencia científica disponible aún es limitada, estudios preliminares sugieren que podría presentar efectos favorables en la reducción del dolor y la inflamación muscular. Tradicionalmente, las hojas y flores de esta especie han sido empleadas en forma de infusión en la medicina popular, debido a sus propiedades carminativas y broncodilatadoras, siendo utilizadas para el tratamiento de cólicos gastrointestinales, afecciones respiratorias de tipo gripal, dolores menstruales y como coadyuvante en el proceso del parto. Asimismo, se les atribuyen propiedades antisépticas y antimicrobianas frente a diversos microorganismos, tales como *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp., además de actividad fungicida contra especies del género *Candida* y *Trichophyton*. Adicionalmente, se ha reportado que presenta efectos acaricidas, parasiticidas e insecticidas.

Sanchez y Collantes (25) desarrollaron un estudio con la finalidad de identificar la composición química de las fracciones obtenidas a partir del aceite esencial de *Minthostachys mollis* y determinar su efecto antimicrobiano frente a *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis* y *Candida albicans*. Para ello, el aceite esencial fue fraccionado utilizando éter de

petróleo, diclorometano y metanol, y cada fracción fue analizada mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM). El número de repeticiones del ensayo se estableció mediante el software EPIDAT versión 4.2. La actividad antimicrobiana se evaluó empleando la técnica de difusión en disco, mientras que la concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó por el método de microdilución. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba ANOVA, considerando un nivel de significancia de $p < 0,05$. Los resultados evidenciaron que los compuestos mayoritarios identificados fueron cis-mentona (39,8 %) en la fracción de éter de petróleo, timol (31,2 %) en la fracción diclorometánica y α-terpineol (43,6 %) en la fracción metanólica. Todas las cepas microbianas evaluadas mostraron susceptibilidad frente a las fracciones estudiadas, siendo *Candida albicans* la más sensible, con halos de inhibición que oscilaron entre 14,73 ± 0,57 mm y 20,91 ± 0,55 mm. Asimismo, se observaron diferencias estadísticamente significativas al comparar los resultados con los controles de clorhexidina al 0,12 % y nistatina ($p < 0,05$). Las CMI registradas variaron entre 0,2 y 3,2 μg/mL. Se concluyó que las fracciones obtenidas del aceite esencial de *M. mollis*, especialmente las de éter de petróleo y diclorometano, presentaron una elevada actividad inhibitoria frente a los microorganismos evaluados, incluyendo *Enterococcus faecalis*, lo que respalda su potencial uso como agente antimicrobiano.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de las plantas está estrechamente relacionada con sus mecanismos de defensa innatos, los cuales incluyen la producción de proteínas de resistencia, enzimas hidrolíticas, modificaciones en la pared celular y la síntesis de metabolitos secundarios. Estos últimos se acumulan de manera natural y actúan como una línea de defensa química, ya que contribuyen a limitar la invasión de microorganismos y facilitan la formación de compuestos con acción antimicrobiana destinados a contrarrestar patógenos. La investigación sobre la actividad antimicrobiana en especies vegetales posee una larga historia y continúa siendo un ámbito científico de gran interés. Para protegerse de agentes patógenos como bacterias, hongos y virus, las plantas han evolucionado mecanismos naturales que les permiten detectar y contener infecciones. Dentro de estas estrategias destacan los compuestos con propiedades

antibacterianas que producen de manera interna. Dichos compuestos, denominados fitoalexinas y fitoanticipinas, cumplen funciones esenciales en la defensa frente a microorganismos invasores. Las fitoalexinas, específicamente, se sintetizan cuando la planta percibe un ataque microbiano y actúan como inhibidores que frenan la expansión del patógeno, desempeñando así un rol fundamental como defensa química inducida (26).

2.2.2. *Minthostachys spicata*

Minthostachys spicata es una planta aromática propia de los Andes, reconocida por su aceite esencial, ya que, posee una composición química diversa y un notable potencial biológico. En estudios desarrollados en Perú se identificó que los constituyentes mayoritarios de este aceite son la pulegona, la isomentona y la mentona, junto con otros monoterpenos presentes en cantidades menores. Estos compuestos volátiles no solo aportan el olor característico de la especie, sino que también se han vinculado a distintos efectos frente a microorganismos e insectos. Investigaciones realizadas posteriormente en distintas regiones de Sudamérica, incluyendo Argentina, Bolivia, Venezuela y Ecuador, evidencian que la composición química del aceite esencial puede modificarse de forma considerable entre localidades. Esta variabilidad sugiere la presencia de varios quimiotipos dentro del género, caracterizados por perfiles químicos particulares: algunos grupos muestran mayores proporciones de timol y carvacrol, mientras que otros destacan por concentraciones elevadas de pulegona, mentona o carvona. Tales diferencias suelen asociarse a la influencia del ambiente, a las condiciones ecológicas y a la diversidad genética de cada población vegetal.

En términos generales, las especies del género *Minthostachys*, entre ellas *M. spicata* y *M. mollis*, se distinguen por la presencia abundante de monoterpenos oxigenados, compuestos que explican gran parte de su actividad biológica. Estas características fitoquímicas han favorecido tanto su empleo tradicional como su creciente interés en la investigación científica, especialmente en estudios orientados a evaluar su acción antimicrobiana, insecticida y analgésica (27).

2.2.3. *Minthostachys mollis*

Minthostachys mollis, denominada comúnmente muña, es una especie aromática de la familia *Lamiaceae*, cuya distribución se concentra en la región andina del Perú, donde crece entre los 2 500 y 3 500 m s. n. m. Se caracteriza por su uso tradicional en la medicina popular andina, especialmente para tratar problemas digestivos, respiratorios y malestares asociados al mal de altura debido a sus propiedades carminativas, antiespasmódicas y analgésicas (28,29).

La muña es utilizada en infusión y de forma tópica. En la medicina tradicional se emplea para aliviar cólicos, diarrea, indigestión, parasitosis intestinal, malestar estomacal y afecciones respiratorias. Su uso se encuentra respaldado por conocimientos etnobotánicos transmitidos por generaciones, lo que ha motivado su estudio científico (29,30). Diversas investigaciones han demostrado que *Minthostachys mollis* posee actividad antimicrobiana frente a bacterias y hongos de importancia clínica. Estudios recientes realizados en Perú evidencian que su extracto o aceite esencial presenta capacidad para inhibir el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, lo cual apoya su empleo como alternativa natural con potencial efecto antibacterial (31). Asimismo, otras investigaciones reportan actividad antifúngica y antioxidante, lo que refuerza su relevancia farmacológica (32,33).

2.2.4. Extracto hidroalcohólico

Un extracto hidroalcohólico es una preparación obtenida mediante la extracción de principios activos de una planta, utilizando como solvente una mezcla de agua y alcohol. Esta combinación permite disolver tanto compuestos polares (solubles en agua) como aquellos de menor polaridad (solubles en alcohol), lo que favorece la obtención de una gama más amplia de metabolitos secundarios. Por ejemplo, en estudios se ha observado que una proporción de etanol 50 % v/v en mezcla con agua es especialmente eficiente para extraer compuestos fenólicos con alta actividad antioxidante.

El proceso típicamente comprende las etapas de recolección del material vegetal, secado o utilización en fresco, maceración o agitación en el medio hidroalcohólico durante un período determinado, separación del solvente saturado con compuestos activos y, frecuentemente, concentración del licor resultante. Esta modalidad de extracción

presenta ventajas frente a la extracción puramente acuosa o únicamente alcohólica, al combinar los efectos sinérgicos de ambos solventes.

En el ámbito de la investigación farmacológica y fitoterapéutica, los extractos hidroalcohólicos son ampliamente empleados para evaluar actividades biológicas (antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias) debido a que preservan gran parte de los compuestos bioactivos presentes en la planta original. Además, su uso facilita la comparación entre estudios porque la metodología es estándar y reproducible (34).

2.2.5. *Enterococcus faecalis*

Es una bacteria Gram positiva, de morfología esférica, es capaz de crecer tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, por lo que se clasifica como una bacteria anaerobia facultativa. Forma parte del microbiota intestinal normal de los seres humanos y de diversos animales, desempeñando un papel natural dentro del equilibrio microbiano del organismo (35).

No obstante, bajo determinadas condiciones como inmunosupresión o ambientes hospitalarios puede actuar como agente patógeno oportunista, ocasionando infecciones urinarias, bacteriemias, endocarditis y otras infecciones asociadas a la atención médica (36).

Este microorganismo pertenece al género *Enterococcus* y destaca por su resistencia frente a factores ambientales extremos, así como por su capacidad de adquirir y transferir genes de resistencia antimicrobiana mediante mecanismos genéticos móviles. Dichas características le confieren gran relevancia clínica y epidemiológica, especialmente en el contexto de las infecciones nosocomiales (35).

2.2.6. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

Es una cepa de referencia internacional, utilizada ampliamente en laboratorios de microbiología para la evaluación de la actividad antimicrobiana y el control de calidad de medios de cultivo. Se trata de una bacteria Gram positiva, no esporulada y de forma cocoide, que se dispone en pares o cadenas cortas y presenta un metabolismo de tipo anaerobio facultativo.

Esta cepa fue aislada originalmente de una muestra de orina y estandarizada por la American Type Culture Collection (ATCC), lo que garantiza su estabilidad genética y fenotípica. Debido a estas características, se considera un patrón microbiológico confiable, empleado para comparar la eficacia de compuestos antimicrobianos y validar procedimientos experimentales. Además, mantiene un registro controlado de subcultivos, lo que asegura la conservación de sus propiedades originales y la reproducibilidad de los resultados en investigaciones científicas (37).

2.2.7. Ciprofloxacino

El ciprofloxacino es un antibacteriano perteneciente al grupo de las fluoroquinolonas, ampliamente empleado en el tratamiento de diversas infecciones bacterianas, incluyendo aquellas que afectan al tracto urinario, respiratorio, gastrointestinal y cutáneo. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de las enzimas bacterianas ADN-girasa y topoisomerasa IV, fundamentales para los procesos de replicación, transcripción y reparación del ADN, lo que conduce a la muerte celular bacteriana. Presenta un amplio espectro de actividad, con mayor eficacia frente a bacterias Gram negativas como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*, aunque también actúa sobre algunas Gram positivas. Su uso debe ser racional para evitar la aparición de resistencias bacterianas. Entre sus efectos adversos destacan alteraciones gastrointestinales, del sistema nervioso y tendinopatías (38).

2.2.8. Técnica de difusión en agar

La técnica de difusión en agar, conocida como ensayo de Kirby-Bauer modificado, es un método muy utilizado para determinar la capacidad antimicrobiana de compuestos de origen natural o sintético. El procedimiento consiste en distribuir una suspensión bacteriana estandarizada sobre la superficie de un medio sólido, generalmente agar Mueller-Hinton, y posteriormente aplicar discos o pozos que contienen la sustancia a evaluar.

Una vez que las placas son incubadas, el agente difundido desde el disco o pozo se desplaza a través del agar y, si posee actividad antibacteriana, genera un área clara alrededor del punto de aplicación. Esta zona de inhibición, expresada en milímetros, refleja la potencia y el alcance del compuesto frente al microorganismo ensayado. Este método se mantiene como una herramienta de elección en laboratorios clínicos y de

investigación debido a su facilidad de uso, resultados reproducibles y bajo costo operativo. Además, el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) lo reconoce como una metodología estandarizada para los estudios de sensibilidad antimicrobiana (39,40).

2.2.10. Escala de Duraffourd

La Escala de Duraffourd permitirá evaluar de forma cualitativa la actividad antimicrobiana mediante una clasificación basada en los diámetros de los halos de inhibición. En la tabla siguiente, Duraffourd establecerá los criterios de interpretación correspondientes:

Escala de Duraffourd		
Interpretación	**Diámetro**	**Simbología**
Nula	≤ 8 mm	(-)
Sensible	>8 a ≤ 14 mm	(+)
Muy Sensible	>14 a ≤ 20 mm	(++)
Sumamente Sensible	>20 mm	(+++)

III. METODOLOGÍA

3.1. Enfoque de investigación

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de enfoque cuantitativo, debido a que la información se recogió en forma de datos numéricos, expresados en milímetros del halo de inhibición, lo que permitirá realizar análisis estadísticos para determinar la significancia de los resultados y establecer comparaciones objetivas entre los tratamientos evaluados.

3.2. Tipo de estudio

El presente estudio es un tipo de investigación aplicada, debido a que busca generar evidencia experimental sobre la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

3.3. Diseño de investigación

El estudio adoptó un diseño experimental y longitudinal. Experimental, porque se enfocará en analizar las relaciones causa-efecto entre las variables propuestas, utilizando grupos de control y manipulando la variable independiente. Se evaluarán las repercusiones de esta manipulación en la variable dependiente y longitudinal, porque se van a obtener resultados a lo largo de diferentes momentos, medidos en días.

3.4. Población y criterios de selección

3.4.1. Población

La población estuvo constituida por cepas de *Enterococcus faecalis* aptas para ensayos de actividad antimicrobiana in vitro, incluyendo cepas clínicas y cepas estándar disponibles en laboratorios microbiológicos.

Criterios de inclusión:

- Cepas de *Enterococcus faecalis* con identificación microbiológica confirmada.
- Cepas estándar certificadas por entidades reconocidas, como ATCC 29212.
- Cepas viables y conservadas en condiciones adecuadas.
- Cepas libres de contaminación microbiológica.

Criterios de exclusión:

- Cepas no certificadas o sin identificación confirmada.
- Cepas contaminadas o con crecimiento alterado.
- Cepas sin registros adecuados de conservación.

3.5. Muestra y muestreo

3.5.1. Muestra

La muestra del estudio estuvo conformada por:

- La cepa estándar *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, proporcionada por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Además, se emplearon como unidades de análisis:

- Extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en concentraciones de 25%, 50% y 75%.
- Polvo comercial de *Minthostachys mollis.*

3.5.2. Muestreo

El tipo de muestreo utilizado fue:

- Muestreo no probabilístico por conveniencia, debido a la selección de una cepa estándar disponible, certificada y adecuada para ensayos experimentales.

Tabla 1. Variables y operacionalización

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	Escala valorativa (niveles o rangos)
V1: Extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* Extracto hidroalcohólico preparado a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis*	Preparado obtenido al extraer componentes de una planta o de alguna de sus partes, empleando comúnmente un disolvente como agua o alcohol etílico para facilitar dicha extracción. Preparado obtenido mediante la extracción de los compuestos bioactivos presentes en el polvo comercial de *Minthostachys mollis*.	Extracto hidroalcohólico de *M. spicata* en tres concentraciones (25 %, 50 %, 75 %) Extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis.*	Concentración del extracto Extracto hidroalcohólico	Concentraciones y/o diluciones Extracto hidroalcohólico	Ordinal Ordinal	-Extracto concentrado al 25 % -Extracto concentrado al 50 % -Extracto concentrado al 75 % No aplica
V2: Cepas de *Enterococcus faecalis*	Conjuntos de variantes de esta bacteria Gram positiva que, aunque normalmente habitan en el intestino, pueden causar infecciones y presentar resistencia antimicrobiana.	Evaluación de la zona de inhibición (halo en mm) frente a *Enterococcus faecalis* mediante el método de difusión en agar.	Actividad antimicrobiana	Diámetro del halo de inhibición (mm)	Cuantitativa continua	Milímetros

3.7. Procedimientos y técnicas

El presente estudio se desarrolló bajo un diseño experimental, in vitro, destinado a evaluar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* (25 %, 50 % y 75 %) y del polvo comercial de *Minthostachys mollis* frente a la cepa bacteriana *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, empleando la técnica de difusión en agar (Kirby–Bauer).

La elección de este método permitió medir de forma precisa el halo de inhibición generado por cada tratamiento, incluyendo:

- Extracto al 25 %
- Extracto al 50 %
- Extracto al 75 %
- Polvo de *Minthostachys mollis*
- Control positivo: ciprofloxacino 500 mg
- Control negativo: etanol 70%

Los halos fueron clasificados mediante la escala de Duraffourd, lo que facilitará una interpretación estandarizada del grado de susceptibilidad.

3.7.1. Preparación del material vegetal

3.7.1.1. Extracción de *Minthostachys spicata*

Las hojas fueron recolectadas, lavadas y secadas a 40 °C. Luego maceradas en alcohol etílico al 70%, como solvente de extracción, permitiendo la maceración del material vegetal con el objetivo de favorecer la liberación de los metabolitos secundarios presentes en la planta, durante 10 días, con agitación periódica. El extracto fue filtrado y concentrado en estufa a 40 °C para obtener un extracto espeso. Este extracto fue diluido posteriormente para obtener las tres concentraciones experimentales: 25 %, 50 % y 75 %.

3.7.1.2. Preparación del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys mollis* a partir de polvo comercial

Para la preparación del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys mollis*, se utilizó el polvo liofilizado comercial previamente adquirido. El polvo fue colocado en un recipiente limpio y seco, al cual se le añadió alcohol etílico al 70% como solvente de extracción.

La mezcla fue sometida a maceración con el objetivo de permitir la difusión de los compuestos bioactivos presentes en el material vegetal hacia el solvente hidroalcohólico. Posteriormente, el extracto fue filtrado para eliminar las partículas sólidas, obteniéndose así el extracto hidroalcohólico que fue utilizado en la evaluación de la actividad antibacteriana.

3.7.2. Preparación de la cepa bacteriana

Se utilizó la cepa bacteriana *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. La cepa fue reactivada en medio de cultivo adecuado e incubada a 37 °C durante 24 horas para asegurar su viabilidad y crecimiento.

Posteriormente, se preparó una suspensión bacteriana a partir de colonias aisladas obtenidas en agar nutritivo o agar Mueller-Hinton. Las colonias fueron suspendidas en solución salina estéril hasta obtener una turbidez equivalente al estándar 0.5 de McFarland, lo cual corresponde aproximadamente a una concentración de 1.5×10^8 UFC/mL.

Esta suspensión bacteriana fue utilizada para la inoculación de las placas de agar destinadas al ensayo de actividad antibacteriana.

3.7.3. Preparación del medio de cultivo

Para la evaluación de la actividad antibacteriana se utilizó agar Mueller-Hinton, medio de cultivo ampliamente recomendado para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

El medio de cultivo fue preparado siguiendo las indicaciones del fabricante. La cantidad correspondiente de medio deshidratado fue disuelta en agua destilada y posteriormente esterilizada mediante autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Una vez esterilizado, el medio fue vertido en placas de Petri estériles bajo condiciones asépticas y dejado solidificar a temperatura ambiente. Las placas preparadas fueron utilizadas posteriormente para la siembra de la cepa bacteriana y la realización del ensayo de difusión en agar con pocillos.

3.7.4. Técnica de difusión en agar (Kirby–Bauer)

El Laboratorio de la UNMSM ejecutó:

Inoculación de la superficie del agar con la suspensión de *Enterococcus faecalis*.

Colocación de discos impregnados con:

- Extracto 25 %
- Extracto 50 %
- Extracto 75 %
- Polvo de *Minthostachys mollis*
- Control negativo
- Control positivo: ciprofloxacino 500 mg

Incubación de las placas en tres tiempos establecidos:

- 24 horas
- 48 horas
- 72 horas

3.7.5. Medición e interpretación de resultados

El laboratorio procedió a medir los halos en cada tiempo de incubación:

- Medición a las 24 horas
- Medición a las 48 horas
- Medición a las 72 horas

Cada halo fue registrado en milímetros utilizando un Vernier digital calibrado y posteriormente interpretado según la Escala de Duraffourd, que clasifica la inhibición en:

- Nula
- Débil
- Moderada

- Intensa

Las lecturas en los tres tiempos permitió determinar:

- Variación del efecto antimicrobiano a lo largo del tiempo
- Comparación entre extracto 25 %, 50 %, 75 %
- Comparación entre extracto y polvo
- Comparación frente a ciprofloxacino 500 mg

3.8. Plan de análisis

Los datos obtenidos a partir de la medición de los halos de inhibición fueron registrados en milímetros (mm) y organizados en una base de datos en Microsoft Excel para su posterior análisis.

Se realizó un análisis descriptivo de los resultados, calculando medidas de tendencia central como el promedio de los halos de inhibición para cada muestra evaluada y en cada tiempo de incubación (24, 48 y 72 horas).

Para el análisis inferencial, los datos fueron procesados mediante el software estadístico R. En primer lugar, se evaluó la distribución de los datos utilizando la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, con el fin de determinar si los datos seguían una distribución normal.

Posteriormente, se aplicó la prueba t de Student para una muestra, considerando como valor de referencia una media igual a cero ($\mu = 0$), con el objetivo de determinar si la presencia de halos de inhibición era estadísticamente significativa.

Se consideró un nivel de significancia de $p < 0.05$ para la interpretación de los resultados. Los resultados fueron presentados mediante tablas y gráficos, incluyendo diagramas de cajas (boxplot), que permitieron visualizar la distribución de los datos y la variabilidad de los halos de inhibición.

3.9. Aspectos éticos y de integridad científica

La investigación fue presentada previamente al Comité Institucional de Ética e Integridad Científica de la Universidad Norbert Wiener, el cual evaluó y autorizó el inicio del estudio, asegurando que cumpla con los principios éticos y metodológicos institucionales.

Al tratarse de un estudio experimental in vitro, sin participación de personas ni animales, se considera de bajo riesgo. Sin embargo, se garantizó el cumplimiento de la normativa ética nacional e internacional, incluyendo las directrices de la

OMS para el manejo de agentes biológicos y la regulación peruana sobre bioseguridad y uso responsable de recursos naturales.

Los procedimientos microbiológicos y la manipulación de la cepa *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la UNMSM, bajo condiciones de bioseguridad y siguiendo sus protocolos para la eliminación segura de residuos. La muestra vegetal fue obtenida de manera responsable y su identificación taxonómica fue realizada por el Herbario San Marcos (USM), lo que garantiza trazabilidad y precisión científica.

En cuanto a la integridad científica, las investigadoras se comprometen a registrar y conservar los datos tal como sean obtenidos, sin alteraciones, realizar mediciones siguiendo procedimientos estandarizados, de manera que estas sean verificables y reproducibles, encargar el procesamiento estadístico a un profesional especializado, con el fin de garantizar objetividad en la interpretación de los resultados y redactar el informe final a partir del trabajo propio, sin recurrir a prácticas de plagio ni reutilización inadecuada de textos.

Toda la información será resguardada con confidencialidad, cumpliendo los principios de honestidad, transparencia y responsabilidad que rigen la investigación científica.

IV. RESULTADOS

4.1 Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* frente a *Enterococcus faecalis*

En la presente investigación se evaluó la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* frente a *Enterococcus faecalis*, mediante la medición de halos de inhibición en diferentes concentraciones y en tres tiempos de evaluación: 24, 48 y 72 horas.

Los resultados obtenidos evidenciaron que ninguna de las concentraciones evaluadas presentó formación de halo de inhibición en ninguno de los tiempos analizados. Esta ausencia de halo se mantuvo constante en las diferentes repeticiones, lo que indicó falta de actividad antimicrobiana visible en dichas condiciones experimentales.

Tabla 2. Halos de inhibición observados según concentración y tiempo de evaluación.

MICROORGANISMO	Longitud de halos de inhibición (mm)			
	Muestra	**24 horas**	**48 horas**	**72 horas**
Enterococcus faecalis ATCC 29212	EHM al 25%	0	0	0
	EHM al 50%	0	0	0
	EHM al 75%	0	0	0
	Control negativo (alcohol al 70%)	0	0	0
	Control positivo (ciprofloxacino 5mg/mL)	0	0	0

*EHP: Extracto hidroalcohólico de polvo de *Minthostachys mollis*

*EHM: Extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata*

A partir de los resultados observados en la Tabla 4.1, el extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en las concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % no evidenció actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* bajo las condiciones experimentales del estudio.

4.2 Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis*

Debido a que la concentración EHP 100% fue la única que presentó halos de inhibición, se realizó un análisis descriptivo específico de los datos obtenidos para esta presentación, con el fin de evaluar el comportamiento de los halos en función del tiempo.

Los registros obtenidos mostraron que el diámetro del halo de inhibición presentó una ligera disminución conforme transcurrieron las horas de incubación. En este sentido, el mayor promedio se observó a las 24 horas, seguido por las 48 horas y finalmente por las 72 horas.

Los valores promedio obtenidos fueron de **18.25 mm** a las 24 horas, **17.92 mm** a las 48 horas y **17.34 mm** a las 72 horas.

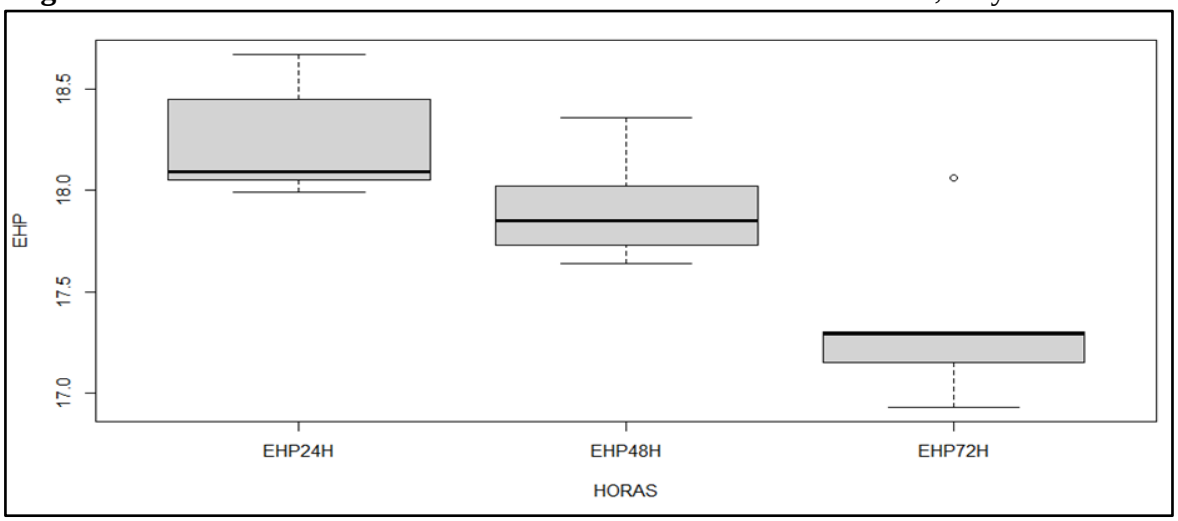
Tabla 3. Medidas de los halos de inhibición de la concentración EHP 100% en los tiempos de 24, 48 y 72 horas

MICROORGANISMO	**MUESTRA**		**Longitud de halos de inhibición (mm)**		
			24h	**48h**	**72h**
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Extracto hidroalcohólico de polvo de *Minthostachys mollis* al 100%	**Placa 1**	18.09	17.85	16.93
		Placa 2	18.45	18.02	17.29
		Placa 3	18.05	17.73	17.30
		Placa 4	17.99	17.64	17.15
		Placa 5	18.67	18.36	18.06

La comparación descriptiva de estos resultados permitió observar una tendencia decreciente en el tamaño del halo de inhibición con el paso del tiempo. Aunque la reducción entre los tiempos evaluados no fue abrupta, sí se evidenció una disminución progresiva en la longitud promedio del halo.

Además, los valores individuales registrados entre las repeticiones mostraron una variabilidad relativamente baja, lo que sugiere consistencia en la respuesta observada para esta concentración.

Figura 1. Distribución de los halos de inhibición de EHP 100% a las 24, 48 y 72 horas.



En la Figura 1 se observa la distribución de los halos de inhibición correspondientes a la concentración EHP 100% en los tres tiempos evaluados. El gráfico muestra que los valores obtenidos a las 24 horas se encuentran ligeramente por encima de los registrados a las 48 y 72 horas, lo que coincide con la tendencia descendente observada en los promedios.

De igual manera, el análisis visual del gráfico permite apreciar que la dispersión de los datos disminuye levemente conforme avanza el tiempo de incubación, lo que sugiere una mayor homogeneidad de las mediciones en los tiempos posteriores.

4.3 Análisis de normalidad de los datos correspondientes a EHP 100%

Con la finalidad de determinar el procedimiento estadístico adecuado para el análisis inferencial de los halos de inhibición observados en la concentración EHP 100%, se evaluó la distribución de los datos mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.

Esta prueba permitió establecer si los datos obtenidos en los tiempos de 24, 48 y 72 horas presentaban un comportamiento compatible con una distribución normal, requisito necesario para la aplicación de pruebas paramétricas.

Tabla 4. Prueba de normalidad Shapiro-Wilk de los halos de inhibición de EHP 100%

Tiempo de evaluación	Estadístico W	p-valor	Interpretación
24h	0.86056	0.2303	Distribución normal
48h	0.93155	0.6070	Distribución normal
72h	0.85305	0.2043	Distribución normal

Los resultados de la prueba de Shapiro-Wilk evidenciaron valores de p superiores a 0.05 en los tres tiempos evaluados, por lo que no se rechazó la hipótesis nula de normalidad. Esto indicó que los datos correspondientes a los halos de inhibición de EHP 100% presentaron una distribución compatible con la normalidad.

En consecuencia, se consideró apropiado aplicar una prueba estadística paramétrica para evaluar la significancia de los halos observados.

4.4 Análisis de significancia estadística de los halos de inhibición en EHP 100%

Una vez comprobado que los datos correspondientes a EHP 100% siguieron una distribución normal, se procedió a realizar un análisis inferencial mediante la prueba **t de Student para una muestra**, tomando como valor de referencia **$\mu = 0$**, con el propósito de determinar si la longitud media de los halos de inhibición obtenidos fue significativamente diferente de la ausencia de halo.

Tabla 5. Prueba t de Student para una muestra aplicada a los halos de inhibición de EHP 100%.

Tiempo de evaluación	Media (mm)	t	df	p-valor	Interpretación
24h	18.25	138.04	4	0.00001	Significativo
48h	17.92	141.01	4	0.00001	Significativo
72h	17.35	91.01	4	0.00001	Significativo

Los resultados obtenidos mostraron valores de p inferiores a 0.05 en los tres tiempos evaluados, por lo que se rechazó la hipótesis nula y se determinó que los halos de inhibición observados en EHP 100% fueron estadísticamente significativos.

En ese sentido, se evidenció que la presencia del halo de inhibición no correspondió a una variación aleatoria, sino a una respuesta medible y consistente frente a *Enterococcus faecalis*.

Asimismo, aunque se observó una ligera disminución en el diámetro promedio del halo conforme avanzó el tiempo, la significancia estadística se mantuvo en las 24, 48 y 72 horas de evaluación.

De esta manera, los resultados inferenciales respaldaron los hallazgos descriptivos previamente observados, confirmando que la concentración EHP 100% presentó actividad antimicrobiana significativa durante todo el periodo analizado.

V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se evaluó la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, así como del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 %, frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 mediante la técnica de difusión en agar. Los resultados evidenciaron que las concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % de *Minthostachys spicata* no presentaron halos de inhibición en ninguno de los tiempos evaluados (24, 48 y 72 horas), mientras que el extracto hidroalcohólico del polvo de *Minthostachys mollis* al 100 % mostró halos de inhibición promedio de 18.25 mm, 17.92 mm y 17.34 mm, respectivamente, demostrando actividad antimicrobiana frente al microorganismo ensayado.

La ausencia de halos de inhibición en las concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % de *Minthostachys spicata* podría estar relacionada con una concentración insuficiente de compuestos bioactivos capaces de generar un efecto inhibitorio observable en el medio de cultivo. En estudios con extractos vegetales, la actividad antimicrobiana depende en gran medida de la concentración empleada, ya que concentraciones menores pueden no contener la cantidad necesaria de metabolitos activos para ejercer acción frente a microorganismos con cierta tolerancia biológica, como *Enterococcus faecalis*.

Este comportamiento coincide con lo reportado por Caytuiro y Chacón, quienes evaluaron el extracto hidroetanólico de *Minthostachys mollis* frente a *Streptococcus mutans* y encontraron que la concentración al 100 % produjo los mayores halos de inhibición, concluyendo que la actividad antibacteriana fue mayor a medida que aumentó la concentración del extracto. No obstante, esta comparación debe interpretarse con cautela, ya que en el presente estudio no se evaluó *Minthostachys spicata* al 100 %, sino un extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis*, el cual fue el único tratamiento que presentó actividad antimicrobiana (15).

Asimismo, los resultados obtenidos guardan especial relación con lo reportado por Gonzales, quien evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de

Minthostachys mollis frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y encontró halos de inhibición en concentraciones iguales o superiores al 50 %, alcanzando sus mayores valores en la concentración al 100 %. Aunque en el presente estudio se trabajó con extracto hidroalcohólico y no con aceite esencial, ambos hallazgos coinciden en demostrar que especies del género *Minthostachys* presentan actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis*, especialmente en concentraciones elevadas (18).

De igual manera, Velarde et al. reportaron que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % presentó actividad antimicrobiana frente a diversas bacterias patógenas, incluyendo *Enterococcus faecalis*, mostrando una respuesta superior a la de otras preparaciones vegetales. Esto permite reforzar la interpretación de que la muña posee compuestos con capacidad antimicrobiana, aunque la magnitud del efecto puede variar según la especie vegetal, el tipo de extracto, la concentración empleada y la susceptibilidad del microorganismo evaluado (22).

En relación con el comportamiento del halo de inhibición a través del tiempo, en el presente estudio se observó que el extracto hidroalcohólico del polvo de *Minthostachys mollis* al 100 % mantuvo actividad antimicrobiana durante las 24, 48 y 72 horas, aunque con una ligera disminución en el diámetro promedio del halo. Este comportamiento sugiere una acción inhibitoria sostenida, aun cuando la intensidad del efecto disminuyó discretamente con el tiempo. Hallazgos semejantes han sido reportados en estudios previos, donde las mayores concentraciones de muña mantuvieron efecto inhibitorio en distintos tiempos de incubación.

Desde el punto de vista estadístico, los resultados permitieron confirmar que los halos de inhibición observados en el extracto hidroalcohólico del polvo de *Minthostachys mollis* al 100 % fueron significativamente diferentes de cero en los tres tiempos evaluados, lo que demuestra que la actividad antimicrobiana observada no fue atribuible al azar. Este hallazgo fortalece la validez de los resultados y aporta sustento cuantitativo a la respuesta antimicrobiana observada.

No obstante, al interpretar estos hallazgos, es importante considerar que la diferencia observada no debe atribuirse exclusivamente a la concentración, ya que en el presente estudio no se evaluó la misma especie vegetal en todas las concentraciones. Mientras que *Minthostachys spicata* fue analizada en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, el

tratamiento con actividad antimicrobiana correspondió al extracto hidroalcohólico del polvo de *Minthostachys mollis* al 100 %. En ese sentido, es posible que las diferencias observadas también estén relacionadas con variaciones fitoquímicas entre ambas especies, así como con el tipo de preparación utilizada.

Por otro lado, el control positivo correspondiente a ciprofloxacino 5 mg/mL no presentó halo de inhibición frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 durante el ensayo. Este resultado podría estar asociado al empleo de una formulación farmacéutica en tabletas, cuya disolución y difusión en el agar pudo haber sido insuficiente para liberar adecuadamente el principio activo. Asimismo, no puede descartarse la influencia de otros factores metodológicos propios de la técnica de difusión en agar. Por ello, este hallazgo constituye una limitación del estudio y debe interpretarse con cautela. En consecuencia, el principal hallazgo de la investigación se centra en la actividad antimicrobiana observada para el extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis*.

En cuanto a la contribución del estudio, los hallazgos obtenidos aportan evidencia experimental sobre la actividad antimicrobiana de especies del género *Minthostachys* frente a *Enterococcus faecalis*, microorganismo de relevancia clínica por su resistencia y persistencia en distintos entornos biológicos. En este sentido, la investigación amplía el conocimiento disponible sobre el potencial antimicrobiano de plantas medicinales andinas y refuerza su interés dentro del campo farmacéutico y microbiológico.

Entre las limitaciones del estudio, debe señalarse que no se evaluó *Minthostachys spicata* en concentración al 100 %, lo cual habría permitido realizar una comparación más directa entre especies y concentraciones. Asimismo, la evaluación se efectuó únicamente mediante la técnica de difusión en agar, la cual depende de la capacidad de difusión de los compuestos activos en el medio de cultivo. Además, no se determinaron parámetros complementarios como la concentración mínima inhibitoria (CMI) o la concentración mínima bactericida (CMB), lo que limita una caracterización más profunda del efecto observado. Del mismo modo, el control positivo no presentó inhibición, lo que restringió una comparación más sólida con un agente antimicrobiano de referencia.

Finalmente, los resultados obtenidos sugieren que el extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* constituye una fuente promisoria de compuestos con actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis*. En ese sentido, estos hallazgos pueden servir como base para futuras investigaciones orientadas a la caracterización fitoquímica de sus metabolitos, la evaluación de diferentes concentraciones y la determinación de parámetros como la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB), con el fin de ampliar el conocimiento sobre su potencial aplicación farmacéutica.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % no presentó actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, ya que no se observaron halos de inhibición en ninguno de los tiempos evaluados mediante la técnica de difusión en agar.
2. El comportamiento del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % se mantuvo sin actividad antimicrobiana durante las 24, 48 y 72 horas de evaluación, evidenciándose ausencia de halos de inhibición en todos los tiempos analizados.
3. El extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % presentó actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, evidenciándose halos de inhibición promedio de 18,25 mm a las 24 horas, 17,92 mm a las 48 horas y 17,34 mm a las 72 horas.
4. El extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % mantuvo actividad antimicrobiana durante las 24, 48 y 72 horas de evaluación, aunque se observó una ligera disminución progresiva del diámetro promedio de los halos de inhibición. Asimismo, el análisis estadístico evidenció diferencias significativas respecto a cero en los tres tiempos evaluados.
5. El análisis estadístico confirmó que los halos de inhibición observados en el extracto hidroalcohólico del polvo de *Minthostachys mollis* al 100 % fueron significativos en los tres tiempos evaluados, confirmando que la actividad antimicrobiana observada no fue atribuible al azar.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se sugiere continuar investigando el extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* utilizando otras concentraciones incluyendo la concentración al 100% y métodos de extracción, además de diferentes técnicas microbiológicas, para determinar si presenta actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 en distintas condiciones experimentales.
2. Se recomienda realizar estudios fitoquímicos del extracto hidroalcohólico del polvo de *Minthostachys mollis* con la finalidad de identificar los compuestos responsables de la actividad antimicrobiana evidenciada durante el estudio.
3. Se considera importante comparar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys mollis* con otros productos naturales y agentes antimicrobianos de uso convencional, a fin de evaluar su posible aplicación en el campo farmacéutico.
4. Se recomienda desarrollar investigaciones complementarias relacionadas con la seguridad, toxicidad y estabilidad del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys mollis*, para valorar su potencial aplicación farmacéutica frente a infecciones bacterianas.
5. Se sugiere incluir en futuros estudios un mayor número de muestras y diferentes microorganismos, con el propósito de obtener resultados más amplios y reforzar la evidencia científica sobre la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys mollis.*

VIII. REFERENCIAS

1. System GAR. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) report: antibiotic use data for 2022 [Internet]. Who.int. World Health Organization; 2025 [citado el 1 de octubre de 2025]. Disponible en: https://www.who.int/publications/i/item/9789240108127
2. Said M, Tirthani E, Lesho E. Enterococcus infections. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [citado el 1 de octubre de 2025]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567759/
3. Daca A, Jarzembowski T. From the Friend to the Foe—*Enterococcus faecalis* Diverse Impact on the Human Immune System [Internet]. Mdpi.com. 2024 [citado el 1 de octubre de 2025]. Disponible en: https://www.mdpi.com/1422-0067/25/4/2422
4. Tamrat E, Asmare Z, Geteneh A, Sisay A, Getachew E, Kassanew B, et al. The global prevalence of biofilm-forming *Enterococcus faecalis* in clinical isolates: a systematic review and meta-analysis. BMC Infect Dis [Internet]. 2025;25(1):981. Disponible en: https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-025-11399-z#:~:text=biofilm%2Dforming%20E.-,faecalis%20clinical%20isolates,heterogeneity%20(I%C2%B2%20%3D%2099.30%25)
5. Infecciones HS. Estudio revela la persistencia de microorganismos dañinos en superficies hospitalarias a pesar de la desinfección rutinaria [Internet]. Hospital sin infecciones. 2024 [citado el 1 de octubre de 2025]. Disponible en: https://hospitalsininfecciones.com/4942/estudio-revela-la-persistencia-de-microorganismos-daninos-en-superficies-hospitalarias-a-pesar-de-la-desinfeccion-rutinaria
6. Muñoz M, Morales R, Aldunate M. Minthostachys (Lamiaceae), género y especie nuevos para Chile [Internet]. Gayanabotanica.cl. 2025 [citado el 5 de octubre de 2025]. Disponible en: https://gayanabotanica.cl/index.php/gb/article/view/576/235
7. Alcázar J, Mesia J, Miranda M, editores. Propiedades terapéuticas y toxicológicas de *Minthostachys mollis*: una revisión [Internet]. Vol. 7. Revista Peruana de Medicina Integrativa; 2024 [citado el 5 de octubre de 2025]. Disponible en: https://rpmi.pe/index.php/rpmi/article/view/815

8. Chunga F, Guzman S, Luque C. Efecto antibacteriano del aceite esencial de Mentha spicata L. sobre *Escherichia coli* Realizado en el laboratorio de Blue Medical, Arequipa 2022 [Internet]. [Arequipa]: Universidad Continental; 2023 [citado el 5 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.continental.edu.pe/bitstream/20.500.12394/13493/1/IV_FCS_508_TE_Chunga_Guzman_Luque_2023.pdf
9. Astocondor L. Influencia de la luz y del ácido giberélico en la germinación de semillas de muña (*Minthostachys spicata* (Benth.) Epling) [Internet]. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2020 [citado el 5 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.lamolina.edu.pe/items/722deb20-4000-4c27-a874-c6c4cc5b5af4
10. Sanga R, Castillo E, Medina R, Zuñiga H, Castillo H. Concentración in vitro del aceite esencial de muña sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 [Internet]. Instituto Universitario de Investigación Inudi Perú; 2022 [citado el 5 de octubre de 2025]. Disponible en: https://editorial.inudi.edu.pe/index.php/editorialinudi/catalog/view/74/109/134
11. Rojas J, Pino J, Cevallos E, Zambrano Z, Vaca C, Molina F, et al. Aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* [HBK] Griseb. del Ecuador: Extracción, composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana. Bol latinoam Caribe plantas med aromát [Internet]. 2024 [citado el 5 de octubre de 2025];23(3):437–47. Disponible en: https://www.blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/431
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 33rd ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: CLSI; 2023. Disponible en: https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/
13. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*. 2020. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29403965/
14. Yagui-Moscoso Martín. El enfoque Una Salud y la resistencia a los antimicrobianos: Implementación en el Perú. An. Fac. med. [Internet]. 2024 Mar [citado 2025 Nov 20]; 85(1): 85-91. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832024000100015
15. Caytuiro W., Chacón D. Eficacia Antibacteriana del Extracto Hidroetanólico de *Minthostachys Mollis* (Muña) y Clorhexidina Frente al Streptococcus Muntans In

Vitro. 2024 [citado el 20 de noviembre de 2025]; Disponible en: https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/20.500.13084/9107

16. Osorio I. Eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* [Internet]. repositorio.usanp. 2022 [citado el 26 de setiembre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.usanpedro.edu.pe/server/api/core/bitstreams/aeba2475-4678-4845-b4d0-fb1d6980386e/content
17. Ordinola C, Vera M. Efecto inhibitorio in vitro de extractos etanólicos de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb., Argemone subfusiformis Ownbey y Solanum americanum Mill. sobre *Staphylococcus aureus* y Klebsiella pneumoniae y su toxicidad sobre Artemia salina en condiciones de laboratorio [Internet]. [Lambayeque]: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2022. Disponible en: https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/10009
18. González G. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en diferentes concentraciones sobre *Enterococcus Faecalis* Atcc 29212. Estudio in Vitro. Universidad Alas Peruanas [Internet]. 2022 [citado el 29 de septiembre del 2025] Disponible https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/9718
19. García B., Tantalean L. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico y metanólico de *Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb. "Muña" frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, 2022. Universidad María Auxiliadora [Internet]. 2022 [citado el 29 de septiembre del 2025] Disponible https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1889
20. Culquipoma J, Gil M. Efecto antibacteriano de una crema a base del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Internet]. Lima: Universidad Privada Roosevelt; 2021 [citado el 21 de setiembre del 2025]. Disponible en: https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14140/518/TESIS%20MARLID%20-%20OMAR.pdf?sequence=1&isAllowed=y
21. Reyes V, Mallma F, Atapoma M, Hospino L, Yabar E. Bioactive compounds and in vitro antibacterial activity of *Clinopodium bolivianum* (Benth) Kuntze. *Bol Latinoam*

Caribe Plant Med Aromat. [Internet]. 2025 [citado el 29 de septiembre de 2025] Disponible en: https://doi.org/10.37360/blacpma.25.24.3.27

22. Velarde J, Escobar M, Moya V, Espinoza M, Veizaga D, Balderrama K. Actividad antibacteriana in vitro del extracto y aceite esencial de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*): Actividad antibacteriana in vitro. Gac médica boliv [Internet]. 2024 [citado el 29 de septiembre de 2025];47(1):14–9. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662024000100014
23. Rojas J, Pino J, Cevallos E, Zambrano Z, Vaca C, Molina F, et al. Aceite esencial de *Minthostachys mollis* [HBK] Griseb. del Ecuador: Extracción, composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana. Bol latinoam Caribe plantas med aromát [Internet]. 2024 [citado el 29 de septiembre de 2025];23(3):437–47. Disponible en: https://blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/431
24. Quispe L. Elaboración y beneficios del aceite esencial de muña (Minthostachys mollys). CIPyCOS [Internet]. 2024 [citado el 13 de noviembre de 2025];3(1):26–30. Disponible en: https://cipycos.umsa.bo/index.php/1/article/view/35
25. Sanchez M., Collantes I. Actividad antimicrobiana de fracciones obtenidas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a patógenos orales. Revista Habanera de Ciencias Médicas [Internet] 2021 [citado el 13 de noviembre de 2025]. Disponible en: https://www.redalyc.org/journal/1804/180468227015/html/
26. García R, Pérez R. Fitoalexinas: mecanismo de defensa de las plantas [Internet]. Rev Chapingo Ser Cienc For Ambiente. 2003 [citado el 15 de octubre de 2025]. Disponible en: https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/Garcia-y-Perez-2003.pdf
27. Zuñiga M. Composición química de los aceites esenciales de *Minthostachys spicata* (Benth) Epling, Clinopodium bolivianum (Benth) Kuntze, Tanacetum vulgare Linnaeus y Mentha x piperita var. Citrata (Ehrh.) Briq y su efecto insecticida para Pagiocerus frontalis [Internet]. [Cusco]: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2022 [citado el 5 de octubre de 2025]. Disponible en: https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/6866/253T20221113_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y
28. Mostacero J, Mejía F, Gamarra O. Flora útil y potencial de los Andes del norte del Perú. Rev Peru Biol. 2019;26(3):311–320. Disponible en: https://medicina.usmp.edu.pe/wp-content/uploads/horizonte/2018-3_RHM.pdf

29. Misharastrera. Muña: conocimiento ancestral y usos medicinales. Disponible en: https://www.misharastrera.com/conocimiento-ancestral/muna/
30. Roldán E. Nivel de consumo de *Minthostachys mollis* en trastornos gastrointestinales. Univ Alas Peruanas. Disponible en: https://repositorio.uap.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/20.500.12990/1558
31. Huamán M. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Univ Alas Peruanas. Disponible en: https://repositorio.uap.edu.pe/jspui/handle/20.500.12990/9718
32. Callo Vilca C. Actividad antimicótica in vitro del aceite esencial de muña. Univ Nac Mayor San Marcos. Disponible en: https://gestionrepo.unmsm.edu.pe/items/54cea964-47b2-4bee-9b66-e74fba828c1d
33. Paredes C. Actividad antioxidante del aceite esencial de muña. Univ Alas Peruanas. Disponible en: https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/1123
34. Alvis A, Martínez W, Arrazola G. Obtención de extractos hidro-alcohólicos de limoncillo (Cymbopogon citratus) como antioxidante natural. Información Tecnológica. 2012;23(2):3-10. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0718-07642012000200002&script=sci_arttext
35. Gilmore MS, Lebreton F, van Schaik W. Enterococci: From commensals to leading causes of drug resistant infection. PLoS Pathog [Internet]. 2013 [citado 2025 oct 19];9(6):e1003461. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6629438/
36. StatPearls. *Enterococcus faecalis* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [citado 2025 oct 19]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK567759/
37. Minogue TD, Daligault HE, Davenport KW, Broomall SM, Bruce DC, Chain PS, et al. Complete genome assembly of *Enterococcus faecalis* 29212, a laboratory reference strain. Genome Announc [Internet]. 2014 [citado 2025 oct 19];2(5):e00968-14. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4175211/
38. MedlinePlus. Ciprofloxacina [Internet]. Bethesda (MD): Biblioteca Nacional de Medicina de EE. UU.; 2024 [citado 2025 nov 5]. Disponible en: https://medlineplus.gov/spanish/druginfo/meds/a688016-es.html

39. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda S. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J Pharm Anal [Internet]. 2016;6(2):71–9. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5762448/
40. Comité de Redacción de Antimicrobianos. Determinación de la sensibilidad: método de dilución. 2012. Disponible en: https://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf

IX. ANEXOS

ANEXO 1: Matriz de consistencia

Título de la investigación: Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y polvo de *Minthostachys mollis* sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Lima 2026.

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
Problema general: ¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?	**Objetivo general:** Determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.	**Hipótesis general:** H_1: El extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y el polvo de *Minthostachys mollis* presentan actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. H_0: El extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y el polvo de *Minthostachys mollis* no presentan actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.	**Variable 1:** Extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y polvo de *Minthostachys mollis* **Dimensiones:** -Tipo de preparación -Concentración -Método de obtención	**Tipo de investigación:** Investigación aplicada **Método y diseño de investigación** Experimental - prospectivo transversal **Población y muestra:**

Problemas específicos: 1. ¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata*, en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?	**Objetivos específicos:** 1. Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata*, en sus tres concentraciones (25 %, 50 % y 75 %), frente a la cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.	**Hipótesis específicas:** 1.El extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en concentraciones de 25%, 50 % y 75 % presenta actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.		- La población estará compuesta por cultivos bacterianos de la cepa *Enterococcus faecalis ATCC 29212* - La muestra será el extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y polvo de *Minthostachys mollis* en distintas concentraciones.
2. ¿Cuál es el comportamiento de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata*, en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 %, a las 24, 48 y 72 horas de evaluación frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?	2. Determinar el comportamiento de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % a las 24, 48 y 72 horas de evaluación frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.	2. El extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* en concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % presenta actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 durante las 24, 48 y 72 horas de evaluación.	**Variable 2:** Actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. **Dimensiones:** -Presencia de inhibición -Grado de inhibición -Tiempo de respuesta antimicrobiana	

3. ¿Cuál es la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?	3. Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.	3. El extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % presenta actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.		
4. ¿Cuál es el comportamiento de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % a las 24, 48 y 72 horas de evaluación frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212?	4. Determinar el comportamiento de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % a las 24, 48 y 72 horas de evaluación.	4. El extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis* al 100 % presenta actividad antimicrobiana frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 durante las 24, 48 y 72 horas de evaluación.		

ANEXO 2: Matriz de operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de medición	Escala valorativa (niveles o rangos)
V1: Extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* Extracto hidroalcohólico preparado a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis*	Preparado obtenido al extraer componentes de una planta o de alguna de sus partes, empleando comúnmente un disolvente como agua o alcohol etílico para facilitar dicha extracción. Preparado obtenido mediante la extracción de los compuestos bioactivos presentes en el polvo comercial de *Minthostachys mollis*.	Extracto hidroalcohólico de *M. spicata* en tres concentraciones (25 %, 50 %, 75 %) Extracto hidroalcohólico obtenido a partir de polvo comercial de *Minthostachys mollis.*	Concentración del extracto Extracto hidroalcohólico	Concentraciones y/o diluciones Extracto hidroalcohólico	Ordinal Ordinal	-Extracto concentrado al 25 % -Extracto concentrado al 50 % -Extracto concentrado al 75 % No aplica
V2: Cepas de *Enterococcus faecalis*	Conjuntos de variantes de esta bacteria Gram positiva que, aunque normalmente habitan en el intestino, pueden causar infecciones y presentar resistencia antimicrobiana.	Evaluación de la zona de inhibición (halo en mm) frente a *Enterococcus faecalis* mediante el método de difusión en agar.	Actividad antimicrobiana	Diámetro del halo de inhibición (mm)	Cuantitativa continua	Milímetros

ANEXO 3: Constancia de la Taxonomía de la *Minthostachys spicata*



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

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Museo de Historia Natural UNMSM

"Año de la Recuperación y Consolidación de la Economía Peruana"

CONSTANCIA N° 180-USM-MHN-2025

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

La muestra vegetal (fértil) recibida de **Amy Strella Chavez Sinte y Mayerli Correa Chavez,** estudiante de pregrado de la Universidad Norbert Wiener ha sido estudiada y clasificada como: *Minthostachys spicata* (Benth.) Epling y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Lamiales Bromhead

FAMILIA : Lamiaceae Martinov

GÉNERO : *Minthostachys* (Benth.) Spach

ESPECIE : *Minthostachys spicata* (Benth.) Epling

Nombre vulgar: "Muña"

Procedencia: Cusco

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago.

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

Lima, 19 de junio de 2025

MUSEO DE HISTORIA NATURAL - UNMSM
Herbario San Marcos
JEFE

Dra. Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

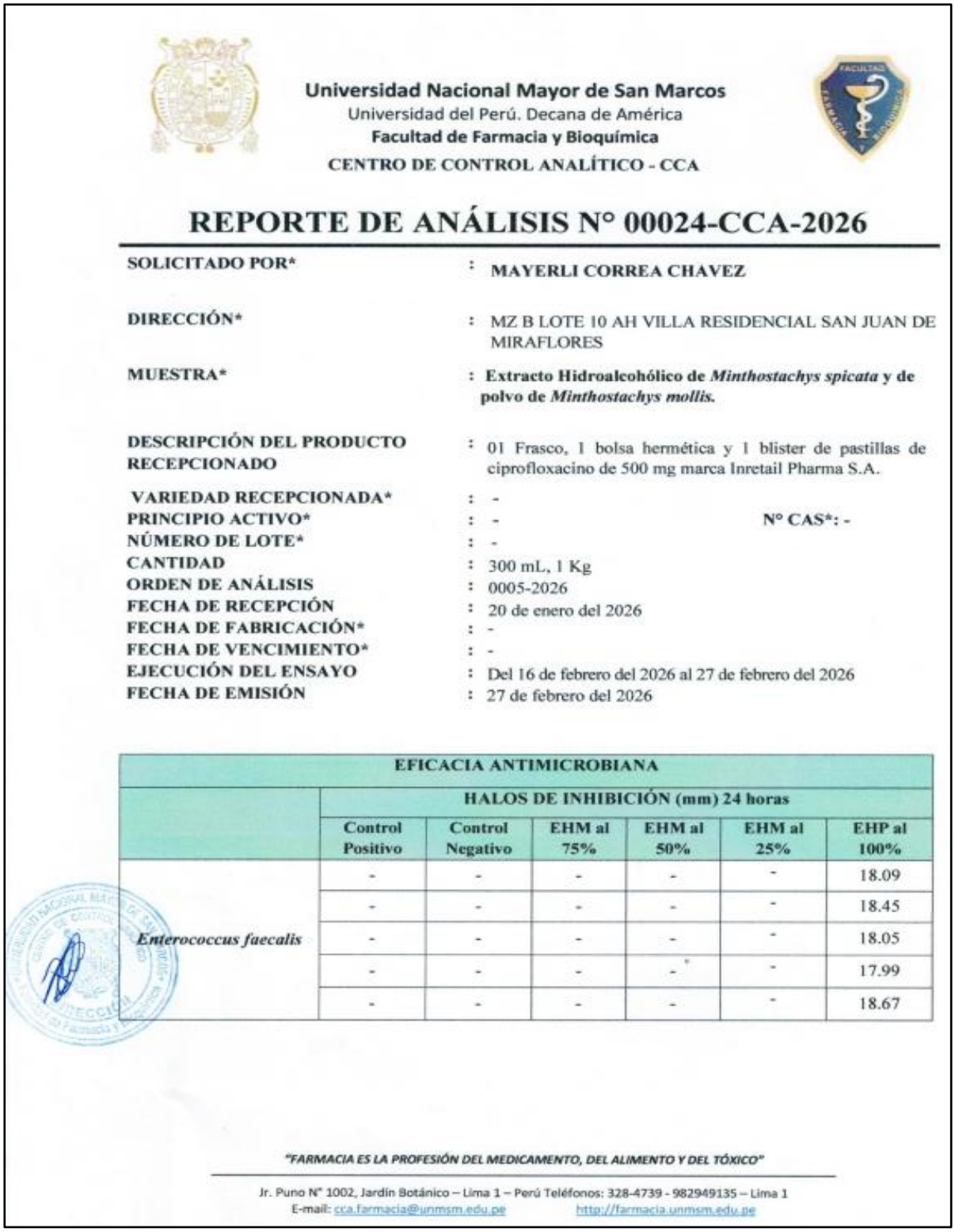
Av. Arenales 1256, Jesús María, Lima, Perú
Código postal Lima 15072

Celular: +51 932 040 566
Lunes a Viernes 8:00 - 15:45

e-mail: herbariousm@unmsm.edu.pe
https://museohn.unmsm.edu.pe/herbario.html

ANEXO 4: Reporte de análisis de actividad antimicrobiana emitido por el Centro de Control Analítico de la UNMSM. Evidencias fotográficas del procedimiento experimental.

4.1. Ficha de registro de medición de halos de inhibición



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA

REPORTE DE ANÁLISIS N° 00024-CCA-2026

SOLICITADO POR*	:	**MAYERLI CORREA CHAVEZ**
DIRECCIÓN*	:	MZ B LOTE 10 AH VILLA RESIDENCIAL SAN JUAN DE MIRAFLORES
MUESTRA*	:	**Extracto Hidroalcohólico de *Minthostachys spicata* y de polvo de *Minthostachys mollis*.**
DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO RECEPCIONADO	:	01 Frasco, 1 bolsa hermética y 1 blister de pastillas de ciprofloxacino de 500 mg marca Inretail Pharma S.A.
VARIEDAD RECEPCIONADA*	:	-
PRINCIPIO ACTIVO*	:	- **N° CAS*: -**
NÚMERO DE LOTE*	:	-
CANTIDAD	:	300 mL, 1 Kg
ORDEN DE ANÁLISIS	:	0005-2026
FECHA DE RECEPCIÓN	:	20 de enero del 2026
FECHA DE FABRICACIÓN*	:	-
FECHA DE VENCIMIENTO*	:	-
EJECUCIÓN DEL ENSAYO	:	Del 16 de febrero del 2026 al 27 de febrero del 2026
FECHA DE EMISIÓN	:	27 de febrero del 2026

EFICACIA ANTIMICROBIANA

	HALOS DE INHIBICIÓN (mm) 24 horas					
	Control Positivo	**Control Negativo**	**EHM al 75%**	**EHM al 50%**	**EHM al 25%**	**EHP al 100%**
Enterococcus faecalis	-	-	-	-	-	18.09
	-	-	-	-	-	18.45
	-	-	-	-	-	18.05
	-	-	-	-	-	17.99
	-	-	-	-	-	18.67

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

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú Teléfonos: 328-4739 - 982949135 – Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA

EFICACIA ANTIMICROBIANA						
	HALOS DE INHIBICIÓN (mm) 48 horas					
	Control Positivo	Control Negativo	EHM al 75%	EHM al 50%	EHM al 25%	EHP al 100%
Enterococcus faecalis	-	-	-	-	-	17.85
	-	-	-	-	-	18.02
	-	-	-	-	-	17.73
	-	-	-	-	-	17.64
	-	-	-	-	-	18.36

EFICACIA ANTIMICROBIANA						
	HALOS DE INHIBICIÓN (mm) 72 horas					
	Control Positivo	Control Negativo	EHM al 75%	EHM al 50%	EHM al 25%	EHP al 100%
Enterococcus faecalis	-	-	-	-	-	16.93
	-	-	-	-	-	17.29
	-	-	-	-	-	17.30
	-	-	-	-	-	17.15
	-	-	-	-	-	18.06

***Control positivo:** Ciprofloxacino 5mg/mL
***Control negativo:** Alcohol de 70%
*EHM: Extracto hidroalcohólico de *Minthostachys spicata*
*EHP: Extracto hidroalcohólico de polvo de *Minthostachys mollis*
***Concentración del inóculo:** $1x10^8$ UFC/mL
*Volumen inóculado: 100 uL
***Medio de cultivo:** Agar Mueller – Hinton

Dr. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Director del Centro de Control Analítico

*Datos proporcionados por el cliente
Los resultados son válidos solo para la muestra ensayada

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

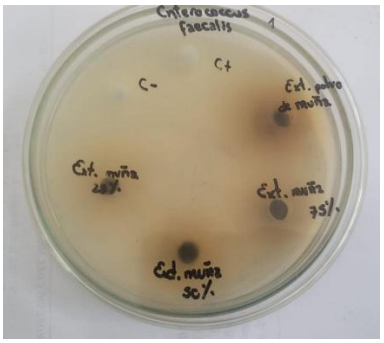
Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú Teléfonos: 328-4739 - 982949135 – Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe

4.2. Instrumento utilizado para la inhibición



Figura 1. Vernier digital utilizado para la medición de los halos de inhibición.

4.3. Evidencia fotográfica



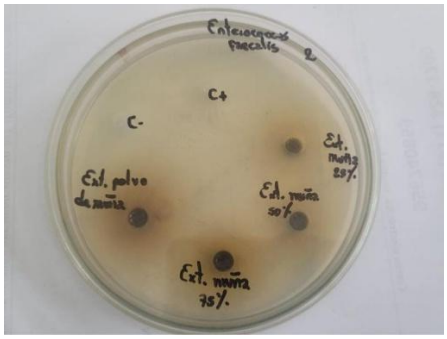




Figura 2. Medición de los halos de inhibición a las 24 horas.

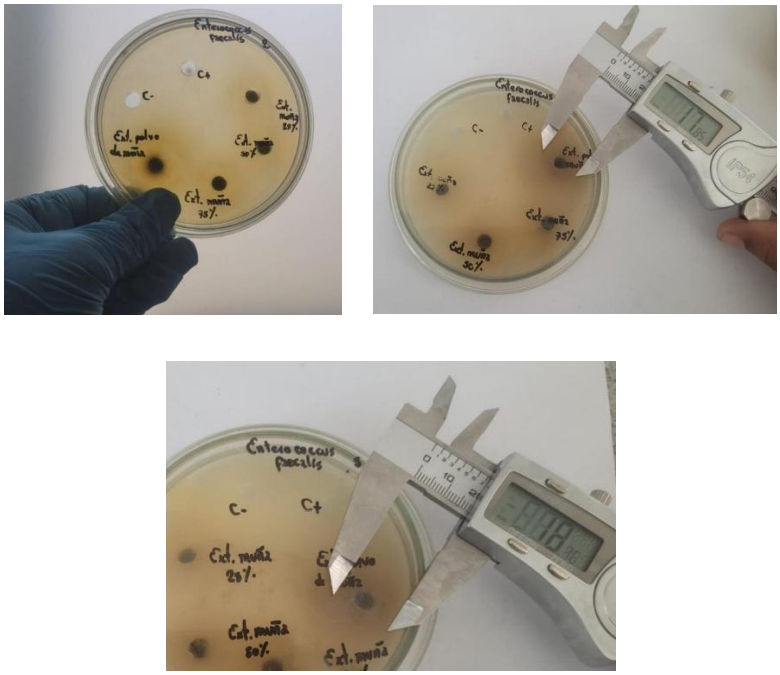


Figura 3. Medición de los halos de inhibición a las 48 horas.

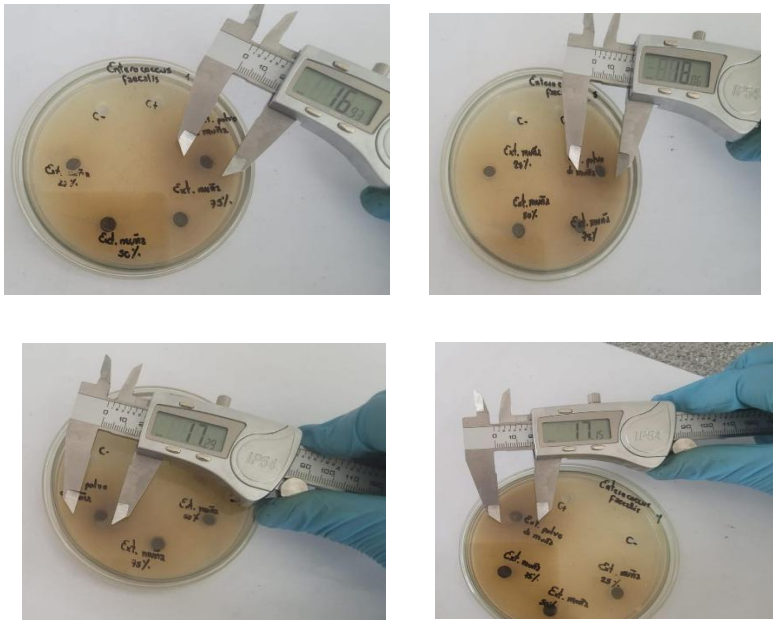


Figura 4. Medición de los halos de inhibición a las 72 horas.

ANEXO 5: Comandos del software R

GRÁFICO DE CAJAS

```
getwd()
setwd("C:/Users/JCRUZADO/Desktop/SOBREVIDA EN R")
library(readxl)
SOBREVIDA<-"sobrevida r.xlsx"
KM=read_xlsx(SOBREVIDA,
        sheet = "ENTEROCOCUSCAJA",
        col_names = TRUE)
boxplot(EHP ~ HORAS, data = KM )
```

PRUEBA DE SHAPIRO

```
getwd()
setwd("C:/Users/JCRUZADO/Desktop/SOBREVIDA EN R")
library(readxl)
SOBREVIDA<-"sobrevida r.xlsx"
KM=read_xlsx(SOBREVIDA,
        sheet = "ENTEROCOCUS",
        col_names = TRUE)
Swn<-shapiro.test(KM$EHP24H)
Swn
```

PRUEBA T-STUDENT PARA UNA MUESTRA

```
getwd()
setwd("C:/Users/JCRUZADO/Desktop/SOBREVIDA EN R")
library(readxl)
SOBREVIDA<-"sobrevida r.xlsx"
KM=read_xlsx(SOBREVIDA,
        sheet = "ENTEROCOCUS",
        col_names = TRUE)
test <- t.test(KM$EHP24H, mu=0)
print(test)
```

SHAPIRO WILK

La prueba de Shapiro-Wilk es una prueba estadística que evalúa la hipótesis nula de que una muestra proviene de una población con una distribución normal. Es recomendada aplicar cuando el tamaño de muestra es pequeño.

La hipótesis nula (Ho) que se plantea es:

Ho : Los datos siguen una distribución normal

H1 : Los datos no siguen una distribución normal

El estadístico de prueba es:

$$W = \frac{\left(\sum_{i=1}^{n} a_i x_{(i)}\right)^2}{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \overline{x})^2}$$

Donde:

Xi : Es el número que ocupa la i-esima posición en la muestra (Con la muestra ordenada de menor a mayor)

$\bar{X}$: Es la media muestral

ai : Se calcula

$$(a_1, \ldots, a_n) = \frac{m^\top V^{-1}}{(m^\top V^{-1} V^{-1} m)^{1/2}}$$

Donde:

$$m = (m_1, \ldots, m_n)^\top$$

Siendo m_1, m_2, …, m_n ; Los valores medios del estadístico ordenado de variables aleatorias independientes e idénticamente distribuidas, muestreadas de distribuciones normales.

V: La matriz de covarianzas

Si el p-valor es < 0.05 se rechaza Ho; indicando que nuestros datos no provienen de una distribución normal.

PRUEBA T – STUDENT PARA UNA MUESTRA

Esta prueba se aplica a una variable con distribución normal, donde la hipótesis a contrastar es que la muestra procede de una subpoblación en la que la media

$$H_0 : \bar{X} = Constante$$

El procedimiento que se realiza consiste en calcular el promedio de nuestro conjunto de datos $\bar{X}$ y la varianza s^2; luego se calcula el error estándar de estas diferencias:

$$\text{SED} = \sqrt{\frac{s^2}{n}}$$

El valor t se obtiene al calcular:

$$t = \frac{\overline{X} - Constante}{SED}$$

Si el p-valor asociado al estadístico de contraste obtenido es < 0.05 Rechazamos H_0

ANEXO 6: Carta de Aprobación por el Comité de Ética e Integridad Científica

Universidad Norbert Wiener

COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA E INTEGRIDAD CIENTÍFICA

CONSTANCIA DE APROBACIÓN
DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Lima, 16 de enero del 2026.

Autor Responsable:
AMY STRELLA CHAVEZ SINTE

Exp. Nº: 3924-2025

De mi consideración:
Es grato expresarle mi cordial saludo y a la vez informarle que el Comité Institucional de Ética e Integridad Científica (CIEIC) de la Universidad Privada Norbert Wiener evaluó y **APROBÓ** el siguiente proyecto de investigación:

Proyecto Titulado: **"Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Minthostachys spicata y polvo de Minthostachys mollis sobre Enterococcus faecalis ATCC 29212, Lima 2026"**
Versión Nro. 1, aprobada por el asesor en fecha 16/01/ 2026.

El cual tiene como Autor(es) a:
AMY STRELLA CHAVEZ SINTE
MAYERLI CORREA CHÁVEZ

La **APROBACIÓN** otorgada comprende la verificación del cumplimiento de las buenas prácticas éticas, la adecuada evaluación del balance riesgo/beneficio, la idoneidad del equipo de investigación y la garantía de confidencialidad en el manejo de los datos, entre otros aspectos éticos y metodológicos pertinentes.

El investigador deberá considerar los siguientes puntos detallados a continuación:

- La aprobación otorgada por el CIEIC tiene una **vigencia de veinticuatro (24) meses** contados desde la fecha de emisión del presente documento. Esta vigencia es exclusiva para los procedimientos éticos revisados por el Comité y no sustituye ni aplica a los trámites administrativos ante la Oficina de Grados y Títulos.
- La constancia de aprobación por el CIEIC **no garantiza** la **aceptación** por parte de las **instituciones** en las que se planea realizar la investigación.
- En caso de requerir una **enmienda**, entendida como una modificación menor que **no altera de manera sustantiva** el proyecto aprobado, esta deberá ser presentada al CIEIC y no podrá ejecutarse sin su aprobación previa. **Cualquier cambio sustantivo deberá tramitarse como proyecto nuevo** ante el CIEIC.

Es cuanto informo a usted para su conocimiento y fines pertinentes.

Atentamente,

Mg. Angelica Karina Minaya Galarreta
Presidente
Comité Institucional de Ética e Integridad Científica
Universidad Privada Norbert Wiener

Avenida Arequipa 440 / Teléfono: 939513820 (Atención: lunes a viernes de 8:00 a 16:30 horas.) / Correo: comite.etica@uwieneredu.pe

ANEXO 7: Certificado de la cepa *Enterococcus Faecalis ATCC 29212*

ThermoFisher SCIENTIFIC
The world leader in serving science

Thermo Fisher Scientific
Microbiology
12076 Santa Fe Trail Drive
Lenexa, KS 66215
800.255.6730
800.447.5761 fax
www.thermofisher.com

thermo scientific

Certificate of Analysis - Accredited Reference Material

Thermo Scientific™ Trademark™
Product Number R4717030
Product Name E. faecalis ATCC 29212 Q+ KT/100 TST
Lot Number 247548
Usage Decision Accepted (OK)
Expiration Date 2026-09-24

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820.
The results were derived from a representative sample of the batch and were obtained at the time of release.
Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use, hazard/safety requirements, and storage conditions.

Product Char	Results
Purity	Demonstrates pure growth on applicable media
Viability	Recovered at acceptable level within test period
Passage	2 (Current preserved state)
Delivery	<100 CFU/0.1 mL

E. faecalis ATCC 29212 Q+ KT/100 TST	Results	Specification
>85% Identification on Vitek 2C GP	99	85 - 100
>95% Identification on MicroSEQ		95 - 100
CFU Mean	71	-
Microscopic Features	Pass	

These tests are performed in accordance with ISO 17025 guidelines.
Thermo Fisher Scientific has determined each loop of this reference material to be sufficiently homogeneous for its intended use.
Individual products are traceable to a recognized culture collection.
Although the Vitek(TM) panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods

Printed on: 2025/04/04

Signed



Dawn Baker
QA Manager

The identity, purity, and authenticity of the Licensed Products are exclusively the responsibility of Remel Inc. and not ATCC.
The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative Word mark, and the ATCC Catalog Marks are trademarks of ATCC.
Remel Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® culture.

ATCC Licensed Derivative®

A2LA ACCREDITED
CERT #6559.01

Thermo Fisher Scientific is accredited by A2LA as a registered reference material producer certificate number 6559.01 in accordance with ISO 17034[1].

[1] ISO 17034 First Edition 2016-11-01 General requirements for the competence of reference material producers

Version 1.0

Thermo Fisher Scientific

bioMérieux Customer: 1011208
System #: 504538

Laboratory Report

Autoprint
Report Version: 1 of 1

Isolate: 247548-1 (To be reviewed)
Card Type: GP Bar Code: 2423129403243473 Testing Instrument: 00000B4D4CA6 (01783)
Setup Technologist: Bri Yokum(BYokum)

Bionumber: 154002721753471
Organism Quantity:

Selected Organism: Enterococcus faecalis

Comments:	

McFarland:

Identification Information	**Card:**	GP	**Lot Number:**	2423129403	**Expires:**	Jun 21, 2026 13:00 CDT
	Status:	Final	**Analysis Time:**	2.90 hours	**Completed:**	Apr 1, 2025 15:56 CDT
Organism Origin	VITEK 2					
Selected Organism	99% Probability **Enterococcus faecalis**					
	Bionumber: 154002721753471			Confidence: Excellent identification		
Analysis Organisms and Tests to Separate:						
Analysis Messages:						
Contraindicating Typical Biopattern(s)						

Biochemical Details

2	AMY	+	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	+	9	BGAL	-	11	AGLU	+
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	+	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	-
20	LeuA	-	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	+	27	BGUR	-
28	AlaA	+	29	TyrA	+	30	dSOR	+	31	URE	-	32	POLYB	+	37	dGAL	-
38	dRIB	+	39	ILATk	-	42	LAC	-	44	NAG	+	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	+	50	NC6.5	-	52	dMAN	+	53	dMNE	+	54	MBdG	+	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	-	59	SAL	+	60	SAC	+	62	dTRE	+	63	ADH2s	+
64	OPTO	+															

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02
MIC Interpretation Guideline:
AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:
AES Parameter Last Modified:

Thermo Fisher Scientific

bioMérieux Customer: 1011208
System #: 504538

Laboratory Report

Autoprint
Report Version: 1 of 1

Isolate: 247548-1 (To be reviewed)
Card Type: GP Bar Code: 2423129403243473 Testing Instrument: 00000B4D4CA6 (01783)
Setup Technologist: Bri Yokum(BYokum)

Bionumber: 154002721753471
Organism Quantity:

Selected Organism: Enterococcus faecalis

Action	Name (User ID)	Date/Time	Comment

Installed VITEK 2 Systems Version: 9.02
MIC Interpretation Guideline:
AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:
AES Parameter Last Modified:

Page 2 of 2

20% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

17% Fuentes de Internet
4% Publicaciones
12% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Fuentes principales

17% Fuentes de Internet
4% Publicaciones
12% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1 Internet
repositorio.unjbg.edu.pe 3%

2 Internet
sjb-lasalle.edu.pe 1%

3 Internet
hdl.handle.net <1%

4 Internet
repositorio.uwiener.edu.pe <1%

5 Trabajos entregados
Universidad Wiener on 2024-07-06 <1%

6 Trabajos entregados
D.A. de Estomatología on 2026-05-14 <1%

7 Internet
www.scielo.org.bo <1%

8 Internet
alicia.concytec.gob.pe <1%

9 Internet
blacpma.ms-editions.cl <1%

10 Internet
repositorio.unica.edu.pe <1%

11 Internet
www.revhabanera.sld.cu <1%