

Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral

Antibacterial and Antifungal Activity of the essential oil of *Minthostachys mollis* against oral microorganisms

Elizabeth Paucar-Rodriguez¹ <https://orcid.org/0000-0002-6948-9321>

Nimia Peltroche-Adrianzen^{1,2} <https://orcid.org/0000-0002-1311-1741>

César Félix Cayo-Rojas^{1,2,3*} <https://orcid.org/0000-0002-5560-7841>

¹Universidad Nacional Federico Villarreal, Facultad de Odontología. Lima. Perú.

²Universidad Nacional Federico Villarreal, Escuela de Posgrado. Lima, Perú.

³Universidad Privada San Juan Bautista, Escuela de Estomatología. Lima, Perú.

*Autor para correspondencia: cesarcayorojas@gmail.com

RESUMEN

Introducción: La *Minthostachys mollis* es una planta aromática que crece en América Latina y produce aceites esenciales con acción antimicrobiana.

Objetivo: Determinar la actividad del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en diferentes concentraciones, comparado con doxiciclina y fluconazol frente a *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, a las 24, 48 y 72 horas.

Métodos: Se realiza estudio experimental *in vitro* y longitudinal. Se prepararon 15 pocillos por subgrupo para evaluar el efecto inhibitorio de todas las concentraciones, dando un total de 360 pocillos. Por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se identificaron los componentes químicos del aceite esencial. Se analizó el efecto inhibitorio por el método de difusión de Kirby-Bauer en Agar Columbia y Agar Muller Hinton. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba ANOVA y Tukey.

Resultados: En el análisis químico se identificó principalmente pulegona (30,17 %) y mentona (16,55 %). Los halos de inhibición de *Minthostachys mollis* al 100 % a las 24, 48 y 72 horas frente a la *Porphyromonas gingivalis*, midieron: 10,2 mm, 9,8 mm y 9,6 mm, respectivamente; frente al *Staphylococcus aureus*, midieron: 10,4 mm, 9,7 mm y 9,4 mm, respectivamente; y, por último, frente a *Candida albicans* midieron: 9,8 mm, 8,9 mm y 8,5 mm, respectivamente. Todas las concentraciones de *Minthostachys mollis* presentaron un efecto antimicrobiano significativamente menor que el fluconazol y la doxiciclina ($p < 0,001$).

Conclusiones: El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % presentó su mejor actividad inhibitoria frente al *Staphylococcus aureus*, la *Porphyromonas gingivalis* y la *Candida albicans* a las 24 horas. Sin embargo, este efecto antimicrobiano disminuye a medida que pasa el tiempo.

Palabras clave: *Minthostachys mollis*; *Staphylococcus aureus*; *Porphyromonas gingivalis*; *Candida albicans*; fluconazol; doxiciclina; Kirby-Bauer.

ABSTRACT

Introduction: *Minthostachys mollis* is an aromatic plant species growing in Latin America which produces essential oils with antimicrobial activity.

Objective: Determine the activity of essential oil from *Minthostachys mollis* at various concentrations as compared with doxycycline and fluconazole against *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* at 24, 48 and 72 hours.

Methods: An in vitro experimental longitudinal study was conducted. Fifteen wells were prepared per subgroup to evaluate the inhibitory effect of all concentrations, for a sum total of 360 wells. Chemical components of the essential oil were identified by gas chromatography-mass spectrometry. The inhibitory effect was analyzed with the Kirby-Bauer diffusion method in Mueller-Hinton and Columbia agar. Statistical analysis was based on ANOVA and Tukey's test.

Results: Chemical analysis mainly found pulegone (30.17%) and menthone (16.55%). The inhibition halos of 100% *Minthostachys mollis* at 24, 48 and 72 hours against *Porphyromonas gingivalis* measured 10.2 mm, 9.8 mm and 9.6 mm,

respectively, against *Staphylococcus aureus* they measured 10.4 mm, 9.7 mm and 9.4 mm, respectively, and against *Candida albicans* they measured 9.8 mm, 8.9 mm and 8.5 mm, respectively. The antimicrobial effect of *Minthostachys mollis* at all concentrations was significantly lower than that of fluconazole and doxycycline ($p < 0.001$).

Conclusions: The essential oil from 100% *Minthostachys mollis* displayed its best inhibitory activity against *Staphylococcus aureus*, *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* at 24 hours. However, such antimicrobial effect decreases with the passing of time.

Keywords: *Minthostachys mollis*; *Staphylococcus aureus*; *Porphyromonas gingivalis*; *Candida albicans*; fluconazole, doxycycline, Kirby-Bauer.

Recibido: 03/12/2020

Aceptado: 22/02/2021

Introducción

La medicina natural utilizada como tratamiento alternativo y/o complementario para contrarrestar enfermedades que son de gran preocupación en materia de salud pública, está cobrando cada vez más importancia.^(1,2,3) Por ello, la Organización Mundial de Salud considera a los productos naturales como fuente de nuevos fármacos a partir de extractos y/o aceites esenciales, extraídos de las plantas por diferentes métodos, tales como: el método de arrastre por deshidratación y destilación; y, el método de separación e identificación por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM), con lo cual se obtienen compuestos químicos con actividad antimicrobiana, entre ellos flavonoides, fenoles, glicoles, y saponinas, entre otros.^(4,5,6,7) Adicionalmente, para evaluar la capacidad inhibitoria del crecimiento de microorganismos se pueden aplicar los métodos de difusión de Kirby - Bauer en discos o pocillos, también el de citofluorimetría (citometría de flujo), o bioluminiscentes, que valoran la

sensibilidad de diferentes patógenos que pueden afectar la salud bucal, entre ellos: *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Cándida albicans* (ATCC 10231).^(8,9,10,11)

El Perú cuenta con una megadiversidad de plantas de más de 50 mil especies nativas, entre las que se encuentra la *Minthostachys mollis* (muña) Su aceite esencial es considerado como una de las grandes promesas de la etnofarmacología, de manera similar a algunos fármacos obtenidos por la vía industrial.^(9,10)

Existen pocas investigaciones sobre el efecto del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a diferentes bacterias y hongos.^(12,13) Sin embargo, en estos estudios, se ha atribuido el efecto inhibitorio del aceite esencial de la muña a componentes químicos, tales como, terpenoides, monoterpenos, neomentol, pulegona, mentona, geraniol y citronelol, y se ha demostrado una buena efectividad antibacteriana frente al *Staphylococcus aureus*.

Otros estudios,^(9,14) reportaron resultados discrepantes en cuanto a la actividad antimicótica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a *Cándida albicans*, a diferentes concentraciones, comparado con el fluconazol.

Algunos experimentos *in vitro*^(10,15) con aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % a las 24 horas, llevados a cabo con el método Kirby Bauer, reportaron mayor efectividad antibacteriana frente a la *Porphyromonas gingivalis*, en comparación con la doxiciclina (50 mg) y la gentamicina sulfato (0,016 mg/mL). Además, *Fuertes y Munguía*,⁽¹⁶⁾ realizaron un estudio *in vitro*, para comparar la efectividad antibacteriana del aceite esencial de la muña, procedente de tres regiones del Perú: Tarma, Ancash y Huancavelica, y encontraron mayor efectividad de la muña que procedía de la región de Huancavelica, lo que puso en evidencia que la muña puede presentar variación de la composición química, en dependencia del lugar donde se desarrolla. Esto constituye un factor importante a considerar al evaluar su acción antimicrobiana.

Por lo antes expuesto, es que se planteó como objetivo de la investigación determinar la actividad del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña), en diferentes concentraciones: 100 %, 75 %, 50 % y 25 %, comparado con la doxiciclina y el fluconazol frente a *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas.

Métodos

Tipo y delimitación de la investigación

Esta investigación experimental *in vitro*, longitudinal y analítica fue aprobada por un comité de investigación de la Universidad Nacional Federico Villarreal en Perú, con resolución RR-75-2020-CU-2020. La parte experimental se llevó a cabo en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de julio a noviembre del 2020.

Cálculo de tamaño de muestra y muestreo

La muestra estuvo constituida por 15 réplicas ($n = 15$) por subgrupos (24 h, 48 h y 72 h) y se calculó a partir de un estudio piloto por medio de la fórmula de comparación de medias, que consideró un $\alpha = 0,05$ y un poder estadístico de $1 - \beta = 0,80$, con varianzas $S_1^2 = 0,8$ y $S_2^2 = 1,1$.

Las unidades de estudio se seleccionaron por muestreo aleatorio simple sin reposición. Los grupos se conformaron de la siguiente manera:

- 45 réplicas con *Minthostachys mollis* al 100 %.
- 45 réplicas con *Minthostachys mollis* al 75 %.
- 45 réplicas con *Minthostachys mollis* al 50 %.
- 45 réplicas con *Minthostachys mollis* al 25 %.
- 45 réplicas con Doxiciclina 50 mg/mL [Control (+)].
- 45 réplicas con Dimetilsulfóxido [Control (-)].
- 45 réplicas con Fluconazol 50 mg/mL [Control (+)].
- 45 réplicas con Poli Sorbato - 80 [Control (-)].

Cada grupo de 45 réplicas fue dividido en 3 subgrupos de 15 réplicas cada uno, para evaluar el efecto inhibitorio a las 24, 48 y 72 horas.

Recolección y elaboración del aceite esencial

Se recolectaron 80 kg de *Minthostachys mollis* del departamento de Huancavelica, Perú a 3000 metros sobre el nivel del mar. Posteriormente, una muestra de 2 kg de la planta fue remitida al herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su reconocimiento taxonómico, y la muestra fue identificada como *Minthostachys mollis* (021-USM-2019).

Posteriormente, se seleccionaron las hojas y se retiraron otros elementos biológicos de la planta. Luego a los 80 kg de *Minthostachys mollis* se aplicó el método de arrastre de vapor de agua, del cual se extrajeron 22 mL de aceite esencial con un decantador o vaso Florentino. Seguidamente, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* fue diluido con dimetilsulfóxido en concentraciones de 100 %, 75 %, 50 % y 25 %.

Procedimiento microbiológico

Las cepas de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Cándida albicans* (ATCC 10231), fueron obtenidas del laboratorio GenLab®.

Sobre la activación de las cepas, la bolsa que mantuvo la cepa liofilizada (Microbiologics®) permaneció a una temperatura entre 2 y 8 °C. Las cepas fueron activadas por un proceso de hidratación. Se presionó la ampolla con las cepas en la parte superior del empaque justo debajo del menisco para liberar el hidratante hasta que la suspensión estuvo homogénea. Acto seguido, se transfirió al caldo de tioglicolato (Merck®) y luego se colocó en la jarra de anaerobiosis (bbl GasPak®) durante 48 h a 37 °C en la incubadora Memmert®, junto con Anaerocult C®.

Se realizó el control de calidad del patrón de turbidez de 0,5 de McFarland bd bbl®. Para ello se agitó vigorosamente el patrón en un vórtice Thermolyne® y se comprobó la densidad de éste, determinando la absorbancia mediante un

espectrofotómetro DR 6000 UV-VIS® con un haz luminoso a una distancia de 1 cm. La absorbancia a 625 nm dio un valor entre 0,08 y 0,10, luego se procedió con la preparación de la suspensión del inóculo de tal manera que se ajustara a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, de acuerdo con la turbidez estándar de 0,5 de McFarland. Esto se logró mediante el método de diluciones seriadas 1:10. La eficacia antimicrobiana fue evaluada mediante el método de difusión de Kirby-Bauer (pozo) en agar columbia + 5 % de sangre de cordero para la *Porphyromonas gingivalis* y en agar Mueller Hinton para el *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans*. Una vez temperado se vertieron 25 mL del agar en las placas Petri estériles, para dar un fondo uniforme de 2 mm, con 90 mm de diámetro y se dejó solidificar a temperatura ambiente.

Los halos de inhibición bajo el método de Kirby-Bauer fueron medidos a las 24, 48 y 72 horas con un vernier digital calibrado (Vogel, Alemania)® y se anotó en hoja de cálculo de Microsoft Excel 2019®. Para disminuir al máximo el sesgo de medición se utilizó la técnica de doble ciego, porque tanto el que midió los halos de inhibición, como el que hizo el análisis estadístico, desconocían la asignación de los grupos de acuerdo al producto empleado. Por otro lado, se hizo una calibración de medición de los halos inhibitorios del investigador principal, tanto intraexaminador (EP), como interexaminador (EP y CC) y se obtuvo un coeficiente de correlación R de Pearson de 0,96 y 0,91 respectivamente, lo que demostró muy buena concordancia.

Análisis estadístico

Los datos fueron recolectados en una ficha *ad hoc* e ingresados a una hoja de cálculo de Microsoft Excel 2019®, posteriormente fueron exportados y procesados con el paquete estadístico SPSS® (*Statistical Package for the Social Sciences*) versión 24. Para el análisis descriptivo se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión, como la media y la desviación estándar y los resultados fueron resumidos en tablas de frecuencias. Adicionalmente, se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y la prueba de homocedasticidad de Levene, cuyos resultados demostraron que los datos reunían los requisitos para aplicar pruebas paramétricas. Por ello se decidió contrastar la hipótesis con el análisis de ANOVA

con un test de ajuste *post hoc* de Tukey y, además, se consideró un nivel de significancia al 95 % y un error tipo I.

Resultados

Por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se identificaron 36 compuestos químicos que comprenden el 100 % de la composición total del aceite esencial de *Minthostachys mollis* proveniente de la ciudad de Huancavelica. A continuación, se reportan los principales compuestos identificados, de mayor a menor concentración (Tabla 1).

Tabla 1 - Composición química del aceite esencial de *Minthostachys mollis* por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Compuesto	Porcentaje en la muestra (%)
Pulegona	30,17
Mentona	16,55
Mentol	15,23
p-Mentanona	10,49
B -Cariofileno	5,00
Otros	22,56
Total	100,00

Los halos de inhibición que logra el aceite esencial del *Minthostachys mollis* frente a la *Porphyromonas gingivalis*, tienden a disminuir respecto a la concentración y el tiempo. Por otro lado, la *Minthostachys mollis* al 25 %, tanto a las 24, 48 y 72 horas, no presentó actividad antimicrobiana frente al *Porphyromonas gingivalis*, tal como se puede apreciar al compararlo con el control negativo (Tabla 2).

Tabla 2 - Variación de los halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, al 100 %, 75 %, 50 % y 25 % frente a la *Porphyromonas gingivalis*, a las las 24, 48 y 72 horas

Grupo	h	n	Media	Desviación estándar	ANOVA p-valor	Prueba Tukey p-valor	
						48 h	72 h
<i>Minthostachys Mollis</i> 100 %	24	15	10,2	0,2	0,001*	0,001*	0,001*
	48	15	9,8	0,2		-	0,001*
	72	15	9,6	0,1		-	-
<i>Minthostachys Mollis</i> 75 %	24	15	9,1	0,3	0,001*	0,001*	0,001*
	48	15	8,8	0,2		-	0,001*
	72	15	8,5	0,2		-	-
<i>Minthostachys Mollis</i> 50 %	24	15	7,8	0,5	0,001*	0,001*	0,001*
	48	15	7,2	0,3		-	0,001*
	72	15	6,9	0,3		-	-
<i>Minthostachys Mollis</i> 25 %	24	15	6,0	0,0	0,988	-	-
	48	15	6,0	0,0		-	-
	72	15	6,0	0,0		-	-
Control (+)	24	15	11,0	0,3	0,001*	0,001*	0,001*
	48	15	10,3	0,2		-	0,001*
	72	15	9,2	0,3		-	-
Dimetilsulfóxido Control (-)	24	15	5,9	0,3	0,765	-	-
	48	15	5,9	0,4		-	-
	72	15	5,9	0,3		-	-

*Diferencias significativas ($p < 0,05$); h: horas, n: número de réplicas.

Los halos de inhibición que logra el aceite esencial del *Minthostachys mollis* frente a la *Staphylococcus aureus*, tiende a disminuir respecto a la concentración y el tiempo. Por otro lado, la *Minthostachys mollis* al 25% tanto a las 24, 48 y 72 horas,

no presentaron actividad antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus*, tal como se puede apreciar al compararlo con el control negativo. (Tabla 3).

Tabla 3 - Variación de los halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 %, 75 %, 50 % y 25 % frente al *Staphylococcus aureus*, a las 24, 48 y 72 horas

Grupo	h	n	Media	Desviación estándar	ANOVA p-valor	Prueba Tukey p-valor	
						48 horas	72 horas
<i>Minthostachys mollis</i> 100 %	24	15	10,4	0,5	0,001*	0,001*	0,001*
	48	15	9,7	0,4		-	-
	72	15	9,4	0,5		-	-
<i>Minthostachys mollis</i> 75 %	24	15	9,2	0,5	0,001*	-	0,001*
	48	15	8,9	0,5		-	-
	72	15	8,6	0,2		-	-
<i>Minthostachys mollis</i> 50 %	24	15	7,9	0,6	0,001*	0,001*	0,001*
	48	15	7,3	0,3		-	0,001*
	72	15	6,9	0,3		-	-
<i>Minthostachys mollis</i> 25 %	24	15	6,0	0,1	0,943	-	-
	48	15	6,0	0,1		-	-
	72	15	6,0	0,0		-	-
Control (+)	24	15	11,1	0,5	0,001*	0,001*	0,001*
	48	15	10,4	0,2		-	0,001*
	72	15	9,2	0,3		-	-
Dimetilsulfóxido Control (-)	24	15	6,1	0,2	0,382	-	-
	48	15	6,0	0,1		-	-
	72	15	6,0	0,1		-	-

*Diferencias significativas ($p < 0,05$); h: horas, n: número de réplicas.

Los halos de inhibición que logra el aceite esencial del *Minthostachys mollis* frente a *Candida albicans*, tienden a disminuir respecto a la concentración y el tiempo. Por otro lado, la *Minthostachys mollis* al 25 %, tanto a las 24, 48 y 72 horas, no presentó actividad antimicrobiana frente a *Candida albicans*, tal como se puede apreciar al compararlo con el control negativo (Tabla 4).

Tabla 4 - Variación de los halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 %, 75 %, 50 % y 25 % frente a *Candida albicans*, a las 24, 48 y 72 horas

Grupo	h	n	Media	Desviación estándar	ANOVA p-valor	Prueba Tukey p-valor	
						48 h	72 h
<i>Minthostachys mollis</i> 100 %	24	15	9,8	0,6	0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	48	15	8,9	0,7		-	-
	72	15	8,5	0,5		-	-
<i>Minthostachys mollis</i> 75 %	24	15	8,4	0,7	0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	48	15	7,7	0,4		-	-
	72	15	7,5	0,2		-	-
<i>Minthostachys mollis</i> 50 %	24	15	7,3	0,3	0,124	-	-
	48	15	7,2	0,2		-	-
	72	15	7,4	0,3		-	-
<i>Minthostachys mollis</i> 25 %	24	15	6,0	0,0	0,990	-	-
	48	15	6,0	0,0		-	-
	72	15	6,0	0,0		-	-
Control (+)	24	15	9,4	0,6	0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	48	15	7,7	0,8		-	< 0,001*
	72	15	6,6	0,4		-	-
Control (-)	24	15	5,9	0,3	0,821	-	-
	48	15	5,9	0,4		-	-
	72	15	5,9	0,4		-	-

*Diferencias significativas ($p < 0,05$); h: horas, n: número de réplicas.

Al comparar los halos de inhibición entre las concentraciones de *Minthostachys mollis* al 100 %, 75 %, 50 % y 25 % y el control (+) y control (-), de acuerdo al tiempo, se pudo observar que hubo diferencias significativas ($p < 0,001$) entre las 24, 48 y 72 horas (Tabla 5).

Tabla 5 - Halos de Inhibición del aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 %, 75 %, 50 % y 25 % frente a *Candida albicans* a las 24, 48 y 72 horas

Tiempo	<i>Minthostachys Mollis</i> (%)	ANOVA p-valor	Prueba Tukey p-valor				
			75 %	50 %	25 %	Control (+)	Control (-)
24 horas	100 %	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	75 %		-	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*

	50 %		-	-	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	25 %		-	-	-	< 0,001*	< 0,001*
	Control (+)		-	-	-	-	< 0,001*
48 horas	100%	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	75 %		-	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	50 %		-	-	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	25 %		-	-	-	< 0,001*	< 0,001*
	Control (+)		-	-	-	-	< 0,001*
72 horas	100 %	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	75 %		-	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	50 %		-	-	< 0,001*	< 0,001*	< 0,001*
	25 %		-	-	-	< 0,001*	< 0,001*
	Control (+)		-	-	-	-	< 0,001*

*Diferencias significativas (p < 0,05).

Discusión

La comunidad científica y la medicina alternativa y complementaria buscan la obtención de nuevos agentes terapéuticos, que sean de fácil acceso y posean una acción antimicrobiana probada.^(1,4,7,8) En esta investigación, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 %, 75 %, 50 % y 25 % logró efectos inhibitorios frente a la *Porphyromonas gingivalis*, al *Staphylococcus aureus* y a la *Candida albicans*, aunque su acción antibacteriana fue superior a la antimicótica, a las 24, 48 y 72 horas.

En este estudio se recolectó *Minthostachys mollis* proveniente de la ciudad de Huancavelica, ya que en investigaciones anteriores se había reportado que dicha planta, proveniente de esta región, presenta mayor efecto inhibitorio frente a bacterias y hongos, en comparación con las que crecen en otras regiones del Perú.⁽¹⁶⁾ Por otro lado, para identificar los componentes químicos de la *Minthostachys mollis* se empleó la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de donde se obtuvo: pulegona 30,17 % y mentona 16,55 %. Algunos estudios atribuyen a estos compuestos la acción inhibitoria frente a las

bacterias y hongos.^(12,13) Es probable que el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Minthostachys mollis* en microorganismos, se deba a que tanto los terpenos como la pulegona y la mentona pudieran afectar la actividad de las enzimas catalizadoras a nivel de la membrana citoplasmática y actuar como desacopladores, los cuales obstaculizarían la translocación de protones, y de esta manera interrumpirían su metabolismo celular.^(10,12,13)

Por otro lado, es importante destacar que la presencia de compuestos fenólicos en el aceite esencial de *Minthostachys mollis*, en dependencia de su concentración, pudiera influir en la estabilidad de las propiedades antimicrobianas que presenta el producto en el transcurso del tiempo,^(12,17) lo que bien pudiera explicar la disminución del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* obtenido en la presente investigación desde las 24 horas hasta las 72 horas.

El aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 %, presentó efectividad antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus* a las 72 horas, con un halo inhibitorio de 9,4 mm. Estos resultados fueron concordantes con lo reportado por Campos y otros⁽¹²⁾ y difieren a la vez de Montero y otros,⁽⁴⁾ quienes bajo el mismo método empleado en la presente investigación (Kirby - Bauer), con el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 %, obtuvieron a las 24 horas, halos de inhibición de 21,15 mm frente a *Staphylococcus aureus*. Probablemente estas diferencias se deban a que este último estudio se realizó en otra zona geográfica, lo que bien podría haber influido en la concentración de los componentes químicos antibacterianos y antifúngicos de la *Minthostachys mollis*.^(16,17)

En la presente investigación se obtuvo una mayor efectividad antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus* y *Porphyromonas gingivalis*, comparado con el grupo control positivo empleado (doxiciclina de 50 mg), similar a lo obtenido por Rojas y otros.⁽¹³⁾ Sin embargo, estos resultados discrepan con el estudio realizado por Huari,⁽¹⁵⁾ puesto que diluyó *Minthostachys mollis* al 100 % con dimetilsulfóxido a las 24 horas, y obtuvo halos inhibitorios de 13,6 mm frente a una bacteria

grampositivo como el *Streptococcus mutans*, mientras que en la presente investigación se obtuvieron halos de 10,4 mm frente a una bacteria grampositivo como el *Staphylococcus aureus* y 10,2 mm frente a una bacteria gramnegativo como la *Porphyromonas gingivalis*, bajo la misma concentración y el mismo período de tiempo. Probablemente estas diferencias se deban a que *Huari*⁽¹⁵⁾ empleó aceite esencial de *Minthostachys mollis* proveniente de otra zona geográfica del Perú, lo que pudiera afectar la concentración de los compuestos químicos antibacterianos presentes en las hojas de la planta.^(16,17,18)

En la actualidad, es frecuente observar en la cavidad oral las infecciones a causa de bacterias y hongos;^(19,20) por ello, esta investigación aporta datos importantes sobre las propiedades antibacterianas y antifúngicas de la *Minthostachys mollis* (*M. mollis*) frente al *Staphylococcus aureus*, a la *Porphyromonas gingivalis* y a la *Candida albicans*. Esto permitiría recomendar la investigación y la aplicación de la *M. mollis* en el campo clínico como enjuagatorio bucal o como componente coadyuvante de una pasta dental para prevenir la candidiasis y enfermedades periodontales en poblaciones vulnerables, ya que en América Latina la *M. mollis* es de fácil acceso y su adquisición presenta un bajo costo.

Dentro de las limitaciones encontradas en la ejecución de este proyecto, se reconoce que el tipo de estudio llevado a cabo no permite extrapolar estos resultados al campo clínico, por lo que resulta importante dar continuidad a esta línea de investigación de la *Minthostachys mollis* y evaluar su efecto antibacteriano en *biofilm* proveniente de muestras clínicas.

Se recomienda realizar estudios de efectividad antimicrobiana de los compuestos químicos de la *Minthostachys mollis*, como la pulegona y mentona frente *Staphylococcus aureus*, *Porphyromonas gingivalis* y *Candida albicans*; ya que, probablemente sean los principales responsables de la acción antimicrobiana de la *Minthostachys mollis*. Por otro lado, sería importante evaluar la combinación de

la *Minthostachys mollis* con antibióticos sintéticos para verificar si existe sinergia significativa.

En conclusión, el aceite esencial de *Minthostachys mollis* al 100 % presentó su mejor efectividad inhibitoria frente al *Staphylococcus aureus*, la *Porphyromonas gingivalis* y la *Candida albicans* a las 24 horas. Sin embargo, su efecto fue significativamente menor que la doxiciclina y el fluconazol, cuya eficacia más acentuada se observa frente a las bacterias. Además, el efecto antibacteriano y antimicótico de la *Minthostachys mollis* al 100 % disminuye significativamente a medida que pasa el tiempo.

Referencias bibliográficas

1. Cayo CF, Cervantes LA, La actividad antibacteriana de *Camellia sinensis* comparada con propóleo frente al *Streptococcus mutans*. Rev Cubana Estomatol. 2020 [acceso 20/10/2020];57(1):e2967. Disponible en: <http://www.revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/2967>
2. Peña D, Gutiérrez M. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en vías respiratorias bajas. Rev. Cienc. Tecnol. 2017 [acceso 23/11/2020];13(3):55-66. Disponible en: <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/view/1874>
3. Quiñones D. Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque "Una salud". Rev Cubana Med Trop. 2017 [acceso 22/10/2020];69(3):1-17. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0375-07602017000300009&script=sci_arttext&tlng=pt
4. Montero M, Vayas L, Avilés D, Pazmiño P, Erazo V. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. Rev Investig Vet. 2018;29(4):1543-47. DOI: <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15185>

5. Cedeño A, Moreira C, Muñoz J, Muñoz A, Pillasaguay S, Riera M. Comparación de métodos de destilación para la obtención de aceite esencial de eucalipto. Revista Colon CTNCRUC. 2019 [acceso 30/11/2020];6(1):1-3. Disponible en:
https://revistas.up.ac.pa/index.php/revista_colon_ctn/article/view/472
6. Torrenegra M, Granados C, Osorio M, León G. Method comparison of hydrodistillation microwave radiation-assisted (MWH) front hydrodistillation (HD) in the extraction of essential oil of *Minthostachys mollis*. Inf Tecnol. 2015;26(1):117-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642015000100013>
7. Melo-Guerrero MM, Ortíz-Jurado DE, Hurtado-Benavides AM. Comparación de la composición y de la actividad antioxidante del aceite esencial de manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos y otras técnicas verdes. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat. 2020 [acceso 01/12/2020];44(172):845-56. Disponible en:
<https://raccefyn.co/index.php/raccefyn/article/view/862>
8. Rojas-Armas JP, Arroyo-Acevedo JL, Ortiz-Sánchez JM, Palomino-Pacheco M, Hilario-Vargas HJ, Herrera-Calderón O, *et al.* Potential Toxicity of the Essential Oil from *Minthostachys mollis*: A Medicinal Plant Commonly Used in the Traditional Andean Medicine in Peru. J Toxicol. 2019;2019:1987935. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2019/1987935>
9. Salas A. Efecto antimicótico del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en cepas de *Cándida albicans*. Puno - 2015. Rev Inv. 2017;6(2):162-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.26788/riepg.2017.38>
10. Torrenegra M, Granados C, Durán M, León G, Yáñez X, Martínez C, *et al.* Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. Orinoquia. 2016 [acceso 17/11/2020];20(1):69-74. Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-37092016000100008&lng=en.
11. Vermilyea DM, Moradali MF, Kim HM, Davey ME. PPAD Activity Promotes Outer Membrane Vesicle Biogenesis and Surface Translocation by

Porphyromonas gingivalis. J Bacteriol. 2020;PMID:33257525. DOI:

<http://dx.doi.org/10.1128/JB.00343-20> [in press].

12. Campo M, Ambuludí D, Cepeda N, Márquez I, San Martín D, Cuesta O. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb contra el *Staphylococcus aureus*. Rev Cuba Farm. 2017 [acceso 22/10/2020];51(2). Disponible en:

<http://revfarmacia,sld,cu/index.php/far/article/view/183/175>

13. Rojas J, Ruiz JQ, Almonacid R, Ortiz J, Palomino M, Huaroto L, *et al*. Antibacterial Activities of Essential Oils from Three Medicinal Plants in Combination with EDTA against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Microbiol Res J Int. 2017;17(4):1-10. DOI:

<https://doi.org/10.9734/BMRJ/2016/29666>

14. Alcalá K, Alvarado G, Alejandro A, Huayané E. Actividad Antimicótica del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muña) comparado con el Fluconazol en cultivo de *Candida albicans*. CIMEL. 2011 [acceso 22/10/2020];16(2):83-6. Disponible en:

<https://www.cimel.felsocem.net/index.php/CIMEL/article/view/204/153>

15. Huari G. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) en *Streptococcus mutans*. [Tesis de licenciatura]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014. [acceso 24/10/2020]. Disponible en:

https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3680/Huari_gg.pdf?sequence=1&isAllowed=y

16. Fuertes C, Munguía Y. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb (muña) de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. Ciencia e Investigación. 2001 [acceso 03/11/2020];4(1):23-39. Disponible en:

<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3389>

17. González-Barraza L, Díaz-Godínez R, Castillo-Guevara C, Nieto-Camacho A, Méndez-Iturbide D. Compuestos fenólicos: presencia, identificación y

- propiedades antioxidantes en plantas y frutos. Mex J Bio Technol. 2017;2(1):46-64. DOI: <https://doi.org/10.29267/mxjb.2017.2.1.46>
18. Benites J, Guerrero A, Salas F, Martínez J, Jara R, Venegas E, *et al.* Chemical composition, in vitro cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil of Peruvian *Minthostachys mollis* Griseb. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2018 [acceso 25/11/2020];17(6):566-74. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1007336>
19. GBD 2016 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. Lancet. 2017 [acceso 02/11/2020];390(10100):1211-59. Disponible en: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(17\)32154-2/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(17)32154-2/fulltext)
20. Ojeda R, Dávila K. Prevalencia de caries dental en niños de la Clínica Estomatológica de la Universidad Señor de Sipán. Rev. Salud & Vida Sipanense. 2017 [acceso 02/11/2020];4(2):14-9. Disponible en: <http://revistas.uss.edu.pe/index.php/SVS/article/view/696>

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Elizabeth Paucar-Rodríguez: Conceptualización, curación de datos, análisis formal, metodología, administración del proyecto y los recursos. Visualización, redacción del borrador y el original, redacción, revisión y edición del documento.

Nimia Peltroche-Adrianzen: Conceptualización, investigación, administración del proyecto, y supervisión. Visualización, redacción del borrador y el original, redacción, revisión y edición del documento.

César Cayo-Rojas: Conceptualización, investigación, análisis estadístico, visualización, redacción del borrador y el original, redacción, revisión y edición del documento.