



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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In vitro* DEL ACEITE
ESENCIAL DE *Origanum vulgare* L. (ORÉGANO) SOBRE
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORES

Bach. LACHOS PINTADO, EVERLY YANIRA

<https://orcid.org/0000-0002-5212-0122>

Bach. LOPEZ PEREZ, LUIS ALBERTO

<https://orcid.org/0000-0002-5616-8801>

ASESOR

Mg. FLORES LÓPEZ, OSCAR BERNUY

<https://orcid.org/0000-0001-9091-2537>

LIMA – PERÚ

2022

DEDICATORIA

A mis padres por hacer de mí la persona que hoy en día soy, por los valores y la motivación que me brindaron para culminar esta etapa, por apostar por mí y formarme con reglas y libertades, llevándome así a cumplir mis objetivos y alcanzar mis anhelos.

Everly Yanira Lachos Pintado

A mis padres por hacer de mí la persona que hoy en día soy, por los valores y la motivación que me brindaron para culminar esta etapa, por apostar por mí y formarme con reglas y libertades, llevándome así a cumplir mis objetivos y alcanzar mis anhelos.

Luis Alberto López Pérez

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer a Dios por permitirme estar en esta universidad, a mis maestros por todas las enseñanzas, a mis compañeros por nuestras vivencias y sobretodo agradecer a mis padres y hermanos por forjarme a seguir adelante y cumplir con este objetivo, por apoyarme siempre y ser parte de este logro.

En primer lugar agradecer a Dios por permitirme estar en esta universidad, a mis maestros por todas las enseñanzas, a mis compañeros por nuestras vivencias y sobretodo agradecer a mis padres y hermanos por forjarme a seguir adelante y cumplir con este objetivo, por apoyarme siempre y ser parte de este logro.

ÍNDICE

RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. 10	
II. 18	
2.1 18	
2.2 18	
2.3 19	
2.4 19	
2.5 20	
2.6 22	
2.7 22	
III. 22	
IV. 28	
4.1 28	
4.2 30	
4.3 30	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
ANEXOS	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis de los datos recolectados con respecto al tamaño del halo de inhibición de los grupos experimentales y control.	25
Tabla 2. Análisis de la distribución normal para cada grupo de tratamientos	26
Tabla 3. Análisis de la homogeneidad de varianzas	27
Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA) de los grupos de tratamientos	27
Tabla 5. Análisis por subgrupos homogéneos de la prueba de Tukey	28
Tabla 6. Análisis de la sensibilidad de <i>Staphylococcus</i> frente al aceite de <i>Origanum vulgare</i> L, a diferentes concentraciones, según la escala de Duraffourd	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Análisis gráfico de los diámetros de los halos de inhibición según grupo de los grupos experimentales y control 26

INDICE DE ANEXOS

Anexo A. Instrumento de recolección de datos	39
Anexo B. Matriz de consistencia	40
Anexo C. Operacionalización de las variables	41
Anexo D. Identificación taxonómica de la especie vegetal	42
Anexo E. Certificado de análisis de la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	43
Anexo F. Fotografías del trabajo de campo	45

➤ RESUMEN

Objetivo: Demostrar la actividad antibacteriana *In vitro* del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Metodología: Se empleó un estudio de enfoque cuantitativo, con diseño experimental de tipo transversal y prospectivo, la población de estudio vegetal fue *Origanum vulgare* (orégano) recolectada en el Reque, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque y la población microbiológica fue *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923. La muestra vegetal empleada fue el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) a las concentraciones de 100%, 75% y 50% las que se evaluaron mediante el método de difusión en pozo.

Resultados: El valor promedio de los halos de inhibición para el aceite de *Origanum vulgare* L. (orégano) al 50% fue de $11,16 \pm 0,36$ mm; de $13,13 \pm 0,31$ mm para el 75% y para el 100% fue de $14,91 \pm 0,55$ mm, así mismo, el control negativo (DMSO) obtuvo un halo promedio de $6,13$ mm $\pm 0,18$ y el control positivo (ciprofloxacino) de $27,83$ mm $\pm 0,28$, el análisis estadístico se realizó mediante las pruebas de ANOVA Y TUKEY encontrando diferencias estadísticamente significativas en todos los grupos de datos analizados con un alfa de 0.05.

Conclusiones: El aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) a las concentraciones del 100%, 75% y 50% presentan actividad antibacteriana *In vitro* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Palabras clave: *Origanum vulgare*, orégano, *Staphylococcus aureus*, actividad antibacteriana.

➤ ABSTRACT

Objective: To demonstrate the in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Origanum vulgare* (oregano) on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Methodology: A quantitative approach study was used, with a cross-sectional and prospective experimental design, the plant study population was *Origanum vulgare* (oregano) collected in Reque, Chiclayo province, Lambayeque department and the microbiological population was *Staphylococcus aureus* ATCC No. 25923. The plant sample used was the essential oil of *Origanum vulgare* (oregano) at concentrations of 100%, 75% and 50%, which were evaluated by the well diffusion method.

Results: The average value of the inhibition halos for *Origanum vulgare* L. (oregano) oil at 50% was 11.16 ± 0.36 mm; 13.13 ± 0.31 mm for 75% and for 100% it was 14.91 ± 0.55 mm, likewise, the negative control (DMSO) obtained an average halo of 6.13 ± 0.18 and the positive control (ciprofloxacin) of 27.83 ± 0.28 , the statistical analysis was performed using the ANOVA and TUKEY tests, finding statistically significant differences in all the data groups analyzed with an alpha of 0.05.

Conclusions: The essential oil of *Origanum vulgare* L. (oregano) at concentrations of 100%, 75% and 50% have in vitro antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Keywords: *Origanum vulgare*, oregano, *Staphylococcus aureus*, antibacterial activity.

I. INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus es una bacteria patógena, frecuentemente aislada a nivel hospitalario y comunitario,¹ elevando el costo, la estadía hospitalaria y el número de muertes a nivel mundial.²⁻⁴ Las infecciones causadas por *S. aureus* generan una elevada morbimortalidad. De igual manera el 30% de la población esta colonizada por esta bacteria, simultáneamente, *S. aureus* es la causa principal de bacteriemias, endocarditis, infecciones osteomusculares, infección de tejidos blandos, pulmonares e infecciones concernientes con dispositivos médicos.^{5,6} La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) reportaron que cada año, cerca de 700 mil personas fallecen a consecuencia de la resistencia bacteriana a los antimicrobianos. En el año 2016 se reportó que *Staphylococcus aureus* fue el causante de 200 mil muertes de neonatos, por año. Por otro lado, se estima que para el año 2050 la resistencia a los antimicrobianos matara por lo menos a 10 millones de personas cada año.⁷ También se calcula que por lo menos el 64% de los pacientes infectados por *S. aureus* metiloresistente (SARM) tiene una mayor probabilidad de morir que los pacientes infectados por cepas no resistentes, pero esto depende de factores como perfil de resistencia y el tipo de paciente.^{8,4}

La organización mundial de la salud (OMS) publicó un informe donde se reportó que 144 países afirman que, las bacterias han elevado su nivel de resistencia hacia los antimicrobianos, lo que hace que las patologías de origen infeccioso se prolonguen por más tiempo incrementando de esta manera el riesgo de defunciones.⁸ El mismo informe revela datos epidemiológicos sobre la resistencia de las infecciones causadas por *S. aureus* a los antimicrobianos por regiones, siendo estos los siguientes: Américas (90%), África (80%), Pacífico Occidental (80%). Europa (60%) y Asia sudoriental (25%)⁸.

Por otro lado, en Perú, en el hospital Cayetano Heredia se realizó un estudio de Bacteriemia por *Staphylococcus aureus* entre los años 2017 y 2018, donde se reportó que el 46.6% de pacientes es MRSA y el 53.4% MSSA, además la

mayoría de casos eran corrientes a la mayoría de grupos de antibióticos.⁹ También un estudio realizado por Magaña C. en diferentes hospitales de la ciudad de Lima, se determinó que el 50% de cepas de *Staphylococcus aureus* aislados de hemocultivos fueron resistentes a la meticilina.⁽⁷⁾ De igual manera en un estudio publicado por la revista Experiencia en Medicina del Hospital Regional Lambayeque⁽¹⁰⁾, encontró que *S. aureus* tiene una prevalencia del 10,67% en infecciones del tracto urinario, mayormente en el grupo etario comprendido entre los 23 a 30 años, además se reportó la formación de la enzima betalactamasa.

El Perú es un país que dispone de una amplia variedad de especies vegetales que a un no cuentan con estudios científicos, como es el caso de *Origanum vulgare* (orégano) especie vegetal que posee diversas propiedades terapéuticas, con la cuales se puede implementar alternativas terapéuticas en el tratamiento de las infecciones por *Staphylococcus aureus* y disminuir la morbimortalidad en la población peruana.

En cuanto a las bases teóricas que respaldan y describen nuestras variables de estudio, tenemos:

Staphylococcus aureus, pertenece a la familia *staphylococcaceae*, es un patógeno anaerobio Gram positivo de morfología esférica, tiene un diámetro de aproximadamente 1 µm y que racimos en forma de uva. Es una bacteria comensal presente de manera asintomática en diversas partes del cuerpo, como la nariz, glándulas cutáneas, piel, membranas mucosas e intestino. La mayoría de estudios demostraron que el 20% de individuos son portadores persistentes nasales, el 30% son portadores intermitentes y el 50% son no portadores.¹¹ La importancia clínica de *S. aureus* radica que a pesar de ser uno de los primeros patógenos descritos aún sigue siendo una de las principales causas de infecciones en humanos. Esta bacteria tiene una amplia plétora de infecciones, así mismo tiene una gran capacidad de adaptación a las diferentes condiciones medioambientales. Es la principal causa de infecciones tanto intrahospitalarias como extrahospitalarias, puede generar graves consecuencias que van desde afecciones en el torrente sanguíneo, la piel, tracto respiratorio inferior y tejidos

blandos, también se relaciona con infecciones causadas por instrumental médico, como sucede con la infección del torrente sanguíneo asociado a la vía central (CLABSI), infecciones internas como la endocarditis y osteomielitis. *S. aureus* es responsable de enfermedades causadas por toxinas, entre estas se incluye a síndrome de choque tóxico, síndrome de piel escaldada y enfermedades transmitidas por alimentos, esto debido a que *Staphylococcus aureus* está equipado con un potente repertorio de toxinas y diversos factores de virulencia.^{12,13,11} Pruebas de susceptibilidad bacteriana,¹⁴ se trata de una de las funciones más significativas de los laboratorios clínicos que realizan análisis microbiológicos. Es un proceso que se desarrolla mediante pruebas de sensibilidad in vitro o también llamado antibiograma, el que tiene como objetivo principal la evaluación de la respuesta un uno o varios antibióticos frente a un microorganismo. Uno de los métodos más usados para la determinación de la susceptibilidad bacteriana es el Método del antibiograma disco-placa o disco difusión, este método está basado en el trabajo de Kirby-Bauer y colaboradores, es el método recomendado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) para la determinación de la susceptibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El fundamento de este método consiste en colocar en la superficie del agar contenido en una placa Petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel impregnados con los diversos antibióticos, tan pronto el disco se ponga en contacto con la superficie húmeda de agar, el antibiótico se difundirá de manera radial a través del espesor del agar, formando una gradiente de concentración. Una vez transcurridas entre 18 a 24 horas de incubación los discos aparecerán rodeados por un halo al que llamaremos halo de inhibición. Las lecturas de los halos de inhibición se interpretarán de la siguiente manera: sensible (S), intermedia (I) y resistente (R), según el NCCLS.

Aceites esenciales, según la Organización Internacional de Normalización (ISO) en su ISO 9235, los aceites esenciales son compuestos que se originan a partir mezclas complejas originadas del metabolismo secundario de las plantas, producidos por diferentes estructuras secretoras, como los tricomas glandulares. Los aceites esenciales pueden estar compuestos por terpenos, en asociación con otros componentes por lo general volátiles los mismos que

proporcionan el olor y sabor a las plantas. Por lo general son compuestos volátiles, hidrófobos, solubles en alcohol y con una densidad inferior a la del agua. Químicamente lo AE están compuestos por más de 100 componentes, entre los cuales se encuentra principalmente los compuestos terpénicos, entre ellos los terpenoides el que representa más del 60% de la composición de los productos naturales.¹⁵ Se conocen cerca de 3000 tipos de AE, de los cuales solo 300 tienen importancia comercial en el mercado de las fragancias. Hoy en día los AE han demostrado tener una gran actividad biológica y farmacológica, gracias a sus propiedades antioxidantes, bactericidas, antifúngicas, insecticidas y antivirales, las que prometen ser una alternativa natural para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades.^{16,17} Existen diversos métodos de extracción para los aceites esenciales, estos pueden obtenerse por destilación mediante cualquiera de sus variantes, puede ser por hidrodestilación, destilación por arrastre de vapor o destilación en seco, también se puede obtener mediante procesos mecánicos como prensado, mediante extracción con solventes volátiles, fluidos supercríticos y mediante microondas.¹⁸⁻²⁰

Origanum vulgare L. Es una Planta herbácea perenne, que agrupa por lo menos a 38 especies. Su nombre deriva del griego "OROS" que significa montaña y "GANOS" adorno, el cual se traduce a adorno de las montañas.²¹ Sus características botánicas nos indican que es una especie vegetal aromática, utilizada por su alto contenido en aceites esenciales, con aspecto leñoso en la base, presenta tallos herbáceos que pueden llegar a medir hasta 1 metro de altura. Sus hojas pueden ser pecioladas, ovaladas, generalmente enteras, presenta vellosidades generalmente por debajo, además presenta glándulas de forma esferoidal las mismas que contienen las esencias. Las flores se agrupan en inflorescencias de manera esférica o alargada, generalmente florecen en verano.¹⁷ El aceite esencial obtenido de *Origanum vulgare* (orégano) está constituido químicamente por más de 22 compuestos entre los cuales se encuentran en cantidades más considerables el carvacrol y timol siendo el carvacrol (monoterpeno fenólico) el compuesto más predominante y además en cantidades menores, presenta monoterpenos, con notable predominio de los hidrocarburos monoterpenos (limoneno, γ -terpineno y p-cimeno). También

contiene ácidos fenólicos como el cafeico, rosmarínico y clorogénico, también se encuentran en cantidades menores flavonoides, taninos, principios amargos y triterpenos derivados de los ácidos ursólico.²²⁻²⁷ Con respecto la actividad biológica y farmacológica, que se le atribuye a *Origanum vulgare* (orégano), encontramos efectos tales como: antitumoral, antimutagénico, antibacteriano, antifúngico, antigenotóxico, antiespasmódico, analgésico, antiinflamatorio, antiparasitario, inhibidoras de la acetilcolinesterasa, antiplaquetario, antiparasitario, hepatoprotector, antioxidante, hipoglucemiante, anti-Alzheimer y trastornos de la piel.²⁸⁻³⁰ Además estudios recientes han demostrado su efecto sobre el cáncer de mama.³¹ La actividad antibacteriana del aceite esencial de orégano se le atribuye al carvacrol y timol, cuyo mecanismo de acción se debe a que estos compuestos provocan alteraciones de tipo funcional y estructural en la membrana celular de la de las bacterias.³² También puede inhibir el metabolismo respiratorio y energético, además pueden cambiar la estructura del ADN bacteriano.³³

Para enmarcarnos dentro del contexto de la investigación acerca del efecto antibacteriano del orégano, citaremos los siguientes antecedentes internacionales:

Lopes L. et al (2021)³⁴ determino el efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (EOO) y carvacrol (CAR) sobre el crecimiento de bacterias patógenas en la orofaringe, tuvo como. Según los resultados, se halló que el tamaño de los halos de inhibición variaron de 21,00 mm, para *E. coli*, a 33,56 mm, para *S. aureus* para EOO. El CAR tiene una CIM más baja para *K. pneumoniae* y una concentración más alta para *S. aureus*. El MBC mostró valores similares al MIC. Se concluyó que el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. y el Carvacrol mostraron actividad inhibitoria sobre el crecimiento bacteriano en la orofaringe.

Pérez O. et al (2021),³⁵ evaluaron la capacidad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de hojas de *Origanum vulgare* frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*. Según los resultados, se observó halos de inhibición, con tamaño promedio de 21.64mm, 15.24mm y 11.45mm para *S. aureus*; de 13.31, 12.27 y 7.35 mm para *P. aeruginosa*, y 12.5,

11.40 y 10.6 mm para *E. coli*, para las diferentes concentraciones. Se llegó a la conclusión que el extracto etanólico de *O. vulgare* tienen capacidad antibacteriana sobre *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*.

Carrillo E. (2020),³⁶ evaluó de la capacidad inhibitoria de mezcla de aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y albahaca (*Ocimum basilicum*) frente a *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *S. Typhimurium*. Según los Resultados, se halló que la concentración de orégano al 100% mostro un halo de inhibición de 25,33mm para *L. monocytogenes*; mientras que la mezcla de 67% orégano y 33% albahaca mostro un halo de inhibición de 24,02mm para *S. aureus* y la mezcla de 12% orégano y 88% albahaca mostro un halo de inhibición de 35,86mm en *S. enterica ser. Typhimurium*. Se llegó a la conclusión que los aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum*) y orégano (*Origanum vulgare*) tienen efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella typhimurium*.

Con respecto a los antecedentes nacionales citamos a:

Medrano E. y Medrano D. (2021),³⁷ determinaron la actividad antimicrobiana y efecto desinfectante del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Según los resultados, se halló halos de inhibición para *Staphylococcus aureus* de 8,0 mm, 8,0 mm, 9,3 mm y 14,7 mm, para *Escherichia coli* fue de 8,0 mm, 9,3 mm, 15,7 mm y 12,0 mm a las concentraciones de 20%, 40%, 80% y 100% respectivamente para cada cepa. Conclusión: se concluye que las concentraciones de 80% y 100% presentan efecto antimicrobiano, comprobando así la acción desinfectante del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano).

Sánchez J. y Perez Y. (2021),³⁸ realizaron el estudio sobre la actividad antimicótica del aceite esencial de la flor de *Origanum vulgare* "Orégano" y *Piper Aduncum* "Matico" frente *Candida albicans*. Según los resultados, se observó halos de inhibición promedios obtenidos para el aceite de orégano de 25.50mm, 29.78mm y 32.53mm y para el aceite de matico fueron de 6.87mm, 8.59mm y 11.84mm, para las concentraciones al 50%, 75% y 100% respectivamente. Se concluyó que el efecto antimicótico del aceite de orégano fue superior al control

positivo de nistatina; el aceite de matico presento efecto antimicótico leve sobre *Candida albicans*.

Condori F. (2020, ³⁹ realizó el estudio sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum majorana* y *Origanum onites* frente a *Staphylococcus aureus* atcc 25923, arequipa-2019. Según los resultados, se halló halos de inhibición, con tamaño promedio de 7mm al 1%, 10mm al 5%, 18mm al 10% y 21mm al 20% y de 35mm para la penicilina. Se llegó a la conclusión que el aceite esencial de los *Origanum majorana* y *Origanum onites* posee actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La importancia de la presente investigación radica en que actualmente la resistencia bacteriana a los antibióticos se ha apuntado como un indiscutible problema de salud pública, incrementando cada año la morbimortalidad. Por otro lado, la búsqueda de nuevas propiedades terapéuticas a base de plantas se ha convertido en nuestros días en una esperanza para el tratamiento de algunas enfermedades que afectan a la población peruana y mundial ya que más del 80 % de la población hace uso de la medicina tradicional en especial los países que se encuentran en vías de desarrollo.

La justificación teórica del presente estudio, se basa en la poca información bibliográfica acerca de estudios científicos que sustenten el efecto antibacteriano de *Origanum vulgare* (orégano), además no hay estudios suficientes que establezcan las concentraciones y dosis adecuada, para alcázar la actividad antibacteriana. De igual forma este estudio pretende contribuir con el conocimiento acerca de la seguridad y el efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano), en el tratamiento de las infecciones causada por bacterias, constituyendo una nueva alternativa de tratamiento natural.

Así mismo el presente estudio tiene una justificación social, porque de esta manera se pretende incentivar a la población a hacer uso de *Origanum vulgare* (orégano) como una nueva alternativa de tratamiento de enfermedades de origen bacteriano, con información validada científicamente, y así reducir el consumo de medicamentos sintéticos que causan diversas reacciones adversas.

De esta manera el presente estudio plantea el siguiente objetivo general:

- Demostrar la actividad antibacteriana *In vitro* del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

La hipótesis general que se plantea en el presente estudio es la siguiente:

- El aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) posee actividad antibacteriana *In vitro* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de investigación

Enfoque cuantitativo: Porque se utilizara herramientas de análisis estadístico con el propósito de describir, explicar y cuantificar el problema de investigación.

Diseño experimental: Es experimental, debido a que se manipulara la variable independiente y luego se analizara el efecto producido sobre la variable dependiente.

Tipo de investigación: Transversal y Prospectivo.

Transversal: porque los datos serán recolectados en un tiempo único.

Prospectivo: porque los datos serán analizados transcurrido un determinado tiempo en el futuro.

2.2 Población, muestra y muestreo

2.2.1 Población

- La población vegetal en estudio estará constituida por *Origanum vulgare* (orégano). Cultivado en el distrito de Reque, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque.
- Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC N°25923, que serán obtenidas del laboratorio Microclin de la ciudad de Trujillo.

2.2.2 Muestra

- Aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) en concentraciones de 100%, 75% y 50%.
- UFC de cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Criterios de inclusión

- Muestras en las concentraciones indicadas (100%, 75% y 50%).
- Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 puras.

Criterios de exclusión

- Muestras que no contengan la concentración indicada.
- Cepas de *Staphylococcus aureus* no identificadas.

2.2.3 Muestreo

Muestreo no probabilístico por conveniencia, significa que la elección de los elementos o va a depender de la probabilidad sino de las diversas condiciones que permitan realizar el muestreo.

2.3 Variables de investigación

Variable independiente: Aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano).

Definición conceptual: Aceite extraído a partir de las hojas *Origanum vulgare* (orégano) por el método de arrastre de vapor de agua.

Definición operacional: concentración del aceite esencia de *Origanum vulgare* (orégano).

Variable dependiente: Actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Definición Conceptual: Capacidad del aceite esencial de inhibir el crecimiento bacteriano.

Definición operacional: Sensibilidad de *Staphylococcus aureus* frente al aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano). Obtenida mediante la medida del diámetro de los halos de inhibición.

2.4 Técnica e Instrumentos de recolección de datos

El instrumento que utilizó la presente investigación, fue una hoja de registro (Guía de observación) en la que se registraron todas las observaciones realizadas durante el proceso de investigación, para posteriormente ser ingresado a una base de datos de manera ordenada para su posterior análisis estadístico. (Ver anexo A).

2.5 Plan metodológico para la recolección de datos

2.5.1 Recolección de la muestra vegetal

Se recolectaron 5 kilogramos de *Origanum vulgare* (orégano) en el distrito de Reque, provincia de Chiclayo, departamento de Lambayeque. La muestra fue envuelta en papel kraft y posteriormente embalada en cajas de cartón respectivamente rotuladas y trasladada al laboratorio.

2.5.2 Identificación de la muestra vegetal

Se remitió una muestra de la especie vegetal al especialista botánico, en la ciudad de Lima, para su identificación y clasificación taxonómica correspondiente y emisión de la constancia respectiva (anexo D).

2.5.3 Obtención del aceite esencial

Se seleccionaron las muestras de la especie vegetal que presentaron buenas condiciones y conservaron sus características organolépticas, descartando aquellos que no cumplían con los criterios de inclusión. Después de realizar la selección de la muestra vegetal se procedió a lavar con agua potable y desinfectada con solución de hipoclorito de sodio al 0,1% durante 3 minutos. Posteriormente fueron enjuagados con agua destilada esteril hasta eliminar por completo el hipoclorito de sodio. Una vez lavadas se secaron bajo sombra sobre papel kraft por 48 horas. La extracción del aceite esencial se realizará según la metodología empleada por Flores A.⁴⁰ el cual consistió en extraer aceite esencial de 5 kg de hojas frescas de *Origanum vulgare* (orégano) empleando el método de arrastre con vapor de agua también llamado método directo, en el que el material está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor. Se colocó en el mismo recipiente el agua y el material a extraer, se calentó el agua a ebullición y el aceite extraído es arrastrado junto con el vapor de agua hacia un condensador, que enfría la mezcla, la cual es separada posteriormente para obtener el producto deseado. Debido a la diferencia de propiedades físicas como densidad e inmiscibilidad, el aceite esencial se separó del agua en una pera de decantación, se agregó sulfato de sodio anhidro Na₂SO₄ al aceite como

secante para eliminar las trazas de agua; el aceite esencial se envasó en un frasco de vidrio color ámbar y se mantuvo alejado de la luz solar a una temperatura de 4°C hasta su uso.

2.5.4 Preparación de las concentraciones de trabajo

Una vez obtenido el aceite esencial, se procedió a realizar las respectivas diluciones con dimetilsulfóxido (DMSO) obteniendo concentraciones al 100%, 75% y 50%.

2.5.5 Reactivación y estandarización del inóculo bacteriano

La reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC se realizó según la información técnica del catálogo de la empresa comercializadora de la cepa, utilizando los medios de cultivo agar Baird - Parker, posteriormente se incubará en medio de anaerobiosis a 37°C + 1 por 24 – 48 horas, para posteriormente preparar las diluciones según a ensayar.

2.5.6 Preparación y estandarización del inóculo bacteriano

A partir de la placa incubada por 24 horas, con la ayuda de un asa bacteriológica se procedió a extraer 2 a 3 colonias y se preparó una suspensión bacteriana; equivalente al tubo N° 0.5 de la escala de McFarland en solución salina fisiológica estéril, esta se agitó por 30 segundos, obteniendo el inóculo empleado para la determinación de la sensibilidad.

2.5.7 Determinación del efecto antibacteriano

El efecto antibacteriano se determinó mediante la técnica de difusión en pozo, la cual consiste en colocar realizar pozos en las placas con el cultivo bacteriano y colocar en estos 30 uL de las diferentes concentraciones al 100%, 75% y 50% del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano). Luego se llevó a incubación en estufa a 37°C, durante 24 horas. Trascurrido el tiempo de incubación se procedió a medir los diámetros de los halos de inhibición formados con la ayuda de un vernier digital o pie de rey, los datos fueron registrados en la ficha de recolección de datos.

2.6 Procesamiento del análisis estadístico

Los datos recolectados serán analizados y procesados mediante el software estadístico SPSS Ver. 26. Mediante las pruebas de normalidad, ANOVA y TUKEY, con un alfa de 0.005, para contrastación de hipótesis.

2.7 Aspectos éticos

En el presente trabajo de investigación Se aplicará los principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL). Se tendrá en cuenta la correcta manipulación y desecho de las muestras sobre todo de la cepa de *Staphylococcus aureus*, de acuerdo al manual de bioseguridad en laboratorios de microbiología durante la ejecución del trabajo se tomará todas las precauciones necesarias para evitar cualquier contaminación.^{41,42}

III. RESULTADOS

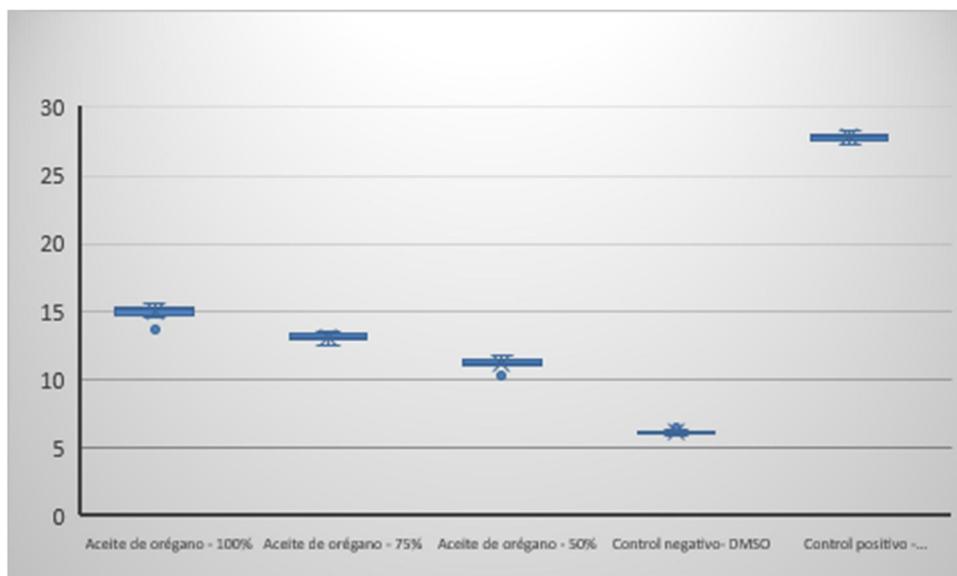
Tabla 1. Análisis de los datos recolectados con respecto al tamaño del halo de inhibición de los grupos experimentales y control.

Grupos	N	Media	Std. Desviación	Std. Error	95% Intervalo de confianza de la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Aceite de orégano - 100%	10	14,91	0,55	0,17	14,52	15,30	13,60	15,56
Aceite de orégano - 75%	10	13,13	0,31	0,10	12,91	13,35	12,55	13,52
Aceite de orégano - 50%	10	11,16	0,36	0,11	10,90	11,41	10,32	11,68
Control negativo- DMSO	10	6,13	0,18	0,06	6,00	6,25	5,95	6,53
Control positivo - Ciprofloxacino	10	27,83	0,28	0,09	27,63	28,04	27,36	28,26

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 1 se observa el análisis estadístico realizado a los datos de los halos de inhibición obtenidos en los grupos experimentales y control donde se obtiene los parámetros de media, desviación estándar, intervalos de confianza y valores máximo y mínimo mediante el programa estadístico SPSS versión 26; se observa que el valor promedio de los halos de inhibición para el aceite de *Origanum vulgare* L. (orégano) al 50% fue de $11,16 \pm 0,36$ mm; de $13,13 \pm 0,31$ mm para el 75% y para el 100% fue de $14,91 \pm 0,55$ mm, así mismo, el control negativo (DMSO) obtuvo un halo promedio de $6,13$ mm $\pm 0,18$ y el control positivo (ciprofloxacino) de $27,83$ mm $\pm 0,28$.

Figura 1. Análisis gráfico de los diámetros de los halos de inhibición según grupo de los grupos experimentales y control



Fuente: SPSS ver. 26

En la figura 1, podemos observar la actividad antibacteriana según el diámetro de los halos de inhibición obtenidos por los grupos control y experimentales sobre *Staphylococcus aureus*, donde se puede apreciar un mayor efecto antibacteriano por parte del control positivo (ciprofloxacino), con respecto a los grupos experimentales, así mismo, se observa efecto antimicótico creciente con respecto a la concentración del aceite siendo mayor a mayores concentraciones; por otro lado, no se observa diámetros similares con el control negativo.

Tabla 2. Análisis de la distribución normal para cada grupo de tratamientos

Grupos de trabajo	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Aceite de orégano - 100%	0,22	10,00	,200 [*]	0,86	10,00	0,08
Aceite de orégano - 75%	0,11	10,00	,200 [*]	0,96	10,00	0,79
Aceite de orégano - 50%	0,26	10,00	0,05	0,89	10,00	0,16
Control negativo - DMSO	0,27	10,00	0,04	0,85	10,00	0,05
Control positivo - Ciprofloxacino	0,15	10,00	,200 [*]	0,98	10,00	0,94

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 2, se observa el análisis de las pruebas de distribución normal de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk realizada mediante el programa estadístico

SPSS versión 26, se observa valores de significancia superior al 0,05 establecido en el estudio, por lo que se confirma la hipótesis de que los grupos de datos analizados presentan una distribución normal.

Tabla 3. Análisis de la homogeneidad de varianzas

		Levene			p-
		Statistic	df1	df2	valor
Diámetro del halo de inhibición	Se basa en la media	1,582	4	45	0,195
	Se basa en la mediana	1,016	4	45	0,409
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1,016	4	22,458	0,420
	Se basa en la media recortada	1,475	4	45	0,226

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 3, del mismo se puede apreciar el análisis realizado mediante la prueba de Levene o de varianzas homogéneas a los grupos de datos analizados; así mismo, se observa un valor $p > 0.05$, por lo tanto, se confirma que los grupos de datos estudiados tienen varianzas homogéneas.

Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA) de los grupos de tratamientos

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	2610,926	4	652,731	5150,513	0,000
Dentro de los grupos	5,703	45	0,127		
Total	2616,628	49			

Fuente: SPSS ver. 26

En la tabla 4 se muestra la prueba de ANOVA o de análisis de la varianza realizados a los grupos de tratamiento experimental y control, donde se observa un $p < 0,05$, por lo tanto, se confirma que existe diferencias estadísticamente significativas en al menos uno de los grupos de datos analizados.

Tabla 5. Análisis por subgrupos homogéneos de la prueba de Tukey

HSD Tukey ^a						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5

Control negativo- DMSO	10	6,12			
Aceite de orégano - 50%	10		11,15		
Aceite de orégano - 75%	10			13,12	
Aceite de orégano - 100%	10				14,90
Control positivo - Ciprofloxacino	10				27,83
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 5 muestra la prueba de Tukey por subgrupos homogéneos la cual complementa la información del análisis por sub grupos homogéneos y establece jerarquías o niveles de clasificación de acuerdo a la media de los halos de inhibición de cada grupo de trabajo, donde se puede apreciar mayor actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* para el control positivo con halo de 27,83mm; seguido por el aceite de *Origanum vulgare* L al 100%, 75% y 50% y sin actividad antibacteriana sobre este microorganismo al control negativo.

Tabla 6. Análisis de la sensibilidad de *Staphylococcus* frente al aceite de *Origanum vulgare* L, a diferentes concentraciones, según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula < 8 mm	Sensible 8-<14 mm	Muy sensible 14-<20 mm	Sumamente sensible ≥ 20 mm
Control negativo- DMSO	6,12			
Aceite de orégano - 50%		11,15		
Aceite de orégano - 75%		13,12		
Aceite de orégano - 100%			14,90	
Control positivo - Ciprofloxacino				23,94

En la tabla 6, se muestra la escala valorativa de Duraffourd para la determinación de la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* frente al aceite de *Origanum vulgare* L. a las concentraciones del 100%, 75% y 50%, se observa que *Staphylococcus aureus* es sumamente sensible al ciprofloxacino, quien muestra un halo superior a 20mm, además es muy sensible al aceite de *Origanum vulgare* al 100% y sensible

al aceite de *Origanum vulgare* L. al 50% y 75%, esta bacteria no presentó sensibilidad antibacteriana al control negativo.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión

Los datos recolectados con respecto a la actividad antibacteriana *In vitro* del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, correspondieron a los diámetros de los halos de inhibición formados por el aceite de *Origanum vulgare* L. (orégano) a las concentraciones del 50%, 75% y 100% sobre dicha bacteria; así mismo, se emplearon grupos control; control negativo conformado por el dimetil sulfóxido (DMSO) el cual se empleó para diluir el aceite y control positivo conformado por el ciprofloxacino, los datos recolectados fueron analizados estadísticamente empleando el software estadístico SPSS versión 26 con un nivel de confianza del 95%.

En los resultados obtenidos del estudio; se observa que el valor promedio de los halos de inhibición para el aceite de *Origanum vulgare* L. (orégano) al 50% fue de $11,16 \pm 0,36$ mm; de $13,13 \pm 0,31$ mm para el 75% y para el 100% fue de $14,91 \pm 0,55$ mm, así mismo, el control negativo (DMSO) obtuvo un halo promedio de $6,13$ mm $\pm 0,18$ y el control positivo (ciprofloxacino) de $27,83$ mm $\pm 0,28$.

Lopes L. et. al. (2021) determino el efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (EOO) y carvacrol (CAR) al evaluarlo sobre *Staphylococcus aureus*, observaron halos de inhibición promedio a 33,56 mm para el aceite al 100%, los resultados de este estudio no se contrastan con los obtenidos ya que se encontraron halos de inhibición promedio de menor tamaño para la misma concentración.

Así mismo, Pérez O. et. al. (2021) evaluó la capacidad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Origanum vulgare* frente a *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* a las concentraciones de 80 mg/mL, 40 mg/mL y 20 mg/mL, encontrando halos de inhibición promedio frente a *Staphylococcus aureus* de 21.64mm, 15.24mm y 11.45mm, estos resultados se muestran similares a los obtenidos; sin embargo, se debe precisar que se evaluó el extracto etanólico de las hojas más el aceite.

Por otro lado, Carrillo E. (2020), evaluó de la capacidad inhibitoria de la mezcla de aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y albahaca (*Ocimum basilicum*) frente a *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *S. Typhimurium*, la mezcla de 67% orégano y 33% albahaca mostró un halo de inhibición de 24,02mm para *Staphylococcus aureus*, a pesar que el estudio muestra la capacidad inhibitoria la mezcla de orégano (*Origanum vulgare*) y albahaca (*Ocimum basilicum*) frente a *Staphylococcus aureus* coincide con el estudio en el poder antimicrobiano del aceite de *Origanum vulgare* L. frente a *Staphylococcus aureus*.

Los estudios a nivel internacional presentan de manera general mayor efecto antimicrobiano del aceite de orégano (*Origanum vulgare* L.) sobre *Staphylococcus aureus* y otros microorganismos, esto puede estar relacionado con la variedad de la planta y los distintos factores que influyen en la riqueza de nutrientes y metabolitos de esta. Por otro lado, los estudios a nivel nacional muestran resultados similares entre estos, como los que se presentan a continuación.

Medrano E. y Medrano D. (2021), determinaron la actividad antimicrobiana y efecto desinfectante del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. halos de inhibición obtenidos para *Staphylococcus aureus* de 8,0 mm, 8,0 mm, 9,3 mm y 14,7 mm, a las concentraciones de 20%, 40%, 80% y 100% resultados que se corroboran con nuestro estudio al ser similares a las mismas concentraciones.

Sánchez J. y Perez Y. (2021), realizaron el estudio sobre la actividad antimicótica del aceite esencial de la flor de *Origanum vulgare* "Orégano" y *Piper Aduncum* "Matico" frente *Candida albicans*. el aceite de orégano de 25.50mm, 29.78mm y 32.53mm; a pesar de no evaluar el estudio la actividad antibacteriana, también confirma el poder antibacteriano del aceite de *Origanum vulgare* "Orégano" en distintas partes de la planta.

Cabe precisar que en todos los estudios se ha demostrado la actividad antibacteriana del aceite de *Origanum vulgare* "Orégano", y los extractos de

diferentes partes de la planta frente a *Staphylococcus aureus* y otros microorganismos, lo que corrobora los resultados del estudio y demuestra el poder antimicrobiano de esta planta.

4.2 Conclusiones:

1. El aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) presentó actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a una concentración del 100 % con un halo de inhibición promedio de $14,91 \pm 0,55$ mm.
2. El aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) presentó actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a una concentración del 75 % con un halo de inhibición promedio de $11,16 \pm 0,36$ mm.
3. El aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) presentó actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a una concentración del 50 % con un halo de inhibición promedio de $11,16 \pm 0,36$ mm.

4.3 Recomendaciones

- Se recomienda a futuras investigaciones identificar y cuantificar los principios activos contenidos en diferentes partes de la planta, tanto del aceite como de sus extractos.
- Realizar estudios comparativos y de sinergismo del aceite de *Origanum vulgare* L. (orégano) con diferentes medicamentos y cepas microbiológicas
- Promover el uso del aceite de *Origanum vulgare* L. (orégano) en el tratamiento alternativo de ciertas enfermedades o como tratamiento complementario al farmacológico.

➤ REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kushal V, et al. Novel approaches for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Using nanoparticles to overcome multidrug resistance. [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359644620304281#:~:text=Table%203-,Drug%20Discovery%20Today,-Volume%2026%2C%20Issue.2021;26\(01\).](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1359644620304281#:~:text=Table%203-,Drug%20Discovery%20Today,-Volume%2026%2C%20Issue.2021;26(01).)
2. Vaca Córdova S, et al. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en el personal de salud de un Hospital de Especialidades en Quito-Ecuador. *Revista San Gregorio*. 2021; 01(45).
3. Suaréz Del Aguila J, et al. Antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* from nasal isolates in students from northern Peru. *Gaceta Médica Boliviana*. 2020; 43(01).
4. Carmona Torre F, del Pozo JL. Tratamiento de las infecciones por *Staphylococcus aureus*. [Online].; 2018. Acceso 30 de agosto de 2019. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030454121830026X>.
5. Yunlei Guo , et al. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2020; 10(107).
6. C. Tong SY, S. Davis J. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. [Online].; 2017. Acceso 13 de setiembre de 2021. Disponible en: <https://cmr.asm.org/content/cmr/28/3/603.full.pdf>.
7. Maguiña Vargas. *Acta Médica Peruana*. Infecciones nosocomiales. [Online].; 2016. Acceso 14 de setiembre de 2019. Disponible en: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:cAX3G0neqnUJ:www.scielo.org.pe/scielo.php%3Fscript%3Dsci_arttext%26pid%3DS1728-59172016000300001+&cd=6&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe.
8. OMS. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. [Online].; 2014. Acceso 13 de setiembre de 2021. Disponible en: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>.
9. Verástegui Albites S, et al. Bacteriemia por *Staphylococcus aureus* en el Hospital Cayetano Heredia entre junio 2017 - diciembre 2018. [Online].; 2019. Acceso 13 de setiembre de 2021. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12866/6373>.
10. Davila Bellodas , et al. Etiología, susceptibilidad antibiótica y detección de betalactamasas en bacterias aisladas de ITU en pacientes atendidos en el Centro Médico Salud y Vida, Chiclayo. *Revista Experiencia en Medicina - Hospital Regional Lambayeque*. 2018; 04(02).
11. Lakhundi , Zhang K. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina : caracterización molecular, evolución y epidemiología. *Clin Microbiol Rev*. 2018; 31(4).
12. Gordon YC Cheung , et al. Patogenicidad y virulencia de *Staphylococcus aureus*. *Virulencia*. 2021; 12(1).

13. Balasubramanian D, et al. Patogenia de Staphylococcus aureus en diversos entornos de hospedadores. Pathogens and disease. 2017; 75(1).
14. Picazo. Procedimientos en Microbiología Clínica. [Online]; 2000. Acceso 18 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>.
15. Alonso Gato , et al. Aceites esenciales como antimicrobianos en la protección de cultivos. Antibióticos (Basilea). 2021; 10(1).
16. Wińska K, et al. Los aceites esenciales como agentes antimicrobianos: ¿mito o alternativa real? Moléculas. 2019; 24(11).
17. Garrote Gutierrez VH. Efecto antifúngico – in vitro - del aceite esencial de Origanum vulgare (orégano) sobre Candida albicans ATCC 90028. [Tesis Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima 2019.
18. Aramrueang N, et al. Verduras de hoja. 2019th ed. Inc. E, editor. Cambridge MA; EE.UU: Academic press; 2019.
19. Stratakos A, et al. Aceites esenciales en la conservación, el sabor y la seguridad de los alimentos Inc. E, editor. Cambridge, MA, EE. UU: Academic press; 2016.
20. Abdul Aziz A, et al. Aceites esenciales: técnicas de extracción, potencial farmacéutico y terapéutico: una revisión. Curr Drug Metab. 2018; 19(13).
21. Morales. El orégano, un condimento tradicional. Ecosistemas. 1999; 165(37).
22. De Mastro , et al. Diversidad de aceites esenciales de poblaciones de Origanum vulgare L. del sur de Italia. Química de alimentos. 2017; 235(1-6).
23. de martino L, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from three chemotypes of Origanum vulgare L. ssp. hirtum (Link) letsvaart growing wild in Campania (Southern Italy). Molecules. 2009; 14(8).
24. Azizi A, et al. Correlations between genetic, morphological, and chemical diversities in a germplasm collection of the medicinal plant Origanum vulgare L. Chem Biodivers. 2012; 9(12).
25. Jan S, et al. Biological Efficacy of Essential Oils and Plant Extracts of Cultivated and Wild Ecotypes of Origanum vulgare L. Biomed Res Int. 2020; 2020:8751718.
26. Baranauskienė R, et al. Harvesting time influences the yield and oil composition of Origanum vulgare L. ssp. vulgare and ssp. hirtum. Industrial Crops and Products. 2013; 49(pag. 43-51).
27. Lukas B, et al. Essential oil diversity of European Origanum vulgare L. (Lamiaceae). Phytochemistry. 2015; 119(32-40).
28. Can Baser KH. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. Curr Pharm Des. 2008; 14(29).
29. Mehdi Sharifi Rad , et al. Phytochemical constituents, biological activities, and health-promoting effects of the genus Origanum. Phytother Res. 2020; 35(1).
30. Lombrea , et al. A Recent Insight Regarding the Phytochemistry and Bioactivity of Origanum vulgare L. Essential Oil. Int J Mol Sci. 2020; 21(24).
31. Herrera Calderon O, et al. Carvacrol: un enfoque in silico de un fármaco candidato en los receptores HER2, PI3K α , mTOR, hER- α , PR y EGFR en el

- cáncer de mama. Complemento basado en Evid Alternat Med. 2020; 2020: 8830665.
32. Coccimiglio , et al. Actividades antioxidantes, antibacterianas y citotóxicas del extracto etanólico de *Origanum vulgare* y sus principales constituyentes. *Medicina oxidativa y longevidad celular*. 2016; 2016.
 33. Cui H, et al. Mecanismo antibacteriano del aceite esencial de orégano. *Cultivos y productos industriales*. 2019; 139.
 34. Lopes Leuthier L, et al. Effect of *Origanum vulgare* L. essential oil and carvacrol on the growth of pathogenic bacteria in the oropharynx. *RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT*. 2021; 10(01).
 35. Pérez Delgado O. In vitro antibacterial activity of crude ethanolic extract from the leaves of *Origanum vulgare*, against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922. *Journal of the Selva Andina Research Society*. 2021; 12(01).
 36. Carrillo Valarezo B. Evaluación de la capacidad inhibitoria de mezcla de aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum*) y orégano (*Origanum vulgare*) en *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella typhimurium*. [Tesis Para Optar el Título de Ingeniero Químico]Universidad De Guayaquil, Ecuador 2020.
 37. Medrano Sucari J, Medrano Sucari J. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y EFECTO DESINFECTANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Origanum vulgare* L. (orégano) FRENTE A *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli*. [Tesis Para Optar el Título Profesional de Químico]Universidad María Auxiliadora, Lima 2021.
 38. Sánchez Chonate C. ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LA FLOR DE *Origanum vulgare* (ORÉGANO) Y *Piper Aduncum* (MATICO) FRENTE *Candida albicans*. [Tesis Para Optar el Título Profesional de Químico] Universidad María Auxiliadora, Lima 2021.
 39. Condori Cajchaya F. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum Majorana* y *Origanum Onites* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Arequipa-2019. [Tesis Para Optar el Título Profesional De Químico]Universidad Privada Autónoma del Sur, Arequipa 2021.
 40. Flores Hernández , et al. Producción y extracción de aceite de orégano (*Lippia graveolens* Kunth) bajo cultivo en la comarca lagunera. *Rev. Mex. Cien. For*. 2017; 2(3).
 41. (CNB), Centro Nacional de biotecnología. Guía Básica de Seguridad e Higiene en los laboratorios. [Online]; 2017. Acceso 20 de septiembre de 2021. Disponible en: https://www.cnb.csic.es/images/Julia2015/Services/Radiation_Protection_Biol_Safety/Guia%20basica%20de%20Seguridad%20e%20Higiene%20en%20los%20laboratorios.pdf.
 42. OMS. Manual de bioseguridad en el laboratorio. [Online]; 2005. Acceso 20 de septiembre de 2021. Disponible en: https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf.



➤ ANEXOS

Anexo A. Instrumento de recolección de datos

**“ ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In vitro* DEL ACEITE ESENCIAL DE
Origanum vulgare L. (ORÉGANO) SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC
25923”**

Número de placas	GRUPOS EXPERIMENTALES Concentración del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano)			GRUPOS CONTROL	
	100%	75%	50%	Control Negativo DMSO	Control positivo Ciprofloxacino
Placa N°01	14,87	13,02	11,04	6,04	28,04
Placa N°02	15,56	12,84	11,42	6,34	28,02
Placa N°03	15,09	13,52	11,68	5,96	27,66
Placa N°04	15,31	13,51	10,32	6,53	27,89
Placa N°05	15,11	13,16	11,41	6,08	27,55
Placa N°06	14,70	12,95	11,03	6,14	28,11
Placa N°07	14,54	13,40	11,12	5,99	28,26
Placa N°08	15,23	12,55	11,19	5,95	27,63
Placa N°09	15,07	13,24	11,07	6,10	27,36
Placa N°10	13,60	13,08	11,27	6,12	27,82

Anexo B. Matriz de consistencia

Autor (es): Bach. Lachos Pintado, Everly Yanira / Bach. Lopez Perez, Luis Alberto				
Tema: "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA <i>In vitro</i> DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Origanum vulgare</i> L. (ORÉGANO) SOBRE <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923"				
Problema general	Objetivo general	Hipótesis General	Variables y dimensiones	Metodología
¿Cuál será la actividad antibacteriana <i>In vitro</i> del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?	Demostrar la actividad antibacteriana <i>In vitro</i> del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923.	El aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) posee actividad antibacteriana <i>In vitro</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i> 25923.	<p>Variable Independiente (x) X: Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano)</p> <p>Indicadores:</p>	<p>Tipo de Investigación: Investigación de tipo cuantitativa, transversal prospectiva de diseño experimental.</p> <p>Población: Conformada por la especie vegetal de <i>Origanum vulgare</i> (orégano)</p> <p>Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>Muestra: Vegetal Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a concentraciones del 100%, 75% y 50%</p> <p>Biológica Cepas jóvenes de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC.</p> <p>Técnicas de recopilación de información: ficha de recolección de datos</p> <p>Técnicas de procesamiento de información: Pruebas de normalidad, ANOVA y TUKEY mediante el software estadístico SPSS ver. 26</p>
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específicas	<p>X1: Concentración del aceite esencial.</p> <p>Variable Dependiente (Y) Y: Actividad antibacteriana sobre <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Indicadores:</p> <p>Y1: Diámetro de los halos de inhibición.</p>	
<p>P.E.1 ¿Cuál será la actividad antibacteriana <i>In vitro</i> del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a una concentración del 100 % sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?</p> <p>P.E.2 ¿Cuál será la actividad antibacteriana <i>In vitro</i> del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a una concentración del 70 % sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923?</p> <p>P.E.3 ¿Cuál será la actividad antibacteriana <i>In vitro</i> del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a una concentración del 50 % sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC</p>	<p>O.E.1 Determinar la actividad antibacteriana <i>In vitro</i> del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a una concentración del 100 % sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>O.E.2 Determinar la actividad antibacteriana <i>In vitro</i> del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a una concentración del 70 % sobre <i>Staphylococcus aureus</i> A ATCC 25923.</p> <p>P.E.3 Determinar la actividad antibacteriana <i>In vitro</i> del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a una concentración del 50 % sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p>	<p>H.E.1 El aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a una concentración del 100 % actividad antibacteriana <i>In vitro</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>H.E.2 El aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a una concentración del 75 % posee actividad antibacteriana <i>In vitro</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>H.E.3 El aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) a una concentración del 50 % posee actividad antibacteriana <i>In vitro</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p>		

25923?				
--------	--	--	--	--

Anexo C. Operacionalización de las variables

○

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> (orégano)	Aceite extraído a partir de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> (orégano) por el método de arrastre de vapor de agua.	Concentración	100%	Porcentaje
			75%	
			50%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	UNIDAD DE MEDIDA
Actividad antibacteriana <i>In vitro</i> sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	Capacidad del aceite esencial de inhibir el crecimiento bacteriano	Halo de inhibición	Diámetro < 8mm 9 - 15mm (+) 15-20mm (++) >20mm (+++)	mm Nula Sensible Muy sensible Sumamente sensible

Anexo D. Identificación taxonómica de la especie vegetal

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "ORÉGANO" proporcionada por los Bachilleres, **EVERLY YANIRA LACHOS PINTADO** y **LUIS ALBERTO LOPEZ PEREZ**, tesis de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Origanum vulgare* L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Asteridae
Orden: Lamiales
Familia: Lamiaceae
Especie: *Origanum*
Especie: *Origanum vulgare* L.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 15 diciembre 2021


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton W. Beltrán Santiago
Fotógrafo - Botánico
C. 00 208

Anexo E. Certificado de análisis de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-407** Reference Number: ATCC® 25923™ Purity: Pure Passage from Reference: 3		Expiration Date: 2022/07/21 Release information: Quality Control Technologist: Keshia L. Negen Release Date: 2020/5/20
Performance Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters		Medium: SBAP smooth, Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.		Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p><small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="text-align: center;">  <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2015-02</small> </div> <div style="text-align: center;"> <small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div style="text-align: center;">  <small>TESTING CERT #2655-01</small> </div> <div style="text-align: center;"> <small>(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small> </div> </div>		

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Sample Description: 0360
 Sample ID: 360-407
 Sample Creation Date/Time: 2018-09-05T12:23:16.417 MLB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E12 (+++) (A)	360-407	Staphylococcus aureus	2.34

Comments:

N/A

Anexo F. Fotografías del trabajo de campo

Figura 2. Selección y Preparación de la muestra vegetal



Figura 3. Instalación del equipo de arrastre por vapor



Figura 4. Obtención del aceite esencial



Figura 5. Preparación de las concentraciones de trabajo del aceite esencial



Figura 6. Activación de la cepa de Staphylococcus



Figura: 7. Preparación del inóculo



Figura 8. Sembrado del inóculo en placas



Figura 9. Aplicación del aceite esencial frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Figura 10. Medición de halos de inhibición

