



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

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

**EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO  
ANTIBACTERIANO DE ACEITES ESENCIALES DE  
*Origanum vulgare* (ORÉGANO) FRENTE A *Staphylococcus  
aureus*.**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL  
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR

**JHUNIOR OLIVER, GONZALES GUTIERREZ  
ORCID: 0000-0002-2971-0618**

ASESOR

**VÁSQUEZ CORALES, EDISON  
ORCID: 0000-0001-9059-6394**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2022**

**EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO  
ANTIBACTERIANO DE ACEITES ESENCIALES DE  
*Origanum vulgare* (ORÉGANO) FRENTE A  
*Staphylococcus aureus***

## **EQUIPO DE TRABAJO JURADO**

### **AUTOR**

Gonzales Gutiérrez, Jhunion Oliver

ORCID: 0000-0002-2971-0618

Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote, Estudiante de Pregrado,

Trujillo, Perú

### **ASESOR**

Vásquez Corales, Edison

ORCID: 0000-0001-9059-6394

Universidad Católica Los Ángeles De Chimbote, Facultad de Ciencias de la

Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú

### **JURADO**

Ramírez Romero, Teodoro Walter

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Matos Inga, Matilde Anais

ORCID: 0000-0002-1999-8491

## **AGRADECIMIENTO**

*Le agradezco a Dios por darme vida, salud y su bendición para poder superar cada obstáculo de la vida, por guiarme por el camino del saber y así cumplir mis metas.*

*A mis padres y familia por todo su apoyo, sus consejos y por la motivación constante, me han ayudado a ser mejor persona y a tener buenos principios para poder desempeñar de la mejor manera mi carrera.*

*A mi asesor por el tiempo, dedicación y constante paciencia durante la elaboración de esta tesis.*

*A la Universidad ULADECH quien nos recibió con las puertas abiertas para pulirnos como personas y formarnos como profesionales.*

## **DEDICATORIA**

*A mis padres quienes han sido mi mayor motivación para no rendirme y por brindarme su apoyo incondicional para poder llegar hasta esta etapa de mi carrera.*

*A mis hermanos y demás familia en general por el apoyo que siempre han brindado día a día en el transcurso de mi carrera profesional.*

*A mis compañeros, profesores y amigos, quienes compartieron sus alegrías, tristezas y conocimientos, sin esperar nada cambio.*

## RESUMEN

El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto antibacteriano in vitro de aceites esenciales de *origanum vulgare* (orégano) frente a *staphylococcus aureus*. Fue un estudio in vitro, aplicado y de enfoque cuantitativo. Para el estudio se consideró 24 placas con cultivo de *staphylococcus aureus* ATCC 25923 que fueron divididas en 4 grupos : Grupo control negativo 6 placas, grupo farmacológico (Amoxicilina 20 mg/ Ácido Clavulánico 10 mg) 6 placas, grupo experimental 1 (*Origanum vulgare* 60%) 6 placas, grupo experimental 2 (*Origanum vulgare* 80%) 6 placas, se determinó el efecto antibacteriano con la medición de los halos de crecimiento bacteriano en las placas de cultivo con Agar Müller Hilton, después de 24 horas de incubación a una temperatura de 37° C. Obteniéndose como resultado el promedio de los halos del grupo control negativo (6.0±0.0 mm), grupo estándar farmacológico (30.73 ± 0.54 mm), Grupo experimental 01 (24.75 ± 0.79 mm) y grupo experimental 02 (32.50 ± 0.81 mm), obteniéndose un valor p <0.05 por la prueba ANOVA. Se concluye que los aceites esenciales de *Origanum vulgare* (orégano) tienen efecto antibacteriano sobre cultivos de *Staphylococcus aureus*, siendo el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) mayor en comparación con amoxicilina más ácido clavulánico.

Palabras clave: Aceite esencial, efecto antibacteriano, *origanum vulgare*, planta, *staphylococcus aureus*.

## ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate the in vitro antibacterial effect of essential oils of *origanum vulgare* (oregano) against *staphylococcus aureus*. It was an in vitro study, applied and with a quantitative approach. For the study, 24 plates with *staphylococcus aureus* ATCC 25923 culture were considered, which were divided into 4 groups: Negative control group 6 plates, pharmacological group (Amoxicillin 20 mg/ Clavulanic Acid 10 mg) 6 plates, experimental group 1 (*Origanum vulgare* 60% ) 6 plates, experimental group 2 (*Origanum vulgare* 80%) 6 plates, the antibacterial effect was determined by measuring the halos of bacterial growth in the culture plates with Müller Hilton Agar, after 24 hours of incubation at a temperature of 37° C. Obtaining as a result the average of the halos of the negative control group ( $6.0 \pm 0.0$  mm), standard pharmacological group ( $30.73 \pm 0.54$  mm), Experimental group 01 ( $24.75 \pm 0.79$  mm) and Experimental group 02 ( $32.50 \pm 0.81$  mm), obtaining a value  $p < 0.05$  by the ANOVA test. It is concluded that the essential oils of *Origanum vulgare* (oregano) have an antibacterial effect on cultures of *Staphylococcus aureus*, the inhibitory effect of the essential oil of *Origanum vulgare* (oregano) being greater compared to amoxicillin plus clavulanic acid.

Keywords: Essential oil, antibacterial effect, *origanum vulgare*, plant, *staphylococcus aureus*.

## ÍNDICE

AGRADECIMIENTO Y/O DEDICATORIA	iv
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
ÍNDICE DE GRÁFICOS TABLAS	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
III. HIPOTESIS	18
IV. METODOLOGÍA	18
4.1 Diseño de la investigación	18
4.2 Población y muestra	20
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores	22
4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.	23
4.5 Matriz de consistencia	25
4.6 Plan de análisis	24
4.7 Principios éticos	26
V. RESULTADOS	27
5.1 Resultados	27
5.2 Análisis de resultados	29
VI. CONCLUSIONES	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXOS	43

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cultivos de *Staphylococcus aureus* .....31

Tabla 2: Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*. .....33

## I. INTRODUCCIÓN:

La diversidad biológica es muy extensa en el mundo, muchos profesionales quieren saber los beneficios de esta diversidad biológica, las industrias hacen uso de estos beneficios para el bienestar y comodidad de la humanidad. Tenemos a nuestro alcance algunas investigaciones, pero aún nos falta mucho por investigar, cada cierto tiempo se hace público el hallazgo de nuevas especies herbarias, y mayormente se encuentran en la selva peruana. <sup>(1)</sup>

El Perú contempla a una gran variedad biológica, esta se hace conocida lentamente con el intercambio de información entre pobladores que aun practican el trueque en las zonas alto andinas, con fines medicinales, ya que ellos tienen información de sus antepasados, de cómo usar las plantas y que plantas se deben de consumir como preventivo de las enfermedades. Por eso el Perú contempla una gran variedad biológica hace de sí misma una zona especial para realizar estudios, botánicos, biólogos, químicos, zoólogos e entre otros. <sup>(1) (2)</sup>

*Staphylococcus aureus* es un colonizador bacteriano común de humanos y una variedad de especies animales; muchas cepas tienen potencial zoonótico y se mueven entre humanos y animales, incluido el ganado, las mascotas y la vida silvestre. La evidencia acumulada ha demostrado que los mecanismos de resistencia de *S. aureus* son muy complejos, especialmente para MRSA, que es resistente a muchos tipos de antibióticos. Por lo tanto, comprender la resistencia a los medicamentos de MRSA de manera oportuna y dilucidar su mecanismo de resistencia a los medicamentos a nivel molecular es de gran importancia para el tratamiento de la infección por *S. aureus* <sup>(3)</sup>.

La resistencia a los antibióticos es causada por la no adherencia al tratamiento ya que el agente está expuesto a medicamento y este desarrolla una defensa como método de sobrevivencia. Los microorganismos se hacen más resistentes a los antibióticos día a día, se está dando por que la misma población incumple con los tratamientos, se reportó que el 95% de los aislamientos hospitalarios se debía a *Staphylococcus aureus*, presentan resistencia a las penicilinas.<sup>(3,4)</sup>

Desde las últimas dos décadas, tras el aumento de la resistencia antibacteriana como una amenaza para la salud mundial, el interés de los científicos se ha centrado en los estudios antimicrobianos. Según la literatura, alrededor de dos tercios de las terapias clínicamente antibacterianas están diseñadas sobre la base de productos naturales, diferentes estudios demuestran que los aceites esenciales son compuestos antibacterianos seguros para combatir infecciones. Los constituyentes de aceites esenciales que pueden inhibir el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos y la resistencia a ellos podrían ser más difícil que a una sola molécula de antibiótico.<sup>(5,6)</sup>

Las plantas medicinales y aromáticas se han utilizado en la medicina tradicional durante siglos. Actualmente, se utilizan alrededor de cuatrocientos compuestos derivados de plantas en formulaciones de medicamentos. Contienen sustancias químicas biológicamente activas en forma de metabolitos secundarios. Los metabolitos secundarios generalmente son producidos por el metabolismo secundario de la planta y pertenecen a varias clases químicas, como alcaloides, flavonoides, saponinas, esteroides y terpenoides. Estos metabolitos secundarios se consideran los principales constituyentes que imparten propiedades medicinales a las plantas. Además, los aceites volátiles obtenidos de plantas aromáticas y medicinales están compuestos por una mezcla compleja de metabolitos

secundarios y se pueden utilizar en diversas aplicaciones, como aromaterapia, perfumería, productos farmacéuticos, alimentos, detergentes y cosméticos.<sup>(7,8)</sup>

Los miembros del género *Origanum* comprenden las plantas medicinales herbáceas y aromáticas más importantes de la familia Lamiaceae que se distribuye en zonas cálidas y montañosas; *O. vulgare* L. (conocido como “orégano”) como la especie más diversa del género se distribuye en la región mediterránea y en la región de Eurasia occidental y suroccidental. Hasta la fecha, se han reconocido más de 100 ingredientes volátiles y no volátiles en el aceite y varios extractos de *O. vulgare*; según las características hidrofílicas e hidrofóbicas, existen dos grupos principales de fitoquímicos en *O. vulgare*, que incluyen aceites esenciales (AE) y compuestos fenólicos (flavonoides y ácidos fenólicos). Otros compuestos biológicos activos consisten en terpenoides, taninos y esteroides.<sup>(9)</sup>

Varias especies de *O. vulgare* se encuentran entre las plantas más estudiadas debido a los posibles efectos antibacterianos que difieren según las especies de microorganismos (silvestres, de referencia, sensibles a los medicamentos o resistentes) y el tipo de extracción de la planta (AE o varios extractos), y debe tenerse en cuenta en este sentido siempre que se explore el potencial de las plantas para desarrollar nuevos fármacos antimicrobianos<sup>(10)</sup>.

Las bioactividades están en estrecha relación con el perfil fitoquímico del aceite esencial y también dependen de las características taxonómicas, climáticas y geográficas del material vegetal. Los efectos beneficiosos antibacterianos, antifúngicos, antiparasitarios, antioxidantes, antiinflamatorios, antitumorales, desórdenes de la piel, además de las actividades antihiper glucémica y anti-Alzheimer se informaron y confirmaron en múltiples estudios<sup>(9)</sup>.

Esta investigación buscó realizar la evaluación comparativa del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente al efecto antibacteriano con un medicamento de referencia (amoxicilina/Ac. Clavulánico), Además este trabajo buscó brindar información alternativa futuras para el tratamiento de infecciones producidas por *S. aureus*, además de aportar conocimiento nuevo sobre los efectos de *Origanum vulgare* (orégano) y de esta manera ayudar a la población a revalorar el uso de plantas medicinales en el tratamiento de las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* con aceite de *Origanum vulgare*.

Dicha investigación permitirá al lector a tratar de una manera alternativa las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus*, ayudando a la población de bajos recursos económicos y que carecen de servicios sociales en salud, mejorando la calidad de vida directamente a personas que se encuentran con infecciones staphylococicas.

Por todo lo antes expuesto la presente investigación formula la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*?

**Objetivo general:**

- Evaluar el efecto antibacteriano in vitro de aceites esenciales de *origanum vulgare* (orégano) frente a *staphylococcus aureus*.

### **Objetivos específicos:**

- Estimar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) a concentraciones de 60% y 80 % frente a cultivos de *Staphylococcus aureu*.
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) a concentraciones de 60% y 80 % usando un fármaco de referencia (amoxicilina/ácido clavulánico) frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*.

## **II. REVISIÓN DE LA LITERATURA**

### **2.1. Antecedentes**

Özkan et al., en el año 2017, en Turquía; desarrollaron la investigación sobre la “composición química y actividad antimicrobiana del Aceite esencial de orégano y ajedrea”. Los aceites esenciales de las plantas de orégano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) y ajedrea (*Satureja thymbra*) se obtuvieron mediante el método de destilación al vapor; las composiciones químicas de sus aceites esenciales se analizaron mediante la técnica GC-MS. Además, se estudió la actividad antimicrobiana mediante el método de la concentración inhibitoria mínima (CIM). La composición química del aceite esencial de orégano fue de carvacrol (63,97%), p-cimeno (12,63%) y linalol (3,67%). Como resultado, se puede decir que el aceite esencial de orégano y ajedrea puede ser útil en la aplicación medicinal y en la industria alimentaria como conservante contra microorganismos dañinos

(11)

Mehdizadeh et al., en el 2018, Irán; analizaron la “Composición Química y Actividad Antimicrobiana de *Origanum vulgare* subsp. *Aceites esenciales de viride* cultivados en dos regiones diferentes de Irán”. Los análisis de GC y GC-MS revelaron que los aceites esenciales de las muestras de Mashhad y Yazd contienen predominantemente timol (20,97-21,6 %), 4-terpineol (16,27-15,85 %),  $\gamma$ -terpineno (7,62-5,46 %), trans -sabinene hidrato (6,11-7,91 %) y p-cimeno (4,27-5,69 %). Las variaciones observadas entre las composiciones de aceites esenciales fueron en su mayoría cuantitativas, pero también cualitativas. Los efectos inhibidores de los aceites esenciales se probaron contra 10 microorganismos fitopatógenos, incluidos *Xanthomonas citri*, *Ralstonia solanacearum*, *Erwinia amylovora*, *Pectobacterium carotovorum*, bacterias *Xanthomonas oryzae* y hongos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum*, *Drechslera oryzae*, *Alternaria alternata* y *Stemphylium sarciniforme*. Los resultados de las pruebas antimicrobianas indicaron que los aceites esenciales tenían actividades antibacterianas contra todos los microorganismos probados. De acuerdo al ancho de la zona de inhibición *X. citri* fue la bacteria más sensible a los aceites esenciales con CIM (3.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) y CMB (5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) en ambas muestras <sup>(12)</sup>.

Oniga et al., Rumania, 2018; analizaron la “Composición Química y Estudios Biológicos de *Origanum vulgare* ssp. *Vulgare*”, Los polifenoles se analizaron mediante técnicas cromatográficas y espectrofotométricas; La actividad antimicrobiana del extracto de orégano se evaluó mediante ensayo de difusión en pozo de agar. Estos datos evidenciaron un perfil fenólico específico, con grandes cantidades de ácidos rosmarínico y clorogénico. El extracto de orégano mostró una actividad antioxidante muy fuerte en buen acuerdo con

el contenido fenólico. La actividad antimicrobiana fue buena, especialmente contra *Salmonella enteritidis* y *Aspergillus niger* <sup>(13)</sup>.

Khan M. et al., Arabia Saudita, 2018 presenta el trabajo de investigación acerca de la composición del aceite esencial y el destilado acuoso de *Origanum vulgare* L. que crece en Arabia Saudita y la evaluación de su actividad antibacteriana, aislaron diversos metabolitos secundarios a partir del aceite esencial, entre estas moléculas sobresalieron: Timol, carvacrol, linalol, cariofileno, b-citronelol, espatulenol g-terpineno; de estos el carvacrol fue el compuesto más efectivo e inhibió completamente el crecimiento de bacterias Gram(-) como *E. coli*; y como *S. aeruginosa*. (151 µg/mL y 200 µg/mL respectivamente).<sup>(14)</sup>

Bahmani M. et al., India, 2019, presentan el estudio sobre perfiles fitoquímicos y actividades antibacterianas de extractos hidroalcohólicos de *Origanum vulgare* e *Hypericum perforatum* y carvacrol e hipericina como prometedores anti- *Staphylococcus aureus*. Tuvo como objetivo investigar los perfiles fitoquímicos y los efectos antibacterianos de los extractos hidroalcohólicos de *Origanum vulgare* (familia Lamiaceae) y *Hypericum perforatum* (familia Clossiaceae) y sus compuestos activos sobre *S. aureus* (ATCC 12600) in vitro. De las 42 combinaciones de *O. vulgare*, carvacrol (48%) y de las 38 combinaciones de *H. perforatum*, la hipericina (46,2%) fueron las más abundantes. La MIC, MBC y DAD de *O. vulgare* y *H. perforatum*, carvacrol, hipericina y metilicina fueron 625, 625, 312,5, 78,12 y 384 µg/mL, 10000, 10000, 2500, 2500 y 384 µg/mL, y 15,66 ± 4,49, 12,66 ± 0,47 y 22 ± 0,81 mm, respectivamente.<sup>(15)</sup>

Ochoa R. en Perú, 2019. Presentan el estudio sobre efecto antibacteriano del aceite esencial

*Origanum vulgare* “Orégano” sobre *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 comparado con amoxicilina-ácido clavulánico, estudio in vitro. Tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano sobre cepas de *haemophilus influenzae* (ATCC 10211) comparado con amoxicilina – ácido clavulánico a 20 µg en un estudio in vitro. Se realizaron 4 diluciones (100%, 75%, 50% y 25%) comparándose con amoxicilina – ácido clavulánico 20 µg/10 µg y un control neutro con DMSO. La extracción de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* fue hidrodestilación a vapor de agua. En los resultados se evidenció que sí tiene efecto antibacteriano el aceite esencial de *Origanum vulgare*, pero sin embargo no superó el halo de inhibición en relación a amoxicilina – ácido clavulánico de 22.50 mm. DE:  $0.85 \pm 2.69$  IC 95% [21.89 – 23.11]. se concluyó que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” si tiene efecto antibacteriano pero menor que la amoxicilina – ácido clavulánico, pudiendo utilizarse como un medicamento coadyuvante en el tratamiento de *Haemophilus influenzae* ATCC 10211.<sup>(16)</sup>

Simirgiotis et al., Chile. 2020; realizaron el estudio acerca de las capacidades antioxidantes y antibacterianas del Aceite Esencial de *Origanum vulgare* L. de la región árida andina de Chile y su caracterización química por GC-MS. Este trabajo identificó cincuenta metabolitos por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS)—hidrocarburos monoterpenos, monoterpenos oxigenados, monoterpenos fenólicos, hidrocarburos sesquiterpénicos y sesquiterpenos oxigenados—presentes en el aceite esencial de orégano recolectado en el desierto de Atacama. Los principales componentes del aceite esencial de orégano fueron timol (15,9%), hidrato de Z -sabineno (13,4%),  $\gamma$ -terpineno (10,6%), p-cimeno (8,6 %), acetato de linalilo (7,2 %), sabineno (6,5 %) y éter metílico de carvacrol

(5,6 %). Las pruebas antibacterianas mostraron que las bacterias patógenas *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enterica* y las bacterias fitopatógenas *Erwinia rhapontici* y *Xanthomonas campestris* fueron las más susceptibles al aceite de orégano, con las concentraciones más bajas de aceite necesarias para inhibir su crecimiento bacteriano.<sup>(17)</sup>

Moghrovyan et al., Armenia, 2021; realizaron una investigación para determinar las peculiaridades de la composición química del aceite esencial (AE) y el extracto etanólico (EE) de orégano de flora armenia y caracterizar in vitro principalmente las propiedades antioxidantes y antibacterianas. El EO de las partes aéreas de las plantas se extrajo por el método de hidrodestilación y la composición se analizó por cromatografía de gases (GC); el EE se preparó utilizando etanol como disolvente. Los terpenos resultaron ser la mayor parte del AE de orégano (epóxido de  $\beta$ -cariofileno - 13,3 %;  $\beta$ -cariofileno -8,2 %; -cimeno - 5,2 %). El contenido de flavonoides de EE fue de  $3,9\pm 0,7$  mg g<sup>-1</sup> de equivalentes de catequina. Las actividades antirradicales de EO y EE expresadas con concentraciones inhibitorias medias máximas fueron 1057  $\mu$ g mL<sup>-1</sup> y 19.97  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>. Tanto EO como EE de orégano pudieron suprimir el crecimiento de los microorganismos de prueba, incluidos los aislados de patógenos clínicos, pero tienen una actividad antimicrobiana moderada. La actividad antibacteriana del EO contra *Escherichia coli* resistente a la ampicilina fue similar a la actividad contra la cepa no resistente. EE no fue activo contra *E. coli* resistente a ampicilina en contraste con uno no resistente<sup>(18)</sup>.

## **2.2.Marco teórico**

### **Fitoterapia**

Es la ciencia dedicada al estudio de la utilización de productos de origen vegetal con el propósito de prevenir, tratar o curar estado patológico. O hacer uso de las plantas medicinales con la finalidad terapéutica.<sup>(18)</sup>

### **Moléculas Antibacterianas**

La mayoría de los antibióticos que se utilizan en la actualidad proceden de *Actinomycetales*, en su mayoría *Streptomyces*, y se aislaron durante la “edad de oro” del descubrimiento de antibióticos, el período comprendido entre los años cuarenta y setenta. Los productos naturales han demostrado ser altamente eficaces para el tratamiento de infecciones bacterianas y, como es lógico, la variedad de fármacos a base de productos naturales es enorme. Existen fármacos de amplio y estrecho espectro para administración oral, tópica o parenteral y con actividad frente a casi todos los patógenos conocidos. La mayoría de los candidatos basados en productos naturales actualmente en desarrollo son versiones nuevas y mejoradas de medicamentos antiguos, ejemplificados por el glicopéptido telavancina recientemente aprobado por la FDA.<sup>(19)</sup>

La mayoría de los antibióticos usados tradicionalmente matan las bacterias al interferir con los procesos celulares esenciales. Una alternativa a este enfoque es desarmar a los patógenos, lo que facilita que el sistema inmunitario innato del huésped pueda limpiar la infección. La virulencia se define como la capacidad de un patógeno para causar una enfermedad. Algunos de los principales objetivos de la investigación antivirulencia son las

toxinas, la detección de quórum, la producción de biopelículas, la secreción de tipo III y la adhesión.<sup>(20)</sup>

Las toxinas son producidas por numerosas bacterias patógenas y, en muchos casos, la defensa inmunitaria puede controlar bien la infección si las toxinas se eliminan de la ecuación. Un gran número de bacterias Gram-negativas liberan sus toxinas por secreción de tipo III, lo que convierte a la maquinaria utilizada en este proceso en otro objetivo potencial. La secreción de tipo III implica la formación de una estructura similar a una aguja que libera toxinas y otras moléculas efectoras directamente en las células huésped.<sup>(19)</sup>

### **Planta medicinal**

Se define a cualquier especie vegetal que contiene principios activos. Sustancias que ejercen acciones farmacológicas o aprovecharlo como precursores para desarrollar nuevos fármacos.

### ***Origanum vulgare***

Es una hierba aromática perenne de tamaño mediano del género *Origanum*, esta especie se considera una de las plantas aromáticas más utilizadas dentro de la familia Lamiaceae. Sus aceites volátiles contienen mono y sesquiterpenoides como principales clases químicas de metabolitos secundarios.<sup>(21)</sup>

*Origanum vulgare* L. es una planta aromática muy utilizada, especialmente por su contenido en aceite esencial, principalmente rico en carvacrol y timol. Los usos

etnofarmacológicos de *Origanum vulgare*. El uso del aceite esencial comprende trastornos digestivos, respiratorios o dermatológicos <sup>(20)</sup>.

**Taxonomía** <sup>(22)</sup>

**Nombre científico:** *Origanum vulgare*

**Categoría:** Especie

**Clasificación superior:** *origanum*

**Altura:** hasta 60 cm

Botánicamente, *O. vulgare* es una planta perenne con una base leñosa y tallos herbáceos, que crece hasta una altura de 20 a 80 cm. Sus hojas son opuestas, en forma de huevo, de 1 a 4 cm de largo y de 0,5 a 2,5 cm de ancho; el margen de la hoja es liso y la punta varía de redondeada a puntiaguda. Las flores son relativamente pequeñas, agrupadas en inflorescencias paniculadas terminales y laterales. Su corola consta de 5 pétalos unidos, de 0,4 a 0,8 cm de largo, de color blanco a púrpura. Los sépalos también están reunidos; la parte interna de la flor contiene cuatro estambres y el pistilo está constituido por dos carpelos fusionados. Los frutos son pequeños frutos secos <sup>(23)</sup>.

**Componentes activos:**

los aceites volátiles se liberan al romperse la cutícula. A excepción de estos pelos peltados, también se encuentran pelos capitados mucho más pequeños en ambos lados de las hojas y en la epidermis del kalyx. Tienen una cabeza de 1-2 células y parecen estar involucradas en la síntesis de otros metabolitos más hidrofílicos como compuestos fenólicos y polisacáridos. En la mayoría de los aceites esenciales de *O. vulgare* L., los monoterpenoides fenólicos constituyen hasta el 70% del aceite total; estos monoterpenoides comprenden

principalmente compuestos fenólicos polares como el timol y el carvacrol. Además, se han detectado cantidades apreciables de  $\gamma$ -terpineno y p-cimeno.<sup>(21)</sup>

### **Descripción botánica de la planta**

El *Origanum vulgare* o conocido también como orégano, es una planta que pertenece a la familia de las labiadas, mide unos 80cm. Es de tallos pilosos y erectos además de ser aromáticos, cuenta con unas hojas pecioladas, ovales, dentadas o enteras. Flores rosadas, blancas o violáceas de hasta 7mm. Reunidas en inflorescencias redondeadas terminales, se adapta a todo tipo de suelo, pero se encuentran más en zonas altas entre 2850 a 3400 m.s.n.m.<sup>(23)</sup>

Las regiones que se dedican a sembrar el orégano son: Tacna, Arequipa, Moquegua, Junín, Apurímac, Ayacucho, Puno, La Libertad. El *Origanum vulgare*, es una planta extremadamente polimorfa (muchas formas), sus variaciones son influidas por el medio donde se desarrollan y la época del año, lo que ha generado un amplio número de variedades. Es considerado un cultivo marginal, porque se puede desarrollar en suelos pobres. Es una planta resistente al frío, las temperaturas menores de 5 °C afectan al cultivo, en su crecimiento y algunas veces el borde de sus hojas quemadas.<sup>(23)</sup>

Los aceites esenciales, los constituyentes más relevantes para el valor medicinal de *O. vulgare*, se sintetizan en tricomas glandulares peltados, que se encuentran en la superficie de tallos, hojas y flores (sépalos, pétalos). Estos tricomas tienen una cabeza secretora agrandada, formada por 12 a 16 células glandulosas cubiertas por una cutícula común

### **Manejo de cultivo**

Se realiza en el verano, es el tiempo donde se cultiva con mayor cantidad y se logra exportar o distribuir a los mercados de la zona, el riego se realiza con agua de río, se logró conversar con un poblador de Julcán y manifestó que incluso lo regaba con agua de desperdicio, el orégano se considera una de las plantas de fácil adaptación a climas, por ello los pobladores los cultivan en sus jardines o en sus huertas, antes de darle uso previamente este es desecado y molido para que se pueda usar en sus sopas como la mayoría lo hace en la zona andina.<sup>(22)</sup>

### **Cosecha**

El uso que se le da al orégano es ornamental, aromático, industrial, alimenticio, etc. Las partes más usadas son las hojas y los tallos, la muestra se extrajo con hoz se cortó de unos 5 a 8 cm de altura desde el suelo, las ramas que contenían abundante hoja para después retirar solo las hojas, para la extracción del aceite.<sup>(23)</sup>

### **Usos tradicionales del aceite esencial de *O. vulgare***

Se informa que los aceites volátiles de *O. vulgare* L. muestran actividad antiinflamatoria, antiespasmódica, antibacteriana, diaforética, antioxidante, antifúngica, analgésica y carminativa.<sup>(24)</sup>

Los usos del orégano en la etnomedicina se han relacionado con las propiedades estomacales, carminativas, expectorantes y emenagogas. Se ha indicado como tinturas o infusiones en trastornos respiratorios y digestivos, pero también como ungüentos para tratar heridas. Sus usos tradicionales incluyen indigestiones, diarrea, tos y bronquitis. También se ha utilizado como remedio contra el prurito, los dolores de cabeza y la depresión <sup>(23)</sup>.

### ***Staphylococcus aureus (S. aureus)***

*Staphylococcus aureus* se le llamó así por la forma de la bacteria que al desarrollarse toma la forma de un racimo de uva, en griego Staphyle, so esporuladas, no móviles no poseen cápsulas, pero algunas cepas tienden a desarrollar cápsulas de limo, pero son anaerobias facultativas, sus diámetros son de 0.5 a 1.5  $\mu\text{m}$ . y están agrupados formando racimos de uva o en pares, tétradas formando cadenas cortas. <sup>(25)</sup>

*Staphylococcus* en la actualidad ya incluyen las 32 especies como también 8 subespecies aerobias y anaerobias facultativas, excluyendo a *S. aureus* entre otros, que son estrictamente anaerobias, normalmente 12 se encuentran colonizando en el huésped humano, teniendo como principal al *S. aureus* sin duda, tienden a desarrollarse en medios de cultivo habituales, tienen la capacidad de desarrollarse en ambientes que presentan altas concentraciones de NaCl. Y muestran B-hemolisis medios de cultivo que contengan sangre. <sup>(24, 25)</sup>

Es uno de los principales patógenos en las infecciones hospitalarias y comunitarias y puede causar muchas enfermedades infecciosas, como infecciones leves de la piel y los tejidos

blandos, endocarditis infecciosa, osteomielitis, bacteriemia y neumonía mortal. *Staphylococcus aureus* fue descubierto por primera vez en 1880 en Aberdeen, Escocia, por el cirujano Alexander Ogston en pacientes con llagas ulceradas. *Staphylococcus aureus* pertenece al género *Staphylococcus*, Firmicutes; es positivo para la tinción de Gram, ~0.8 µm de diámetro, dispuesto en una "ramita de uvas" bajo un microscopio, un aerobio o anaerobio; y crece de manera óptima a 37 °C y a pH 7,4.<sup>(26)</sup>

### **Resistencia intrínseca a los antibióticos**

Las tasas de resistencia de la infección por *S. aureus* y de cepas multirresistentes están aumentando, lo que dificulta el tratamiento clínico antiinfeccioso. El mecanismo de resistencia endógena incluye principalmente tres aspectos.<sup>(27)</sup>

### **Permeabilidad de la membrana externa**

Cuando se reduce la permeabilidad de la membrana celular, el metabolismo energético de las bacterias se ve afectado y, por lo tanto, se reduce la absorción de fármacos, lo que lleva a la resistencia a los fármacos. Por ejemplo, la resistencia de *S. aureus* a los aminoglucósidos es causada por una disminución de la permeabilidad de la membrana y finalmente resulta en una disminución de la ingesta del fármaco.<sup>(28)</sup>

### **Sistemas de eflujo**

El sistema de eflujo activo de bacterias fue descubierto en 1980 por Ball y McMurry al estudiar la resistencia de *Escherichia coli* a la tetraciclina; posteriormente, los académicos realizaron muchos experimentos sobre el sistema de salida activa, que confirmaron que el

sistema de salida activa es una estructura fisiológica normal de las bacterias y existe en cepas sensibles.<sup>(27)</sup>

### **Producción excesiva de $\beta$ -lactamasa**

La  $\beta$ -lactamasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de varios antibióticos  $\beta$ -lactámicos (incluidos antibióticos como los carbapenémicos de amplio espectro), está codificada por genes cromosómicos bacterianos y es transferible. En la actualidad, la investigación muestra que los antibióticos  $\beta$ -lactámicos tienen un efecto letal sobre las bacterias principalmente a través de dos mecanismos: primero, al unirse a la proteína de unión a la penicilina (PBP, es decir, mucina sintasa de la pared celular), que reprime la síntesis de mucina de la pared celular, interrumpe la pared celular y conduce a la expansión y lisis bacteriana; en segundo lugar, al activar la actividad enzimática autolítica de la bacteria, lo que resultó en autólisis y muerte. La secreción excesiva de  $\beta$ -lactamasa por MRSA reduce principalmente el efecto de los antibióticos a través de dos mecanismos, que conducen a la resistencia a MRSA.<sup>(26)</sup>

### **Mecanismo de acción de amoxicilina más ácido clavulánico**

La amoxicilina es un antibiótico betaláctamico (penicilina semisintética) que va a interrumpir el funcionamiento de una o más enzimas (proteínas fijadoras de penicilinas, PBP) en la fase biosintética de peptidoglicanos bacterianos que constituyen la pared celular de las bacterias, que al interrumpir algún funcionamiento de la pared celular, esta provoca lisis celular y seguidamente la muerte bacteriana. El mecanismo de defensa bacteriana ante la amoxicilina es activar o aumentar la producción de betalactamasas que estas van a

producir la degradación de la amoxicilina y reduciendo el espectro bacteriano. Pero si se une una amoxicilina con ácido clavulánico esta dañara a las bacterias resistente a la amoxicilina, porque es un agente betalactamico que inactivaran las enzimas betalactamasas previniendo así la inactivación de la amoxicilina, se debe tener en claro que el ácido clavulánico no tiene ningún efecto antibacteriano, sino que esta va a facilitar que la amoxicilina cumpla su efecto bacteriano inactivando las enzimas betalactamasas.<sup>(29)</sup>

### **III. Hipótesis**

#### **3.1. Hipótesis alternativa (H1)**

H1: El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) tiene efecto antibacteriano in vitro frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*.

#### **3.2. Hipótesis nula (H0)**

H0: El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*.

### **IV. METODOLOGÍA**

#### **4.1. Diseño de la investigación**

El presente trabajo tuvo un diseño experimental, cuantitativo y de corte transversal.

Control negativo: Dimetilsulfoxido (DMSO). Se empleó para la disolución de aceite esencial de *origanum vulgare*.

**a) Grupo Control Negativo**

Se encuentra formado por 6 placas petri conteniendo Agar Müller Hinton (25 ml) y el sembrado de bacteria *S. aureus* ( $1 \times 10^8$  UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo de 0.5 de la turbidez de Mc. Farland, en ellas se colocaron discos hechos con papel Whatman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocara un solvente (25 ul de solución suero fisiológico).

( $1 \times 10^8$  UFC por ml)

**b) Grupo Estándar Farmacológico**

Se encuentra formado por 6 placas petri conteniendo Agar Müller Hinton (25 ml) y el sembrado de bacteria *S. aureus* ( $1 \times 10^8$  UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo de 0.5 de la turbidez de Mc. Farland, en ellas se colocaron discos hechos con papel Whatman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó una solución de amoxicilina / ácido clavulánico (25ul).

**c) Grupo Experimental I:**

Se encuentra formado por 6 placas petri conteniendo Agar Müller Hinton (25 ml) y el sembrado de bacteria *S. aureus* ( $1 \times 10^8$  UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo de 0.5 de la turbidez de Mc. Farland, en ellas se colocaron discos hechos con papel Whatman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó el extracto de *Origanum vulgare* al 60%.

**d) Grupo Experimental II:**

Se encuentra formado por 6 placas petri conteniendo Agar Müller Hinton (25 ml) y el sembrado de bacteria *S. aureus* ( $1 \times 10^8$  UFC por ml) el cual se realizó utilizando el tubo de 0.5 de la turbidez de Mc. Farland, en ellas se colocaron discos hechos con papel Whatman grado 41 con un diámetro de 6 mm, sobre estos discos se colocó el extracto de *Origanum vulgare* al 80%.

**4.2. Población y muestra:**

**Población vegetal**

Se trabajó con las hojas de *Origanum vulgare* (orégano), procedente del centro poblado Unión Quinual, provincia de Julcan, Departamento de La Libertad. De las cuales se extrajo el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) para realizar este trabajo.

**Muestra vegetal**

Se utilizó 800 g de hojas de *Origanum vulgare* (orégano). Procedente del centro poblado Unión Quinual, provincia de Julcan, Departamento de La Libertad.

**Criterios de inclusión:**

Constan de hojas de *Origanum vulgare* (orégano) previamente secadas, verdes, no muy jóvenes y de buenas características organolépticas. Las hojas jóvenes, sanas, frescas, completas recién recolectadas en horas de la mañana de un día caluroso después del rocío en canastos limpios. Las cuales se secaron bajo la luz solar y se trituran en un molino a mano.

**Criterios de exclusión:**

Se rechazaron aquellas hojas demasiado jóvenes (pequeñas) o envejecidas, secas o enmohecidas. Así mismo se evitó recoger flores o tallos u otras partes de la planta que presenten algún daño, deformadas, parasitadas. Evitando la manipulación excesiva de la muestra.

**Material biológico:**

El material biológico estará constituido por cultivos de la bacteria *Staphylococcus aureus*. La cual fue expuesta a diferentes concentraciones de aceites esenciales de *Origanum vulgare*.

**Criterios de inclusión:**

- Bacteria morfológicamente igual.
- Se utilizaron bacterias jóvenes.

**Criterios de exclusión:**

- No se utilizó bacterias que no sean morfológicamente iguales.
- No se utilizó cepas que presenten contaminantes.

### 4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<b>Aceite esencial de <i>Origanum vulgare vulgare</i> (orégano)</b>	Fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre a vapor de agua, conteniendo los metabolitos importantes para esta investigación <sup>(30)</sup> .	Se utilizó dos concentraciones de aceites esenciales	60 % grupo 1 80 % grupo 2	Nominal
<b>Efecto antibacteriano</b>	Capacidad que presenta un fármaco o un recurso natural que presenta un efecto sobre una bacteria ya sea matándola o haciendo más lento su crecimiento.	Se determinó a través de halos de inhibición	Diámetro del halo de inhibición en milímetros	Cuantitativa de razón

#### **4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:**

**Técnica:** observacional

##### **Recolección de hojas de *Origanum vulgare*:**

Las Hojas de *Origanum vulgare*, serán recolectadas de las plantaciones del centro poblado chasca unión Quinual distrito de Julcan, departamento de La Libertad teniendo.

##### **Técnicas de extracción de aceites esenciales *Origanum vulgare*:**

Los AE. Se extraen mediante métodos usando el calor comúnmente, destilación, hidrolisis, hidrodestilación, etc. La obtención del AE. Se facilita por la destilación de ambos líquidos inmiscibles (agua y aceite esencial) estos líquidos al tener altas temperaturas se evaporan, pero al estar en dentro de un tubo refrigerante este vapor se condensa y se deja en reposo para que se separe el aceite con el agua, que por densidad el agua va abajo y el aceite queda en la parte superior.<sup>(23)</sup>

Los AE. Se obtuvieron usando el método de hidrodestilación, usando solo las hojas desecadas *Origanum vulgare* incluye todas las hojas que estén uniformemente iguales y de excluir cualquier hoja que presente características contrarias, apariencia, tamaño, etc.

##### **Activación de cultivos de *Staphylococcus aureus***

Para la activación se procedió a la esterilización del ambiente, se empezó abriendo el vial de plástico que le servía como protección, el cual contenía a la bacteria ATCC®25923, un fluido de hidratación y un hisopo estéril. Se procedió a romper el fluido de hidratación,

luego se hizo la homogeneización de la bacteria silvestre ATCC®25923 con el fluido para poder activarlas.<sup>(28)</sup>

Una vez activada la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, se realizó el sembrado en placas petri en cultivo agar tripacasa soya que fue indicado dentro del manual de activación de cepas bacterianas del INS, el sembrado se realizó con asa estéril, colocamos las placas petri en la incubadora por 24 horas a una temperatura de 35°C a 37°C logrando el crecimiento bacteriano.<sup>(27)</sup>

#### **Lectura de halos de inhibición:**

Para la lectura de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones se utilizó el vernier que abarcó el diámetro del halo en milímetros. Y se procedió a recolectar datos en una tabla los cuales posteriormente se procesó estadísticamente.<sup>(27)</sup>

#### **4.5. Plan de análisis:**

Para los estudios y evaluación de los resultados obtenidos se realizó el análisis estadístico en las muestras de *Origanum vulgare* (orégano), con acción antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, habiéndose medido el halo de inhibición del crecimiento bacteriano. Los resultados son presentados en tablas y gráficos, utilizando el programa Excel Microsoft y el programa estadístico ANOVA. Para el análisis estadístico se usó el programa informático SPSS v 22.0, para comparar los promedios se utilizó la prueba estadística T-Student con un nivel de significancia  $p < 0.05$

#### 4.6..Matriz de consistencia:

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación y diseño	VARIABLES	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE ACEITES ESENCIALES DE <i>Origanum vulgare</i> (ORÉGANO) FRENTE A <i>Staphylococcus aureus</i>	¿ Evaluar el efecto antibacteriano in vitro de aceites esenciales de <i>origanum vulgare</i> (orégano) frente a <i>staphylococcus aureus</i> ?	<p><b>Objetivos específicos:</b></p> <p>Comprobar el efecto antibacteriano in vitro de aceites esenciales de <i>origanum vulgare</i> (orégano) frente a <i>staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b></p> <p>Evaluar la efectividad antibacteriano in vitro del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a concentraciones de 60% y 80 % frente a cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Comparar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a concentraciones de 60% y 80 % usando un fármaco de referencia (amoxicilina/ácido clavulánico) frente a cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p><b>Hipótesis Alternativa (H1).</b></p> <p>El aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) tiene efecto antibacteriano in vitro frente a cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>Hipótesis Nula (H0).</b></p> <p>El aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) no tiene efecto antibacteriano in vitro frente a cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p><b>Tipo:</b></p> <p>El presente trabajo fue experimental, in vitro, de enfoque cuantitativo</p>	<p><b>Variable independiente</b></p> <p>Extracto de los aceites esenciales de <i>Origanum vulgare</i>.</p> <p><b>Variable dependiente</b></p> <p>Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> (orégano).</p>	<p><b>Los aceites esenciales de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> (orégano)</b></p> <p>Fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas<sup>(25)</sup>.</p> <p><b>Efecto antibacteriano</b></p> <p>Capacidad que presenta un fármaco o recurso natural sobre una bacteria ya se matándola o haciendo más lento su crecimiento</p>	<p>Dos concentraciones p/v. nominal</p> <p>Diámetro del halo de inhibición del crecimiento</p> <p>Cuantitativa de razón.</p>	<p>Prueba estadística ANOVA</p>

#### 4.7. Principios éticos

Los principios éticos fueron considerados de acuerdo al código de ética v004 de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH):

**Protección a las plantas:** Las plantas necesitan la protección de nosotros, por lo tanto es necesario que todos los investigadores que utilizan las plantas, deben tener en cuenta las precauciones y garantizar su cuidado al momento del desarrollo de la investigación, y de esta manera se estará contribuyendo a la mejora del medio ambiente.

**Beneficencia y no maleficencia:** Se debe asegurar el bienestar de las plantas que se utilizan en las investigaciones. Donde, la conducta del investigador debe seguir reglas generales: no causar daño, disminuir los efectos adversos y maximizar los beneficios.

**Justicia:** El investigador debe ejercer un juicio razonable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos y, las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas <sup>(30)</sup>.

## V. RESULTADOS

### 5.1. Resultados

**Tabla 1:** Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*.

GRUPOS	Zona de Inhibición (en mm.) X ± DS	Significancia P
Blanco (Soluc. DMSO 2%)	6.0±0.0	
Estándar (Amox+Ac Clavulánico 20/10mg/disco)	30.73 ± 0.54	0.000*
A.E. <i>Origanum vulgare</i> al 60%	24.75 ± 0.79	
A.E. <i>Origanum vulgare</i> al 80%	32.50 ± 0.81	

\*ANOVA (P<0.05).

Leyenda:

X: promedio

D.S.: desviación estándar

A.E.: Aceite Esencial

**Tabla 2:** Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Origanum vulgare* (orégano) frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*.

Grupos	Tamaño de la zona de inhibición en mm. de los 2 grupos comparados		Significancia (Valor P)
	X ± DS		
A.E. <i>Origanum vulgare</i> al 60% vs A.E. <i>Origanum vulgare</i> al 80%	24.75 ± 0.79	32.50 ± 0.81	0.000*
Estándar (Amoxicilina + Ácido Clavulánico 20/10mg/disco) vs A.E. <i>Origanum vulgare</i> al 60%	30.73 ± 0.54	24.75 ± 0.79	0.000*
Estándar (Amoxicilina + Ácido Clavulánico 20/10mg/disco) vs A.E. <i>Origanum vulgare</i> al 80%	30.73 ± 0.54	32.50 ± 0.81	0.000*

**Prueba T para comparación de medias (\*p<0.05)**

Leyenda:

X: promedio

D.S.: desviación estándar

A.E.: Aceite Esencial

## 5.2. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la Tabla 01 se muestran los promedios y la desviación estándar por grupo de estudio, y las significancias de los grupos, la prueba estadística utilizada fue ANOVA el valor P fue de 0.000 (menor a 0.05) demostrando que existe diferencia estadísticamente significativa entre la zona de inhibición de los grupos basados en el aceite esencial de al 60%, 80% y amoxicilina+ ácido clavulánico, esto confirma la hipótesis alternativa *Origanum vulgare* (orégano) es decir el aceite esencial si presentó efecto antibacteriano frente a *S. aureus*.

En el grupo blanco se utilizó el solvente de dilución del aceite esencial, que fue DMSO al 2% se puede ver que el crecimiento bacteriano no fue inhibido por el solvente de dilución, entonces la medida de los halos fue de 6 mm (diámetro del disco) este grupo funciona como control de calidad microbiológico del agar, de los materiales y del solvente de dilución. Las características químicas del dimetilsulfóxido no interfieren con la incubación de las colonias bacterianas de *S. aureus*.<sup>(31)</sup>

Respecto al grupo Estándar farmacológico (amoxicilina + ácido clavulánico) los halos tuvieron un diámetro de inhibición de  $30.73 \pm 0.54$  mm. Este valor se encuentra dentro de lo esperado según el reporte del Instituto Nacional de Salud que señala que Amoxicilina + ácido clavulánico frente a *S. aureus* debe tener halos de inhibición entre 28 mm y 32 mm.<sup>(32)</sup>

Amoxicilina + ácido clavulánico es un antibiótico betalactámico que se usa en el tratamiento de infecciones bacterianas causadas por organismos susceptibles, generalmente grampositivos. La ampicilina tiene actividad in vitro contra bacterias

aerobias y anaerobias grampositivas y gramnegativas, la actividad bactericida de la ampicilina resulta de la inhibición de la síntesis de la pared celular y está mediada por la unión de ampicilina a proteínas de unión a penicilina (PBP). Es estable frente a la hidrólisis por una variedad de betalactamasas, incluidas penicilinasas, cefalosporinasas y betalactamasas de espectro extendido. <sup>(33)</sup>

Al unirse a proteínas de unión a penicilina (PBP) específicas ubicadas dentro de la pared celular bacteriana, la amoxicilina inhibe la tercera y última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana; entonces, la lisis celular está mediada por enzimas autolíticas de la pared celular bacteriana, como las autolisinas; es posible que la ampicilina interfiera con un inhibidor de autolisina. <sup>(33)</sup>

En la Tabla 02 se muestran los promedios comparados y la respectiva significancia para cada grupo utilizando la prueba T-Student donde los valores en todos los casos mostraron una significancia  $P < 0.05$ , es decir en todas las comparaciones realizadas existen diferencias estadísticamente significativas, En las comparaciones del fármaco estándar Amoxicilina + ácido clavulánico con el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 60% y 80% el aceite esencial mostró significativamente una mayor actividad antibacteriana que el fármaco de referencia.

El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 80% mostró la zona de inhibición más grande entre los grupos experimentales que la otra concentración (60%), como lo describen Olascuaga et al. estos valores se deberían a la presencia de compuestos fenólicos, saponinas y flavonoides así como lactonas sesquiterpénicas, esteroides y glucósidos que pueden contribuir a la inhibición antimicrobiana. <sup>(34)</sup>

Los terpenos son generalmente antioxidantes fuertes y antimicrobianos, su alta concentración puede haber contribuido a la inhibición significativa del crecimiento bacteriano además del efecto sinérgico combinado de los antioxidantes presentes en esta planta. <sup>(35)</sup>

Como reporta Maldonado et al, los metabolitos secundarios que serían responsables del efecto antibacteriano de esta planta son los alcaloides, terpenos y esteroides, porque estos metabolitos son los más abundantes y los mismos presentan una amplia actividad antibacteriana conocida. <sup>(36)</sup>

## VI. CONCLUSIONES

- El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) presenta efecto antibacteriano in vitro frente a *staphylococcus aureus*, siendo la concentración al 80% la de mayor efecto.
- El efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) a concentraciones de 60% fue de  $24.75 \pm 0.79$  mm de diámetro en el halo de inhibición mientras que al 80 % fue de  $32.50 \pm 0.81$  mm de diámetro en el halo de inhibición frente a cultivos de *Staphylococcus aureus*.
- El efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 80% fue significativamente superior que el fármaco de referencia (amoxicilina/ácido clavulánico) ( $32.50 \pm 0.81$  mm y  $30.73 \pm 0.54$  mm de diámetro en el halo de

inhibición respectivamente  $p=0.000$ ) mientras que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) al 60% fue menor que el fármaco de referencia ( $24.75 \pm 0.79$  mm y  $32.50 \pm 0.81$  mm de diámetro en el halo de inhibición respectivamente  $p=0.000$ ). De igual manera, el A.E. de *Origanum vulgare* (orégano) al 80% resultó ser mejor como antibacteriano que el A.E al 60% ( $32.50 \pm 0.81$  mm y  $24.75 \pm 0.79$  mm de diámetro en el halo de inhibición respectivamente  $p=0.000$ )

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. May R. Catenazzi A. Angulo A. Venegas P. Aguilar C. Investigación y conservación de la biodiversidad en Perú: importancia del uso de técnicas modernas y procedimientos administrativos eficientes. Peru [Internet]. 2012 Dic [citado el 20 de febrero del 2022] 350 - 392 Disponible en:  
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v19n3/a20v19n3.pdf>
2. Tello G. “ETNOBOTÁNICA DE PLANTAS CON USO MEDICINAL EN LA COMUNIDAD DE QUERO, JAUJA, REGIÓN JUNÍN” Perú [en internet].2016. [Citado en 27 de febrero del 2022]. Disponible en :  
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1886/F70.T64-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
3. Curatola G. Patrones de distribución espacial de *Triplaris americana* en Tambopata, Perú. [Internet]. 2009 Feb [citado el 20 de febrero del 2022] Disponible en:  
[http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/454/CURATOLA\\_FERNANDEZ\\_GIULIA\\_PATRONES\\_DISTRIBUCION.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/20.500.12404/454/CURATOLA_FERNANDEZ_GIULIA_PATRONES_DISTRIBUCION.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
4. Nodarse R. Estafilococos multirresistentes: uso del disco de oxacillín como marcador de resistencia a antibióticos. Rev.Cobana de medicina militar. Cuba. [Internet]. 2001Mar [citado el 20 de febrero del 20022];75-115. Disponible en:  
[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572001000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572001000100002)

5. Torres C. Castañeda D. Rosadio E. Montañez E. Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare*. 2008 [Internet]. Lima Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/cimel/v13\\_n2/pdf/a03v13n2.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/cimel/v13_n2/pdf/a03v13n2.pdf)
6. Bastos Oyarzabal M. Damé Schuch L. Souza Prestes L. Almeida Schiavon D. Alves Rodrigues M. Braga de Mello J. Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. ante bacterias aisladas en leche de bovino. 2011. [Internet] vol.16 no.3. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962011000300006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962011000300006)
7. Mariane Ugalde L. Aline m. De Cezaro, Aline Cencia. Claudio V. Júnior, natalia Paroul, geciane Toniazzo, juliana Steffens, rogerio L. Cansian. Actividad Antibacteriana y Antioxidante de los Aceites Esenciales Comerciales de Romero, Clavo de Olor, Orégano y Salvia. 2016. [Internet]. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/pdf/recyt/n25/n25a09.pdf>
8. Rosario O. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “orégano” sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [tesis maestría]. Perú. Universidad Nacional de Cajamarca; 2015. (citado: 21/10/2022) [https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCVV\\_fc594087878451c580a2fbc816f59f6f](https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UCVV_fc594087878451c580a2fbc816f59f6f)  
Albado Plaus E. Saez Flores G. Grabiél Ataucusi S. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano) 2001 [Internet].

Rev Med Hered v.12 n.1 Lima Disponibleen:

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2001000100004](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2001000100004)

9. Chávez Torres L. Díaz Castañeda F. Escalante Rosadio G. Estrada Montañez E. Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare*. 2008 2001 [Internet].Lima Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/717/71720916003.pdf>

10. Camargo D. Navarro C. FITOTERAPIA COMO ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO PARA AFECCIONES DEL SISTEMA CARDIOVASCULAR EN LOS POBLADORES DEL BARRIO DEL DISTRITO DE PUCARÁ – HUANCAYO. UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO. Perú [Internet]. 2017 Ago [citado el 3 de marzo del 20019]; 31-67. Disponible en:

[http://repositorio.uroosevelt.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/ROOSEVELT/68/T105\\_44537142\\_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.uroosevelt.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/ROOSEVELT/68/T105_44537142_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

11. Özkan, O. E., Güney, K., Gür, M., Pattabanoğlu, E. S., Babat, E., & Khalifa, M. M. (2017). Essential oil of oregano and savory: Chemical composition and antimicrobial activity. *Indian J Pharm Educ Res*, 51(3), S205-S208.

[https://www.researchgate.net/profile/Mahmut-](https://www.researchgate.net/profile/Mahmut-Guer/publication/318717317_Essential_Oil_of_Oregano_and_Savory_Chemical_Comp)

[Guer/publication/318717317\\_Essential\\_Oil\\_of\\_Oregano\\_and\\_Savory\\_Chemical\\_Comp](https://www.researchgate.net/profile/Mahmut-Guer/publication/318717317_Essential_Oil_of_Oregano_and_Savory_Chemical_Comp)

osition\_and\_Antimicrobial\_Activity/links/5cbe397b299bf1209778cc55/Essential-Oil-of-Oregano-and-Savory-Chemical-Composition-and-Antimicrobial-Activity.pdf

12. Mehdizadeh, L., Najafgholi, H. M., Biouki, R. Y., & Moghaddam, M. (2018). Chemical composition and antimicrobial activity of *Origanum vulgare* subsp. *viride* essential oils cultivated in two different regions of Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(4), 1062-1075. Disponible en:

<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2018.1491329>

13. Oniga, I., Pușcaș, C., Silaghi-Dumitrescu, R., Olah, N. K., Sevastre, B., Marica, R., ... & Hanganu, D. (2018). *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*: Chemical composition and biological studies. *Molecules*, 23(8), 2077. Disponible en:

<https://www.mdpi.com/1420-3049/23/8/2077>

14. Khan, M., Khan, S. T., Khan, N. A., Mahmood, A., Al-Kedhairi, A. A., & Alkhatlan, H. Z. (2018). The composition of the essential oil and aqueous distillate of *Origanum vulgare* L. growing in Saudi Arabia and evaluation of their antibacterial activity. *Arabian journal of chemistry*, 11(8), 1189-1200.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535218300479#!>

15. Bahmani, M., Taherikalani, M., Khaksarian, M., Soroush, S., Ashrafi, B. y Heydari, R. (2019). Perfiles fitoquímicos y actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de *Origanum vulgare* e *Hypericum perforatum* y Carvacrol e

Hipericina como Anti-Staphylococcus *aureus* Prometedor. Mini Reseñas en Química Medicinal , 19 (11), 923-932.

<https://www.ingentaconnect.com/content/ben/mrrmc/2019/00000019/00000011/art00008>

16. Ochoa Asmat, R. S. (2019). Efecto antibacteriano del aceite esencial *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Haemophilus influenzae* ATCC 10211 comparado con amoxicilina-ácido clavulánico, estudio in vitro.

<https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/29988>

17. Simirgiotis, M. J., Burton, D., Parra, F., López, J., Muñoz, P., Escobar, H., & Parra, C. (2020). Antioxidant and antibacterial capacities of *Origanum vulgare* L. essential oil from the arid Andean Region of Chile and its chemical characterization by GC-MS. *Metabolites*, 10(10), 414. <https://www.mdpi.com/2218-1989/10/10/414>

18. Moghrovyan, A., Sahakyan, N., Babayan, A., Chichoyan, N., Petrosyan, M., & Trchounian, A. (2019). Essential oil and ethanol extract of oregano (*Origanum vulgare* L.) from Armenian flora as a natural source of terpenes, flavonoids and other phytochemicals with antiradical, antioxidant, metal chelating, tyrosinase inhibitory and antibacterial activity. *Current Pharmaceutical Design*, 25(16), 1809-1816. Disponible en: <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpd/2019/00000025/00000016/art00002>

García M. Díaz G. Efectividad de la fitoterapia en pacientes con asma bronquial. *Rev Ciencias Médicas* vol.16 no.1 Pinar del Río. Cuba [Internet]. 20102 [citado el 20 de marzo del 20018]; 48-83. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-31942012000100014](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942012000100014)

19. Garcia M. Diaz G. Efectividad de la fitoterapia en pacientes con asma bronquial. Rev Ciencias Médicas vol.16 no.1 Pinar del Río. Cuba [Internet]. 20102 [citado el 20 de marzo del 20018]; 48-83. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-31942012000100014](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942012000100014)

20. Saavedra M. Extracción y caracterización del aceite esencial de las semillas de Tamarindo (*Tamarindus indica*), Lambayeque – 2014. Universidad señor de Sipan. Perú [Internet]. 2016 ago [citado el 3 de marso del 20019]; 9-22 Disponible en:

<http://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/uss/845/SAAVEDRA%20MONTENEGR%20MARIO%20LUIS%20MART%C3%8DN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

21. López M. Los aceites esenciales Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. Ambito farmacéutico fitoterapia. Perú [Internet]. 2012 Jul [citado el 13 de febrero del 20019]; Disponible en:

<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13064296>

22. Rios F. INFECCIONES DE PIEL Y PARTES BLANDAS EN NIÑOS MENORES DE 12 AÑOS ATENDIDOS EN LA EMERGENCIA DEL HOSPITAL CHIQUINQUIRÁ. Universidad del Zulia vicerrectorado académico serbiluz. Venezuela. [Internet]. 2012 ene [citado el 3 de marzo del 20018];16-55. Disponible en:

[http://tesis.luz.edu.ve/tde\\_arquivos/34/TDE-2012-07-06T09:42:51Z-](http://tesis.luz.edu.ve/tde_arquivos/34/TDE-2012-07-06T09:42:51Z-)

3242/Publico/rios\_bertel\_fanny\_gertrudis.pdf

23. Mollinedo M. Gonzales C. Bacterias Gram Negativas. Rev. Act. Clin. Med v.49 . LA Paz-Bolivia [Internet]. 2014 Nov[citado el 3 de marzo del 20018]; 138-145.

Disponible en:

[http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2304-](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-)

[37682014001000005&lng=es&nrm=iso](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014001000005&lng=es&nrm=iso)

24. Serra M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. Rev haban cienc méd vol.16 no.3 Cuba. [Internet]. 2017 Jun [citado el 10 de marzo del 20018];

Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-)

[519X2017000300011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011)

25. Cervantes E. Garcia R. Salazar P. Características generales del Staphylococcus aureus. México [Internet]. 2014 ene [citado el 10 de marzo del 20018]; Disponible en:

<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

26. Camarena J. Sanchez R. INFECCIÓN POR Staphylococcus aureus RESISTENTE A METICILINA. Control calidad SEIMC. Perú [Internet]. 2007 Jul [citado el 10 de marzo del 20018]; Disponible en:

<https://seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>

27. Cervantes E. García R. Salazar M. Características generales del Staphylococcus aureus. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab MEXICO [Internet]. 2014 Ene. [citado el 13 de marzo del 20018]; 30 - 72. Disponible en:

<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

28. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Ministerio de sanidad, política social e igualdad. Ficha técnica Amoxicilina / ácido clavulánico. España [Internet]. 2007 Jul [citado el 13 de febrero del 20019]; 1-12. Disponible en:

[https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/72246/72246\\_ft.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/72246/72246_ft.pdf)

29. Universidad católica los Ángeles de Chimbote. Código de Ética para la investigación versión 001. [en internet].2016. [Citado en 27 de febrero del 2019].

Disponible en : [file:///C:/Users/user/Downloads/codigo-de-etica-para-lainvestigacion-v001%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/user/Downloads/codigo-de-etica-para-lainvestigacion-v001%20(3).pdf)

30. Hassan, A. S. The antibacterial activity of dimethyl sulfoxide (DMSO) with and without of some ligand complexes of the transitional metal ions of ethyl coumarin against bacteria isolate from burn and wound infection. Journal of natural sciences research. [Internet] 2014 [citado el 05 Mayo 2021]. 4(19), 106. Disponible en:

<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.870.9833&rep=rep1&type=pdf>

31. Sacsquispe Contreras, Rosa, and Jorge Velásquez Pomar. "Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión." Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. [Internet] 2002 [citado el 20 de Mayo 2022] Disponible en:

[https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manua\\_1\\_sensibilidad.pdf](https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manua_1_sensibilidad.pdf)

32. Amoxicilin+Clavulanic acid - DrugBank [Internet]. [citado el 20 de Mayo 2022]. Disponible en: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00415>

33. Olascuaga-Castillo, K., Rubio-Guevara, S., Valdiviezo-Campos, J. E., & Blanco-Olano, C. *Desmodium molliculum* (Kunth) DC (Fabaceae); Perfil etnobotánico, fitoquímico y farmacológico de una planta andina peruana. *Ethnobotany Research and Applications*, [Internet] 2020 [citado el 20 de Mayo 2022] 19, 1-13. Disponible en:

<http://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/1811>

34. Paduch, R., Kandefor-Szerszeń, M., Trytek, M. y Fiedurek, J. . Terpenos: sustancias útiles en la salud humana. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*. [Internet] 2007 [citado el 20 de Mayo 2022] 55(5), 315 Disponible en:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s00005-007-0039-1>

35. Maldonado, L., & Estiguar, J. Evaluación de la actividad antibacteriana de *Origanum vulgare*. Treinta Reales, utilizando un modelo in vivo (Bachelor's thesis, Quito: UCE.). [Internet] 2015 [citado el 20 de Mayo 2022] Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6365>

## ANEXOS

CENTRO POBLADO CHASCA PERTENECIENTE A UNIÓN QUINUAL  
PROVINCIA DE JULCAN – LA LIBERTAD.



FUENTE: FOTOS OTORGADAS POR EL ALUMNO TESISISTA.

**ANEXO:** EQUIPO SOXHLET MINUTOS ANTES DE REALIZAR LA EXTRACCION  
DE ACEITES ESENCIALES DE *ORIGANUM VULGARE* (ORÉGANO)



FUENTE: FOTOS OTORGADAS POR EL ALUMNO TESISISTA.

**ANEXO: EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES DE *ORIGANUM VULGARE* (ORÉGANO).**



**FUENTE: FOTOS OTORGADAS POR EL ALUMNO TESISISTA.  
ANEXO SEMBRADO DE LA BACTIRIA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.**



**FUENTE: FOTOS OTORGADAS POR EL ALUMNO TESISISTA.**

**ANEXO REALIZANDO LA MEDICION DE LOS HALOS DE INHIBICION BACTERIANA**



FUENTE: FOTOS OTORGADAS POR EL ALUMNO TESISISTA.