

## AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, José Grimaniel Vásquez Lescano, con DNI **40898009**, en mi condición de autor(a) de la tesis presentada para optar el Título Profesional de “Químico Farmacéutico”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO**<sup>1</sup> que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de **23 %** y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 14 días del mes de diciembre del año 2022.



José Grimaniel Vásquez Lescano  
40898009



Mg. La Serna La Rosa Pablo Antonio  
06121495

<sup>1</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

## AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Martínez Cotrina, Zully, con DNI 76479683 en mi condición de autor(a) de la tesis presentada para optar el Título Profesional de “Químico Farmacéutico”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO<sup>2</sup>** que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de **23 %** y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 14 días del mes de diciembre del año 2022.



---

Martínez Cotrina Zully  
76479683



---

Mg. La Serna La Rosa Pablo Antonio  
06121495

---

<sup>2</sup> Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

# ACCIÓN ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Origanum vulgare* L. (ORÉGANO)

## INFORME DE ORIGINALIDAD

22%

INDICE DE SIMILITUD

22%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

[repositorio.uroosevelt.edu.pe](http://repositorio.uroosevelt.edu.pe)

Fuente de Internet

12%

2

[repositorio.uma.edu.pe](http://repositorio.uma.edu.pe)

Fuente de Internet

4%

3

[repositorio.unc.edu.pe](http://repositorio.unc.edu.pe)

Fuente de Internet

3%

4

[hdl.handle.net](http://hdl.handle.net)

Fuente de Internet

2%

5

[repositorio.unsaac.edu.pe](http://repositorio.unsaac.edu.pe)

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo



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

**ACCIÓN ANTIBACTERIANA *IN VITRO* DEL ACEITE  
ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Origanum vulgare* L.  
(ORÉGANO) SOBRE *Escherichia coli* ATCC 25922**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

**AUTORES**

**Bach. MARTÍNEZ COTRINA, ZULLY**

<https://orcid.org/0000-0001-9875-9370>

**Bach. VÁSQUEZ LESCANO, JOSÉ GRIMANIEL**

<https://orcid.org/0000-0001-7075-8130>

**ASESOR**

**Mg. LA SERNA LA ROSA, PABLO ANTONIO**

<https://orcid.org/0000-0001-7065-012X>

**LIMA – PERÚ**

**2022**

## **DEDICATORIA**

Dedico el siguiente trabajo de investigación en primer lugar a Dios por permitirme llegar a esta etapa gozando de buena salud y brindarme una familia amorosa.

A mis queridos Padres, Julián Martínez y Lidia Cotrina por bríndame siempre su apoyo para lograr culminar esta meta trazada.

A mis hermanos, Rocío y Daniel por formar parte de ello.

A mi abuelita, Berbelina ya que sin su esfuerzo y motivación día a día, no lo hubiera logrado sola. Este trabajo de tesis es dedicado a todos ellos.

**Zully Martínez Cotrina.**

A Dios por la vida y la salud que me concede, Él es mi guía y fortaleza, su fidelidad y amor han estado conmigo hasta el día de hoy.

A mi familia que es la fuerza que me impulsa a conseguir mis objetivos.

A mi esposa Maura Karina mi compañera incondicional.

A mis hijas Alisson, Daniela y Rafaela que son la alegría de mi corazón.

A mi hijo José mi pequeño inventor y soñador.

Y a todas las personas que de alguna manera han aportado a que este proyecto sea una realidad.

**José Grimaniel Vásquez Lescano.**

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, agradecemos a la Universidad y todos los docentes que nos brindaron sus conocimientos a lo largo de la carrera y poder llegar hasta esta etapa.

Agradecemos a nuestro asesor de Tesis el Mg. Pablo Antonio La Serna La Rosa por su apoyo y paciencia para guiarnos en todo el desarrollo de la tesis.

Así mismo agradecemos al Sr. José Eulogio Flores, por darnos su autorización de poder obtener las muestras vegetales, necesarias para nuestro proyecto.

**Los autores**

# ÍNDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT .....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
2.1 Enfoque y diseño de investigación .....	16
2.2 Población, muestra y muestreo .....	16
2.3 Variables de investigación.....	17
2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos .....	17
2.5 Plan de recolección de datos.....	18
2.6. Métodos de análisis estadísticos .....	21
2.7 Aspectos éticos .....	21
III. RESULTADOS .....	22
IV. DISCUSIÓN.....	31
4.1. Discusión de Resultados .....	31
4.2. Conclusiones.....	33
4.3. Recomendaciones.....	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
ANEXOS .....	37

## ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Evaluación de la solubilidad del aceite esencial de las <i>Origanum vulgare</i> “orégano” frente a solventes polares y no polares	22
Tabla 2. Identificación de los metabolitos secundarios que presenten acción antibacteriana in vitro que contiene el aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano”	23
Tabla 3. Determinación la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” al 50%, 75% y 100% sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	25
Tabla 4. Análisis de la Distribución Normal Para Cada Grupo De Tratamientos	27
Tabla 5. Prueba homogeneidad de varianzas	28
Tabla 6. Determinar la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” al 50%, 75% y 100% sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 mediante el análisis de la varianza (ANOVA)	28
Tabla 7. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	29
Tabla 8. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd	30

## ÍNDICES DE FIGURAS

	Páginas
Figura: 1. Determinación la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" al 50%, 75% y 100% sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	26
Figura 2. Recolección del <i>Origanum vulgare</i> L.	46
Figura 3. Preparación de la muestra vegetal	47
Figura 4. Obtención del aceite esencial por destilación con arrastre de vapor	48
Figura 5. Marcha fitoquímica	48
Figura 6. Activación de la cepa ATCC	49
Figura 7. Preparación del cultivo bacteriano	49
Figura 8. Sembrado de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en placa Petri	50
Figura 9. Preparación de los pozos en agar	50
Figura 10. Aplicación del aceite de orégano en placas	51
Figura: 11. Incubación de las placas	51

## ÍNDICES DE ANEXOS

	Páginas
Anexo 1. Instrumento de recolección de datos	38
Anexo 2. Matriz de consistencia	39
Anexo 3. Operacionalización de las variables	40
Anexo 4. Carta de presentación Universidad María Auxiliadora – Fundo El Potrero	41
Anexo 5. Autorización para recolección de muestra – Fundo El Potrero	42
Anexo 6. Identificación botánica de la especie vegetal	43
Anexo 7. Certificado de calidad de la cepa microbiológica	44
Anexo 8. Fotografías del desarrollo experimental	46

## RESUMEN

**Objetivo:** Demostrar la acción antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. (ORÉGANO) sobre *Escherichia coli* ATCC 25922

**Metodología:** Corresponde al enfoque cuantitativo de la investigación con diseño experimental, prospectivo aplicado al método científico, la población vegetal estuvo conformada por *Origanum vulgare* "orégano" y la biológica por *Escherichia coli*, tomó 10 kilogramos de las hojas de la población vegetal y obtuvo el aceite esencial por medio de la técnica de destilación por arrastre con vapor, así mismo, se aplicó el método microbiológico de difusión en pozo para la determinación de la acción antibacteriana.

**Resultados:** Con respecto a la solubilidad al aceite de orégano se muestra afín a cloroformo y acetona siendo totalmente solubles en estos, la identificación de los metabolitos secundarios mostró presencia de aceites, grasas, triterpenos, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos; por otro lado, los halos de inhibición formados para el 50% de  $10,80 \pm 0,42\text{mm}$ , al 75% de  $13,03 \pm 0,48\text{mm}$ ; al 100% de  $16,22 \pm 0,51\text{mm}$ , control negativo empleado (DMS) obtuvo halo de inhibición de  $5,88 \pm 0,50\text{mm}$  y el control positivo obtuvo halo de  $29,49 \pm 0,42\text{mm}$ .

**Conclusiones:** El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. (ORÉGANO) a las concentraciones del 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, presentaron acción antibacteriana.

**Palabras clave:** Aceite esencial, *Origanum vulgare*, *Escherichia coli*, antibacteriana

## ABSTRACT

**Objective:** To demonstrate the in vitro antibacterial action of the essential oil of the leaves of *Origanum vulgare* L. (OREGANO) on *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Methodology:** Corresponds to the quantitative approach of the research with experimental, prospective design applied to the scientific method, the plant population was made up of *Origanum vulgare* "oregano" and the biological one by *Escherichia coli*, took 10 kilograms of the leaves of the plant population and obtained the essential oil by means of the steam distillation technique, likewise, the microbiological method of well diffusion was applied to determine the antibacterial action.

**Results:** Regarding the solubility to oregano oil, it is related to chloroform and acetone, being totally soluble in these, the identification of secondary metabolites showed the presence of oils, fats, triterpenes, flavonoids, phenolic compounds and tannins; on the other hand, the inhibition halos formed for 50% of  $10.80 \pm 0.42$ mm, at 75% of  $13.03 \pm 0.48$ mm; at 100% of  $16.22 \pm 0.51$ mm, the negative control used (DMS) obtained an inhibition halo of  $5.88 \pm 0.50$ mm and the positive control obtained a halo of  $29.49 \pm 0.42$ mm.

**Conclusions:** The essential oil of the leaves of *Origanum vulgare* L. (OREGANO) at concentrations of 50%, 75% and 100% on *Escherichia coli* ATCC 25922, presented antibacterial action.

**Keywords:** Essential oil, *Origanum vulgare*, *Escherichia coli*, antibacterial

## I. INTRODUCCIÓN

Los microorganismos son entidades que existen mucho antes que el hombre, entre ellos tenemos a las bacterias, virus, entre otros; el hombre vive rodeado de estos microorganismos y a pesar que la evolución ha logrado una existencia en simbiosis entre ambos, siempre se ha visto en riesgo la vida de las personas, evidenciando tasas de mortalidad elevadas debidos a los microorganismos <sup>1</sup>.

Entre los microorganismos más representativos que problemas ha traído al hombre ha sido la bacteria *Escherichia coli*, la cual vive en el intestino del hombre y en animales, sin producir enfermedad alguna salvo complicaciones en su reproducción o problemas inmunes por parte del hombre. Esta bacteria en el transcurso de la historia ha producido epidemias, altas tasas de mortabilidad y actualmente altos índices de resistencia bacteriana lo que ha complicado la forma de combatirla, siendo los actuales antibióticos cada día más ineficaces convirtiéndola en una bacteria peligrosa para el hombre sobre todo las intrahospitalarias<sup>2,3</sup>.

La Organización Mundial de la Salud, ha informado sobre las elevadas tasas de resistencia que están presentando ciertas bacterias, entre ellas *Escherichia coli*, la cual se contagia generalmente a través de los alimentos o por el contacto mano, boca, ano generalmente en los niños, los últimos reportes de esta institución revelan que en el mundo 1 persona de 10 han contraído una infección por esta bacteria a través de los alimentos en mal estado o contaminados, así mismo, las estadísticas revelan que 420,000 fallecen anualmente debido a contagios por esta bacteria. Por otro lado, en los Estado Unidos esta problemática causa además de 23000 defunciones, gastos en el sector Salud con cifras que superan los 35 millones de dólares<sup>4</sup>.

Por otro lado, en el Perú existen estudios realizados con respecto a las tasas de infección que produce esta bacteria encontrando cepas resistentes a diferentes drogas, entre ellas el ácido nalidíxico, ampicilina y sulfametoxazol, estos resultados se observan sobre todo en las zonas rurales de los sectores de Moyobamba y Urubamba. En Lambayeque también se ha observado cepas Gram negativas resistentes entre ellas *Escherichia coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* y *E. cloacae* demostrando resistencia a ampicilina, Cefalosporinas y Trimetoprim –

Sulfametoxazol<sup>5,6</sup>.

Como bases teóricas del presente estudio definiremos a *Origanum vulgare L.*, la cual es hierba perenne aromática de la familia *Lamiaceae*. Presenta un gran valor económico y medicinal. Muchos estudios han evidenciado que la esencia de *O. vulgare* destaca por su amplia gama de propiedades biológicas, mostrando propiedades antioxidantes, antibacterianas y citotóxicas. Sin embargo, debido a que los constituyentes fitoquímicos y la actividad biológica de las esencias aromáticas varían según las circunstancias asociadas con sus hábitos de crecimiento y ubicaciones geográficas, no se pueden generalizar y deben determinarse para cada aceite esencial individualmente<sup>7</sup>.

El orégano generalmente se cultiva como un arbusto pequeño en climas mesotérmicos o llamados también climas templados; sus hojas de forma oval se mantienen vivas durante todo el año y se ubican de manera opuesta a lo largo del tallo; el tallo joven es cuadrado y presenta vellosidades, pero al alcanzar su madurez adquiere una consistencia leñosa; sus flores son diminutas miden más o menos 1 cm y se agrupan en racimos, sus colores varían entre blanco, rosa y púrpura. Existen

muchas variedades de *Origanum vulgare*, las cuales se caracterizan por contener aceite esencial, en la cual destacan los bioactivos timol y carvacrol<sup>8-10</sup>.

Dentro de esta familia, el orégano (*Origanum vulgare*) es probablemente uno de los más utilizados como planta aromática, cuyos aceites esenciales son particularmente ricos en mono y sesquiterpenos. El aceite esencial de orégano ha demostrado poseer propiedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, actividades diaforéticas, carminativas, antiespasmódicas, analgésicas y antimicrobiana. Diferentes investigaciones evidenciaron que el aceite de orégano presenta propiedades antibacterianas, debido a sus principios activos, entre ellos se tenemos al carvacrol el cual presenta actividad antimicrobiana. En este contexto, y en vista de un posible uso del aceite de orégano como antimicrobiano, es importante considerar que el porcentaje de obtención de aceite y su composición son el resultado de diferentes factores, incluido el genotipo, el medio ambiente, entre otros<sup>11</sup>.

La clasificación taxonómica de *Origanum vulgare* L "Orégano" según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1981), es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Especie: **Origanum**

Especie: **Origanum vulgare** L.

Por otro lado, *Escherichia coli* es un bacilo gram-negativo de la familia Enterobacterias con un peso de 110 femtogramos (fg), es un huésped común de la microflora comensal intestinal del hombre y animales (mamíferos y aves), vive en el tracto digestivo y se adquiere durante las primeras horas o días después del parto, *Escherichia coli*, por lo tanto, constituye todo a lo largo de la vida del huésped una de las especies bacterianas dominantes de la flora aerobio Intestinal; es probablemente el organismo vivo más estudiado hasta la fecha, de hecho su descubrimiento y estudio lo convierten en un herramienta de elección para la ciencia

e investigación. La producción de publicaciones científicas que lo mencionan lo atestigua.<sup>12</sup>

Algunas cepas especializadas de *Escherichia coli* se asocian con patologías muy diversas tanto en humanos como en animales; como diarrea, gastroenteritis, infecciones del tracto urinario, meningitis, sepsis, etc. Mediante el uso de técnicas modernas de bioquímica, genética, biología molecular y el microbiología han identificado y analizado los mecanismos involucrados en la interacción de la *Escherichia coli* patógena con su huésped, a pesar de la diversidad de condiciones causadas por cepas patógenas de *Escherichia coli*, todas estas cepas utilizan un estrategia infección clásica, común a muchos otros patógenos, como la mayoría de los patógenos de la mucosa, las cepas de *E. coli* que producen diarrea y las infecciones extraintestinales utilizan una estrategia de infección, cuyos puntos clave son: colonización de las membranas mucosas, posiblemente invasión de células, multiplicación, escape de las defensas del anfitrión y daño al anfitrión<sup>13</sup>.

Dentro de este marco, se exponen los antecedentes de nivel internacional, que se vinculan con nuestras variables de estudio; Basurto M. y col., en el 2019, en su publicación puntualizaron en extraer in vitro la esencia aromática del *Origanum vulgare* con la finalidad de “evaluar su efecto antibacteriano sobre cepas ATCC de *Escherichia coli*”. Según el análisis realizado por los autores el mejor método para extracción en cuanto a rendimiento y pureza fue mediante maceración con etanol. Asimismo, se logró comprobar un efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* con una zona de inhibición de 23.7mm por parte del aceite al 100%<sup>14</sup>

De manera semejante, citamos a Araujo C., que, en el 2019, impuso como objetivo en su tesis experimental: determinar la “actividad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y del aceite de *Thymus vulgare* (tomillo) y su sinergismo juntos contra la bacteria *Salmonella typhymurium*”. De forma individual el aceite de orégano en la concentración del 0.06% y el tomillo al 0.12% inhibieron más del 90% a *S. typhymurium* y cuando juntaron ambos aceites el efecto apareció en 24 horas<sup>15</sup>.

Igualmente, Moreno P. y col., en su investigación del 2018, cuyo objetivo fue “evaluar la inhibición del crecimiento antimicrobiano de *Escherichia Coli*, aerobios mesófilos totales y mohos mediante la aplicación de un preparado farmacéutico antimicrobiano

formulado a base de esencia de orégano con proteína de suero de leche”. Al realizar varios ensayos con las diferentes concentraciones de la esencia de orégano se determinó que al 16.66% el aceite logra inhibir completamente los mohos y levaduras, pero la inhibición de *E. coli* y aerobios mesófilos totales se produjo a una concentración superior del 26.53%<sup>16</sup>.

De manera similar, a nivel nacional, Contreras S., en el 2017, presentó su estudio donde “evaluó el sinergismo del aceite de *Origanum vulgare* “orégano” en concentraciones del 50% y 75% más el principio activo ciprofloxacina sobre *Escherichia coli* ampicilino-resistente, a su vez, determinar su CMI del aceite de orégano. La CMI del aceite esencial de orégano fue a partir del 5%, con un halo medio de 11.7mm, además, se evaluó que sí existe un sinergismo del aceite con la ciprofloxacina, siendo mayor el efecto en la concentración del 75% de aceite de orégano más ciprofloxacina, el cual formó el halo más grande de 22.72mm<sup>17</sup>.

También, Deza R. y col., en el 2021, en su estudio tuvo por objetivo demostrar si existe “efecto antimicótico in vitro, mediante la elaboración de un preparado magistral “gel” formulado a base de aceite esencial de orégano frente a *Candida albicans*”. Se determinó que la CMI del aceite fue de 2.5%, por ello, los geles fueron preparados con el aceite a partir de concentraciones del 2.5% y 5% de la cual por medio de la técnica microbiológica de difusión se obtuvieron zonas de inhibición de 14.75mm y 22.45mm y el grupo control “clotrimazol” un halo de 22.45mm, demostrando que el gel a base de aceite de orégano si presenta efecto antimicótico sobre una cepa ATCC de *Candida albicans*, no obstante su efecto es menor comparado con el clotrimazol<sup>18</sup>.

Finalmente, Salazar R, Yerren M., en el 2021, evaluó la “propiedad antibacteriana del aceite esencial de *Melissa officinalis* (toronjil) y *Origanum vulgare* (orégano) frente a *Escherichia coli* ATCC”. La extracción del aceite de cada especie fue realizada por arrastre de vapor y se realizaron diluciones para obtener el aceite al 50% y 100%. El aceite logro evidenciar zonas de inhibición del aceite de orégano con una media de 11,68 y 15,28 al 50% y 100% del aceite, los grupos control negativo (DMS) obtuvieron halos de 6,1mm, por su parte el ciprofloxacino formó una zona inhibitoria de 30,35mm<sup>19</sup>.

Luego del análisis de los antecedentes se elabora el objetivo general: demostrar la

acción antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* L. (ORÉGANO) sobre *Escherichia coli* ATCC 25922

Se realiza también la hipótesis general del estudio, el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” tiene acción antibacteriana sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Enfoque y diseño de investigación

La presente tesis se basó en un enfoque cuantitativo, en ese sentido los datos recolectados presentaron valores o cantidades que sirvieron para desarrollar el análisis estadístico respectivo<sup>20</sup>.

El diseño de la investigación fue el experimental ya que existió influencia directa del investigador en las variables de experimentación<sup>21</sup>.

Además, el estudio es prospectivo porque los datos se recolectaron después del planteamiento del estudio y de corte transversal debido a que los datos fueron recolectados en un solo periodo de tiempo<sup>21</sup>.

### 2.2 Población, muestra y muestreo

**Población vegetal:** La población de estudio fue representada por 20 kg de *Origanum vulgare* "orégano" obtenida del Sector Alita Baja, Fundo el Sapote, del distrito de Salas, provincia y departamento de Lambayeque ubicado a 6.3076° de latitud Sur y 79.6733° de longitud Oeste, a una altura de 118,6 m.s.n.m.

**Población Biológica:** La población biológica estuvo conformada por la cepa de *Escherichia coli*

**Muestra vegetal:** La muestra por su parte comprendió 10 kg de hojas de la planta *Origanum vulgare* "orégano"

**Muestra Biológica:** Estuvo conformada por la cepa de *Escherichia coli*, específicamente ATCC 25922, la cual fue adquirida del laboratorio Gen Lab Perú.

El tipo de muestreo que se empleó fue el no probabilístico por conveniencia ya que el lugar de recolección fue seleccionado previamente por condiciones de acceso, facilidad y disponibilidad de la muestra.

#### **Criterios de inclusión:**

- Identificación taxonómica
- Muestra obtenida del lugar de recolección
- Muestra recolectada directamente de la planta

- Muestras frescas

#### **Criterios de exclusión:**

- Muestras contaminadas
- Muestras recolectadas del suelo
- Muestras secas y maltratadas.

### **2.3 Variables de investigación**

**Variable independiente:** Aceite esencial de *Origanum vulgare* "orégano".

**Definición conceptual:** Solución de consistencia oleosa que contiene los metabolitos secundarios de la planta<sup>22</sup>

**Definición operacional:** Destilación por arrastre con vapor y posterior decantación.

**Variable dependiente:** Acción antibacteriana in vitro sobre *Escherichia coli* ATCC 25922

**Definición conceptual:** Acción de una sustancia sobre un microorganismo que promueve o produce inhibición en su desarrollo<sup>23</sup>.

**Definición operacional:** Medida de los halos de inhibición mediante vernier digital y otro instrumento de medición.

### **2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos**

La técnica aplicada para evaluar el efecto antibacteriano fue la difusión en pozo, la que permitió determinar el efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 para lo cual se realizaron lecturas del tamaño del halo de inhibición<sup>24</sup>.

El instrumento empleado en la investigación fue el vernier digital y la ficha de registro de datos.

## **2.5 Plan de recolección de datos**

### **2.5.1. Obtención de la aceptación y preparación previa**

Se coordinó previamente al inicio de la recolección de la muestra con el propietario del terreno de cultivo donde se extrajo la muestra para solicitar los permisos respectivos.

Se recolectó una muestra completa de la especie vegetal en estudio, la que fue prensada con papel periódico y enviada al botánico para su identificación y emisión del certificado respectivo.

### **2.5.2. Recolección de la muestra vegetal**

La planta fue recolectada en temprano por la mañana en una cantidad suficiente para realizar los análisis, luego serán colocadas sobre papel Kraft y llevadas al laboratorio para iniciar su tratamiento.

Luego se retirarán las hojas de las ramas y seleccionará aquellas que estén de acuerdo a los criterios de inclusión y exclusión, las hojas seleccionadas fueron lavadas con agua potable.

### **2.5.3. Obtención del aceite esencial "orégano":**

Para la obtención del aceite esencial de orégano, se procedió en primero lugar al armado y acondicionamiento del equipo semi-industrial de destilación con la técnica de arrastre por vapor, colocando dentro del contenedor 10 litros de agua y en la parte superior (contenedor de la muestra), 500 gramos de hojas de *Origanum vulgare* "orégano", por cada ciclo de extracción, cada ciclo de extracción duro aproximadamente 5 horas hasta agotar la muestra, finalmente se selló la tapa herméticamente con las precintos de seguridad y colocó las líneas del refrigerante a las tomas de agua y desagüe.

A la salida del equipo se colocó una pera de decantación donde se recibió la mezcla de aceite y agua, la que se separó posteriormente mediante decantación, eliminando la fase acuosa hasta obtener todo del aceite.

Se emplearon en total 10 kilogramos de la muestra la que obtuvo un rendimiento aproximado de 1 ml de aceite esencial por kilogramos de muestra empleada.

#### **2.5.4 Marcha fitoquímica**

Para el desarrollo de la marcha fitoquímica se siguió el procedimiento propuesto por Matias, M. (2021)<sup>25</sup>, el cual se realizó para determinar los metabolitos presentes en la muestra, los cuales se realizaron de la siguiente manera:

**Alcaloides:** Se empleó la reacción de Dragendorff donde en un tubo de ensayo se agregó 1 ml del extracto y seguidamente se adicionó 1 ml de ácido clorhídrico en concentración del 1%, se llevó a calor directo por 2 minutos y luego se enfrió y agregó 3 gotas del reactivo de Dragendorff. Un precipitado naranja ladrillo indica una reacción positiva.

**Taninos y compuestos fenólicos:** Se agregaron 2 ml del extracto seguidamente 3 gotas del reactivo de cloruro férrico. La coloración rojo-vino evidencia la existencia de compuestos fenólicos, un color verde intenso demuestra la existencia de taninos pirocatecólicos, un color azul evidencia la existencia de taninos pirogaláctónicos.

**Saponinas:** Se colocó 1 ml del extracto y agregamos 10 ml de agua destilada, se agitó por 2 minutos, luego del cual se debe observar la presencia de espuma con 2 mm a más por más de 2 minutos, lo que indica la presencia de saponina.

**Flavonoides:** Se agregó 1 ml de la muestra en un tubo de ensayo y luego se agregó 1 ml de HCl cc, se llevó a calor directo por 10 minutos, y se dejó enfriar, luego se agregó 1 ml de agua destilada y 2 ml de alcohol amílico, la aparición de un color rojo a marrón en la fase amílica indica la presencia de flavonoides.

**Mucilago:** Una alícuota de 2ml del extracto se llevó a una temperatura de 0 a 5°C por un tiempo de 10 minutos, luego de los cuales se retiró y observó la presencia de una consistencia gelatinosa, que indicará la presencia de mucilago.

**Triterpenos y Esteroides:** Se empleó el método de Liebermann-Burchard, a una alícuota de 1 ml del extracto se agregará 0.5 ml de ácido acético glacial y luego 5 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado por la pared del tubo de ensayo sin agitar, la formación rápidamente de un color rosado-rojo que cambia azul o azul verdoso luego indica la presencia de estructuras esteroidales, la formación de un color rosado-rojo que cambia a verde intenso o verde oscuro indica la presencia de estructuras esteroidales.

#### **2.5.5. Activación del microorganismo:**

La reactivación de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 se realizó siguiendo los procedimientos recomendados por el proveedor de la cepa ATCC, para lo cual se reconstituyó la cepa liofilizada y realizó hisopados de la cepa en estrías en agar medio selectivo MacConkey en placa Petri.

Se llevaron a incubación a 35±0,5°C por 24 horas, luego de los cuales se retiraron las placas y verificaron el crecimiento bacteriano.

#### **2.5.6. Evaluación de la acción antibacteriana**

Se extrajeron dos a tres colonias de la placa reactivada con la cepa, y se disolvió en 10 ml de SSF, se realizaron diluciones sucesivas hasta obtener una turbidez parecida al patrón de 0.5 en la escala de Mc Farland, lo que constituye el inóculo bacteriano.

Se realizaron hisopados con el inóculo en agar Müller Hinton, en placas Petri, luego se perforó el agar con un sacabocado de 6 mm de diámetro construyendo 3 pozos en cada placa (12 placas), donde se colocó el aceite a diferentes concentraciones al 50%, 75% y 100%, en otras placas (12 placas) se perforaron dos pozos lo que sirvieron para colocar los controles negativo y positivo.

En cada grupo se colocó 30ul de la muestra y se llevó a incubación a  $35\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por 24 horas.

Se identificaron las zonas de inhibición formadas y midieron con un vernier digital.

## **2.6. Métodos de análisis estadísticos**

Los datos fueron procesados empleando tablas y datos del análisis microbiológico, así mismo, los datos recolectados fueron ser evaluados mediante pruebas de normalidad y de homogeneidad de varianzas para luego aplicarse la prueba de ANOVA y Tukey para la contrastación de la prueba de hipótesis.

## **2.7 Aspectos éticos**

La investigación estuvo guiada por principios éticos, por lo tanto, se cumplió el Principio de no Maleficencia, en ese sentido, se tomaron las medidas necesarias para evitar lastimar o dañar de manera irresponsablemente a los participantes o al medio ambiente con la eliminación de material contaminado, para lo cual se empleó equipos de protección personal necesarios y las muestras fueron eliminadas bajo protocolos de manejo de residuos sólidos biocontaminados<sup>26,27</sup>.

### III. RESULTADOS

#### CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS:

**H<sub>0</sub>:** El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” no es soluble frente a solventes no polares.

**H<sub>1</sub>:** El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” es soluble frente a solventes no polares

**Tabla 1.** Evaluación de la solubilidad del aceite esencial de las *Origanum vulgare* “orégano” frente a solventes polares y no polares

Prueba	Solvente	Solubilidad
1	Agua destilada	-
2	Metanol	+
3	Etanol	+
4	Ter-butanol	-
5	Acetona	+++
6	Cloroformo	+++
7	Dimetilsulfoxido	++
8	Hexano	++

Leyenda:

- ❖ (+++): totalmente soluble
- ❖ (++) : medianamente soluble
- ❖ (+): ligeramente soluble
- ❖ (-) : insoluble

#### Interpretación:

Se observa en la tabla 1, los resultados del análisis de solubilidad realizado al aceite esencial de las *Origanum vulgare* “orégano” en solventes polares y apolares, observándose que este es totalmente soluble al cloroformo y acetona, medianamente soluble al hexano y dimetilsulfoxido, es ligeramente soluble al metanol, etanol; insoluble al agua destilada y ter-butanol.

#### **Análisis:**

Del estudio de solubilidad frente a solventes polares y no polares, se evidencia que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” es soluble

generalmente a solventes no polares como acetona, cloroformo.

**Decisión:**

Rechazar la hipótesis H0 y aceptar la H1 que confirma que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” es soluble frente a solventes no polares

**CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS:**

**H<sub>0</sub>:** El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” no presenta metabolitos secundarios con acción antibacteriana sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

**H<sub>1</sub>:** El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” presenta metabolitos secundarios con acción antibacteriana sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

**Tabla 2. Identificación de los metabolitos secundarios que presenten acción antibacteriana in vitro que contiene el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano”**

Metabolitos Secundarios	Reactivos	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	-
Quinonas	Borntrager	-
Compuestos fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	+
Taninos		+
Mucílagos	Agua destilada	-
Flavonoides	Antocianidina	++
<u>Triterpenos</u> / Esteroides	Liebermann Burchard	++++
Aminoácidos	Ninhidrina	-
Aminoácidos azufrados	Acetato de plomo	-
Saponinas	Espuma	-
Aceite y grasas	Sudan III	++++

**Leyenda:**

Ausente (-)  
 Escaso (+)  
 Leve (++)

Moderado (+++)  
Abundante (++++)

En la tabla 2 se muestra el resultado de la marcha fitoquímica obtenida al exponer el aceite esencial de orégano a diferentes reactivos los cuales al reaccionar con los metabolitos muestran cambios de coloración, precipitado, turbidez, entre otros; se encontró presencia de abundante de aceites, grasas, triterpenos, también presencia leve de flavonoides, presencia escasa de compuestos fenólicos, taninos y ausencia de alcaloides, quinonas, mucilagos, aminoácidos y saponinas.

**Análisis:**

El estudio fitoquímico realizado permite confirmar por medio de las reacciones cualitativas la presencia de metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano, las cuales son estructuras con potencial actividad antibacteriana

**Decisión:**

Rechazar la hipótesis H0 y aceptar la H1 que confirma que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano presenta metabolitos secundarios con acción antibacteriana sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, in vitro.

## CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS:

**H<sub>0</sub>:** El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” al 50%, 75% y 100% no tienen acción antibacteriana in vitro sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

**H<sub>1</sub>:** El aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” al 50%, 75% y 100% tienen acción antibacteriana in vitro sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

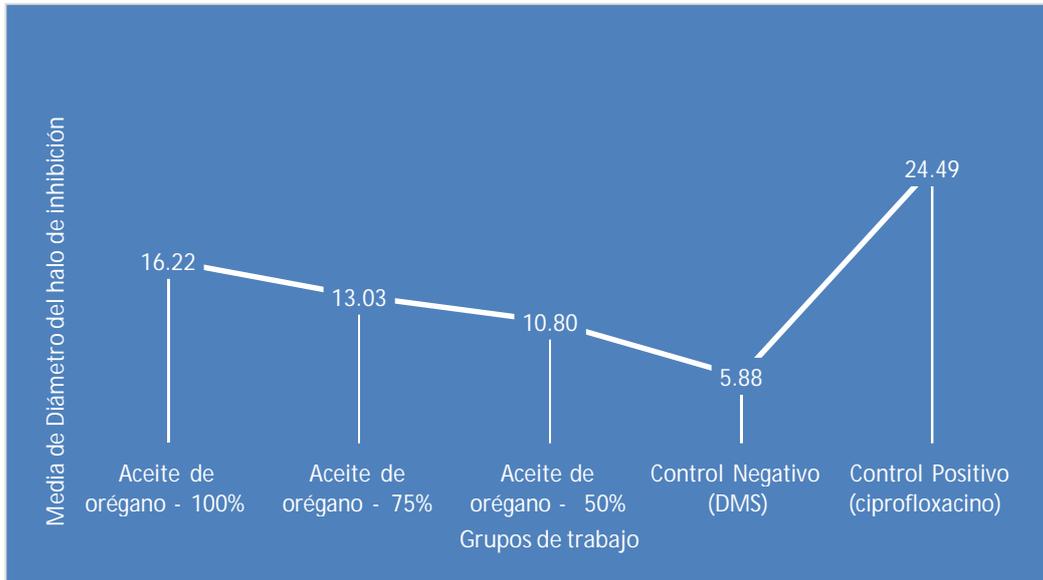
**Tabla 3. Determinación la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” al 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922**

Diámetro del halo de inhibición (mm)

	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Aceite de orégano - 100%	12	16,22	0,51	0,15	15,89	16,54	15,63	17,12
Aceite de orégano - 75%	12	13,03	0,48	0,14	12,72	13,34	12,49	14,23
Aceite de orégano - 50%	12	10,80	0,42	0,09	10,60	11,01	10,38	11,42
Control Negativo (DMS)	12	5,88	0,50	0,17	5,50	6,26	4,68	6,98
Control Positivo (ciprofloxacino)	12	24,49	0,42	0,09	24,29	24,70	23,89	24,96

En la tabla 2, se puede apreciar el análisis realizado a los datos del tamaño del halo de inhibición de cada grupo de análisis mediante el programa SPSS versión 26 para obtener los datos estadísticos como media, desviación estándar, los límites de confianza y valores máximo y mínimo encontrados de los valores promedio de los halos de inhibición obtenidos por el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” sobre cepas *Escherichia coli* ATCC 25922 al 50% el valor promedio del halo de inhibición fue de  $10,80 \pm 0,42$ mm, al 75% fue de  $13,03 \pm 0,48$ mm; al 100% fue de  $16,22 \pm 0,51$ mm; por otro lado, el control negativo empleado (DMS) obtuvo halo de inhibición de  $5,88 \pm 0,50$ mm y el control positivo obtuvo halo de  $29,49 \pm 0,42$ mm; demostrando efecto antibacteriano contra *Escherichia coli* ATCC 25922 por parte del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano”.

**Figura: 1. Determinación la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” al 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922**



En la figura 1 se ha hecho la representación gráfica de los promedios de los halos inhibitorios con su correspondiente rango de variación en relación a la media, asimismo, se observa la comparación de los diámetros de inhibición obtenidos por el aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y grupos control, pudiendo apreciarse un efecto inhibitorio superior contra *Escherichia coli* ATCC 25922 en concentraciones altas, del mismo modo, se confirman diferencias significativas entre los halos de inhibición de los grupos control con respecto a los grupos experimentales

**Análisis:**

De los resultados recolectados con respecto al halo de inhibición se puede deducir comparando los valores de los grupos experimentales con el grupo control negativo que existe un mayor tamaño, por lo tanto, se demuestra la acción antibacteriana sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 por parte del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano”

**Decisión:**

Rechazar la hipótesis H0 y aceptar la H1 que confirma que el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” al 50%, 75% y 100% tienen acción antibacteriana in vitro sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

**CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS DEL ESTUDIO:**

**H<sub>0</sub>:** La acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 no es mayor que el ciprofloxacino 500 mg.

**H<sub>1</sub>:** La acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 es mayor que el ciprofloxacino 500 mg.

**Tabla 4. Análisis de la Distribución Normal Para Cada Grupo De Tratamientos**

Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Aceite de orégano - 100%	0,910	12	0,212
Aceite de orégano - 75%	0,872	12	0,069
Aceite de orégano - 50%	0,955	12	0,714
Control Negativo (DMS)	0,978	12	0,972
Control Positivo (ciprofloxacino)	0,969	12	0,902

**Interpretación:**

Se muestra el análisis realizado las pruebas de Shapiro-Wilk para confirmar la distribución normal de los datos analizados, con un nivel de confianza del 95,00%, se observa que el nivel de significancia calculado en tabla supera el nivel de significancia de 0,05 establecido por el estudio, por lo tanto, se confirma que todos los grupos analizados presentan distribución normal

**Tabla 5. Prueba homogeneidad de varianzas**

Prueba de homogeneidad de varianzas		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Diámetro del halo de inhibición	Se basa en la media	1,447	4	55	0,231
	Se basa en la mediana	0,992	4	55	0,420
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,992	4	42,278	0,422
	Se basa en la media recortada	1,347	4	55	0,264

**Interpretación:**

Se muestra el análisis de la homogeneidad de las varianzas de los datos recolectados mediante el estadístico de Levene, se observa que los valores de significancia superan el nivel de significancia del estudio establecido por el estudio (0.05); por lo tanto, se confirma que existe homogeneidad en las varianzas de los grupos de análisis con respecto a la media de los datos.

**Tabla 6. Determinar la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” al 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante el análisis de la varianza (ANOVA)**

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	2304,828	4	576,207	2723,016	0,000
Dentro de grupos	11,638	55	0,212		
Total	2316,467	59			

**Interpretación:**

Se observa en la tabla 5, la prueba de ANOVA o análisis de la varianza aplicada a los grupos de los datos mediante el programa SPSS versión 26, luego del análisis se observa un p-valor obtenido menor al nivel de significancia del estudio; por lo tanto, la prueba nos confirma que existe diferencia estadísticamente significativa en al menos uno de los grupos de datos

**Tabla 7. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey**

**Diámetro de inhibición**

HSD Tukey <sup>a</sup>						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo (DMS)	12	5,88				
Aceite de orégano - 50%	12		10,80			
Aceite de orégano - 75%	12			13,03		
Aceite de orégano - 100%	12				16,22	
Control Positivo (ciprofloxacino)	12					24,49
Sig.		1,000	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 = 15,000.

**Interpretación:**

La tabla 6, muestra un análisis complementario a la prueba de ANOVA el cual se realizó mediante la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos, este análisis determinó diferencias estadísticamente significativas entre todos los grupos de los datos mostrando en la tabla según niveles el grado superior de estas según tamaño de halo de inhibición. Se observa que el control positivo (ciprofloxacino) obtuvo mayor efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*, seguido por las concentraciones al 100%, 75% y 50% del aceite esencial de orégano respectivamente y finalmente el control negativo se ubica en el nivel inferior sin efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*.

**Tabla 8. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd**

Tratamiento	Sensibilidad nula $\leq 8$ mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 15-20 mm	Altamente sensible $> 20$ mm
Control Negativo (DMS)	5,88			
Aceite de orégano - 50%		10,80		
Aceite de orégano - 75%		13,03		
Aceite de orégano - 100%			16,22	
Control Positivo (ciprofloxacino)				24,49

**Interpretación:**

En la tabla 7, se muestra la escala comparativa de Duraffourd mediante la cual se puede determinar la sensibilidad de *Escherichia coli* con respecto a los grupos de trabajo, se observa que esta bacteria es altamente sensible al control positivo (ciprofloxacino), Muy sensible al aceite de orégano al 100% y sensible al aceite de orégano al 75% y 50%, así mismo, presenta sensibilidad nula al control negativo.

**Análisis:**

De los resultados obtenidos por medio del análisis estadístico se demuestra la existencia de acción antibacteriana por parte del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” al 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, sin embargo, esta acción es inferior al grupo control estudiado (ciprofloxacino)

**Decisión:**

Rechazar la hipótesis H1 y aceptar la H0 que confirma que la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 no es mayor que el ciprofloxacino 500 mg.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusión de Resultados

Es reconocida la problemática que gira en torno a las infecciones producidas por *Escherichia coli*, las que están relacionadas con cepas resistentes y su facilidad para permanecer dentro del organismo de las personas, basados en esta problemática el presente estudio busco evaluar el efecto del aceite esencial del orégano, una planta medicinal ampliamente estudiada y de esta manera determinar su potencial aplicación en el tratamiento de las infecciones producidas por esta bacteria.

Los resultados obtenidos basados en los objetivos del estudio se muestran a continuación, así mismo, se comparan con los de otros autores con el objetivo de confrontar los resultados.

Como primer punto se obtuvo la solubilidad del aceite esencial de las *Origanum vulgare* "orégano" frente a diferentes solventes polares y no polares confirmando que este es totalmente soluble al cloroformo y acetona, lo que confirma su característica apolar que presentan los aceites.

En segundo lugar, se identificaron los metabolitos secundarios que presentan acción antibacteriana in vitro en el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* "orégano" mediante el estudio fitoquímico, evidenciando la presencia abundante de aceites, grasas, triterpenos, también presencia leve de flavonoides, presencia escasa de compuestos fenólicos y taninos. Diversos estudios atribuyen las propiedades antimicrobianas del aceite esencial a un tipo de terpeno y fenol como el timol y carvacrol respetivamente, por otro lado otros estudios confirman la presencia en el aceite de orégano de fenoles, taninos, terpenos y triperpenos.

En tercer lugar se determinó la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* "orégano" al 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante la valoración del tamaño del halo

de inhibición formados de estos aceites sobre cultivos in vitro de *Escherichia coli*, obteniendo halos de inhibición para el aceite al 50% de  $10,80 \pm 0,42\text{mm}$ , al 75% de  $13,03 \pm 0,48\text{mm}$ ; al 100% de  $16,22 \pm 0,51\text{mm}$ ; por otro lado, el control negativo empleado (DMS) obtuvo halo de inhibición de  $5,88 \pm 0,50\text{mm}$ . Se comparó el halo de inhibición formado con el control negativo, evidenciando una diferencia significativa con este último, lo que demuestra el efecto antibacteriano que presenta esta planta.

Los datos encontrados son respaldados por Basurto M. y col. (2019), quienes exponen resultados similares a los encontrados, al evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de orégano sobre cepas ATCC de *Escherichia coli*, obteniendo halo de inhibición de 23,7 mm a la concentración del 100%, por otro lado, Moreno P. y col. (2018), también evaluó la inhibición crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*, mediante la aplicación de un preparado farmacéutico a base de aceite de orégano, encontrando inhibición de esta bacteria a concentraciones superiores al 26.53% del aceite en la formulación. Así mismo, Salazar R, Yerren M (2021) evaluaron el aceite de orégano al 50% y 100% sobre *Escherichia coli* obteniendo halos de inhibición de 11,68mm y 15,28mm.

Por su parte, Contreras S. (2017), demostró que el aceite esencial puede potenciar el efecto antibacteriano del ciprofloxacino frente a *Escherichia coli* ampicilino-resistente demostrando halo de inhibición de 22,72 mm a la concentración del 75%. Por otro lado, Deza R. et al (2021) emplearon una formulación en gel a la que agregaron aceite esencial, mostrando efecto antimicótico contra *Candida albicans*, a las concentraciones de 2.5% y 5% con zonas de inhibición de 14.75mm y 22.45mm.

Finalmente se comparó la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* "orégano" sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 con ciprofloxacino mediante el análisis estadístico de los datos y aplicando pruebas estadísticas de ANOVA y Tukey, luego del análisis se demostró que el ciprofloxacino posee mayor efecto antibacteriano que el aceite de orégano.

## 4.2. Conclusiones

- El aceite esencial de las *Origanum vulgare* “orégano” presentó ser totalmente soluble al cloroformo y acetona por sus características lipofílicas.
- Los metabolitos secundarios identificados y que presentan acción antibacteriana in vitro en el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” están relacionados con triterpenos, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos.
- La acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” al 50%, 75% y 100% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 se evidenció mediante la formación de halos de inhibición del aceite al 50% de  $10,80 \pm 0,42\text{mm}$ , al 75% de  $13,03 \pm 0,48\text{mm}$ ; al 100% de  $16,22 \pm 0,51\text{mm}$
- Al comparar la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” sobre *Escherichia coli* ATCC 25922 con Ciprofloxacino mediante el análisis estadístico se demostró que la acción antibacteriana es mayor en el ciprofloxacino.

## 4.3. Recomendaciones

- Aprovechar las propiedades demostradas del aceite de orégano para implementar políticas de medicina alternativa en los hospitales.
- Incluir dentro de los protocolos de preparación de fórmulas magistrales el uso de aceites y plantas medicinales como *Origanum vulgare* “orégano” para el tratamiento de enfermedades leves.
- Identificar mediante técnicas analíticas la concentración y tipos de metabolitos del aceite esencial de *Origanum vulgare*.
- Implementar laboratorios de investigación en plantas medicinales en las universidades que permitan complementar los estudios iniciales.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rojas N, Chaves E, García F. Bacteriología diagnóstica. Universidad de Costa Rica. Costa Rica: Facultad de Microbiología; 2015.
2. Reyes S. Escherichia coli, Universidad Veracruzana. 2011;14.
3. Carbapenemasas en bacterias Gram negativas no fermentadoras aisladas en servicios críticos del Hospital Regional Lambayeque, diciembre 2014 - julio 2015. Vol. 33, Acta Médica Peruana. 2016. p. 183–8.
4. Rocha C, Reynolds ND, Simons MP. Resistencia emergente a los antibióticos: Una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. Acta Medica Peruana. 2017;139–45.
5. Alzamora MC, Echevarría AC, Ferraro VM, Riveros MD, Zambruni M, Ochoa TJ. Resistencia antimicrobiana de cepas comensales de Escherichia coli en niños de dos comunidades rurales peruanas. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2019 Sep 23;36(3):459.
6. Davila Bellodas KF, Cruz Silva RA, Moreno Mantilla MC, Amarildo F. 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 del Hospital Regional de Lambayeque. 2018;4(2):61–6.
7. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica. Plantas medicinales. 2da ed. Editorial Acribia, S.A.; 2010.
8. Tellez L, Nolazco D. Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp.) de Tacna Lena. Ingeniería industrial. 2017;35:195–205.
9. Fonnegra R. y Jimenez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Google Libros; 2007.
10. Bedoya C. et al. Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano

(*Origanum vulgare*) essential oil: in vitro study and application in Minas Padrão cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2018 Oct 1;49(4):929–35.

11. Falco E, Mancini E, Roscigno G, Mignola E, Taglialatela O, Senatore F. Chemical Composition and Biological Activity of Essential Oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *vulgare* L. under Different Growth Conditions. *Molecules*. 2016 Dec;18(12):14948.
12. Massachusetts A. *E. coli*. Boston Public Health Commission. 2019;2.
13. Neupane A, Parajuli P, Bastola R, Paudel A. Bacterial Etiology of Diarrhoeal Disease in Children and Antibigram of the Isolates. *Clinical Microbiology: Open Access*. 2017;06(02).
14. Basurto M., Quintero A. et al. Extracción de aceite esencial de *Origanum vulgare* y determinación del efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli*. *Mundo Recursivo*. 2019;2(9):15.
15. C. A. Efecto antimicrobiano de aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare*) y tomillo (*Thymus vulgare*) individuales y en combinación contra *Salmonella Typhimurium*. 2019.
16. Moreno P. y Ronquillo B. Evaluación de la inhibición del crecimiento de tres cultivos bacterianos mediante la aplicación de un gel antibacteriano formulado a base de aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) y proteína de suero de leche aislada. 2018. 2018.
17. R. C. “EFECTO SINERGICO IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Origanum vulgare* (ORÉGANO) CON CIPROFLOXACIONO FRENTE A *E. coli* AMPICILINO-RESISTENTE.” UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO; 2017.
18. Deza R. y Bustamante G. Actividad antimicótica de un gel formulado a base de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Candida albicans*. Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt. 2021.
19. Salazar R, Yerren M. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Melissa officinalis* (toronjil) y *Origanum vulgare* (orégano) frente a cepas de

Escherichia Coli [Internet]. Universidad Roosevelt; 2021. Available from: <https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/handle/ROOSEVELT/641>

20. Otero A. Criterios epistemológicos y metodológicos para la fundamentación de estudios sobre el desarrollo urbano regional en el Caribe Colombiano. In: Enfoques de Investigación. 2018.
21. Pavón P, Gogeoascoechea M. Metodología de la Investigación II. Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias de la Salud [Internet]. 2014 [cited 2022 May 16];44. Available from: <http://sapp.uv.mx/univirtual/especialidadesmedicas/mi2/modulo1/docs/Diseñosde...pdf>
22. Morales M. Laboratorio tecnología farmacéutica III. Lima, Peru; 2015.
23. Carballo M, Guelmes E. Algunas consideraciones acerca de las variables en las investigaciones que se desarrollan en educación. Revista Universidad y Sociedad. 2016;8(1):140–50.
24. Maye B, Miguel G. El antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer. Biomedica. 2018;35(1):103–9.
25. Matias M, Contreras N. Evaluación de la actividad antioxidante y fotoprotectora in vitro de la crema gel elaborada con extracto etanólico de los frutos de Vaccinium corymbosum L. (arándano) [Internet]. 2021. Available from: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/396>
26. Zurita S, Urcia F. Manual De Procedimientos Técnicos Para El Diagnóstico Micológico. 2017. 139 p.
27. Weldefort AA De, Fernández SEC. Manejo de Residuos Peligrosos/Biomédicos en los Laboratorios de Diagnóstico Universitarios. PAHO. 2016;

## **ANEXOS**

**Anexo 1. Instrumento de recolección de datos**

<b>ACCIÓN ANTIBACTERIANA <i>IN VITRO</i> DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE <i>Origanum vulgare</i> L. (ORÉGANO) SOBRE <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</b>					
<b>Número de placas</b>	<b>GRUPOS EXPERIMENTALES</b>			<b>GRUPOS CONTROL</b>	
	100%	75%	50%	Control Negativo (DMS)	Control positivo Ciprofloxacino
Placa N°01	16,41	12,87	10,98	6,98	24,83
Placa N°02	15,69	12,72	10,44	6,31	24,32
Placa N°03	15,74	13,30	10,63	6,29	23,89
Placa N°04	15,63	12,49	10,61	5,97	24,24
Placa N°05	16,47	12,93	11,42	5,94	24,58
Placa N°06	15,96	12,66	10,38	5,58	24,31
Placa N°07	17,12	12,61	11,21	5,31	24,70
Placa N°08	16,97	14,23	10,80	4,68	24,91
Placa N°09	16,72	13,22	10,46	5,55	24,54
Placa N°10	16,10	12,86	10,89	5,60	24,96
Placa N°11	15,97	12,94	10,85	6,42	24,18
Placa N°12	15,82	13,54	10,97	5,90	24,43

## Anexo 2. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Presentará acción antibacteriana in vitro el aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Demostrar la acción antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> L. (ORÉGANO) sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	el aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” tiene acción antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, in vitro
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Cuál será la solubilidad del aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” frente a solventes polares y no polares?	Evaluar la solubilidad del aceite esencial de las <i>Origanum vulgare</i> “orégano” frente a solventes polares y no polares	El aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” es soluble frente a solventes no polares
¿Qué metabolitos secundarios presentará el aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano”, que tengan acción antibacteriana in vitro sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Identificar los metabolitos secundarios que presenten acción antibacteriana in vitro que contiene el aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano”	El aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” presenta metabolitos secundarios con acción antibacteriana
¿Presentará acción antibacteriana in vitro el aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” al 50%, 75% y 100% sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Determinar la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” al 50%, 75% y 100% sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	El aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” al 50%, 75% y 100% tienen acción antibacteriana in vitro sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.
¿Presentará mayor acción antibacteriana el aceite esencial de las hojas <i>Origanum vulgare</i> “orégano” sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 comparado con Ciprofloxacino?	Comparar la acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 con Ciprofloxacino.	La acción antibacteriana del aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 es mayor que el ciprofloxacino.

### Anexo 3. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
Aceite esencial de las hojas de <i>Origanum vulgare</i> "orégano"	Sustancia que contiene principios activos de características lipofílicas con gran poder de acción	Obtención por medio de Destilación por arrastre con vapor	Concentración	Porcentaje	Razón	3	100 75 50
Acción antibacteriana sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Efecto inhibitorio en el crecimiento o reproducción de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Medición del halo de inhibición	Halo de inhibición	Diámetro	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm : (+++)

## Anexo 4. Carta de presentación Universidad María Auxiliadora – Fundo El Potrero



UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA

**"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"**

San Juan de Lurigancho 30 de mayo del 2022

**CARTA N°101-2022/ EPFYB-UMA**

Sr.  
**JOSE EULOGIO FLORES QUEVEDO**  
Propietario de Fundo EL POTRERO  
**Presente.** –

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo en nombre propio y de la Universidad María Auxiliadora, a quien represento en mi calidad de Director de la Escuela de Farmacia y Bioquímica.

Sirva la presente para pedir su autorización a que los bachilleres: VÁSQUEZ LESCANO, Jose Grimaniel, DNI 40898009 y MARTINEZ COTRINA, Zully DNI 76479683 puedan recopilar datos para su proyecto de tesis titulado: **"ACCIÓN ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Origanum vulgare* L. (ORÉGANO) SOBRE *Escherichia coli* ATCC 25922"**.

Sin otro particular, hago propicio la ocasión para expresarte los sentimientos de mi más alta consideración y estima.

Atentamente,

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Jhonel Samanego Joaquin  
Director de la Escuela Profesional de  
Farmacia y Bioquímica



Av. Canto Bello 431, San Juan de Lurigancho  
Tel: 389 1212  
[www.umaperu.edu.pe](http://www.umaperu.edu.pe)

**Anexo 5. Autorización para recolección de muestra – Fundo El Potrero**

**"AÑO DEL FORTALECIMIENTO DE LA SOBERANÍA NACIONAL"**

Chiclayo ,02 de junio del 2022

**SR:**

**DR. JHONNEL SAMANIEGO JUAQUIN**

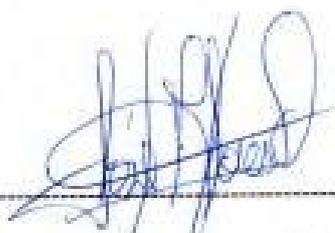
**DIRECTOR DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA BIOQUIMICA**

De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo y hacerle presente que los bachilleres: VASQUEZ LESCANO, José Grimaniel, DNI 40898009 Y MARTINEZ COTRINA, Zully DNI 76479683. Han obtenido el permiso para acceder a recolectar sus muestras, de nuestra propiedad en cantidades necesarias y utilizar nuestros datos abiertamente para su proyecto de tesis titulado: **"ACCION ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Origanum Vulgare* L (OREGANO) SOBRE *Escherichia Coli* ATCC 25922"**.

Sin otro particular, hago propicio la oportunidad para expresarle los sentimientos de mi más alta consideración.

Atentamente,

  
-----  
**JOSE EULOGIO FLORES QUEVEDO**  
Propietario de Fundo El Potrero  
DNI: 16534694

## Anexo 6. Identificación botánica 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 en Farmacia y Bioquímica, **Zully Martínez Cotrina** y **José Grimaniel Vásquez Lescano**, 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, 08 junio del 2022

  
Bigo. Hamilton Beltrán  
Hamilton Beltrán Santiago  
Físico - Botánico  
C. No. 2719

## Anexo 7. Certificado de calidad de la cepa microbiológica



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>Specifications</b>  <b>Microorganism Name:</b> Escherichia coli  <b>Catalog Number:</b> 0335  <b>Lot Number:</b> 335-506**  <b>Reference Number:</b> ATCC® 25922™*  <b>Purity:</b> Pure  <b>Passage from Reference:</b> 3</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2024/3/31 <b>Release Information:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Mary L. Bowman  <b>Release Date:</b> 2022/4/8</p>
<p style="text-align: center;"><b>Performance</b></p> <p><b>Macroscopic Features:</b>                  2 colony types, both are gray &amp; beta hemolytic: one is circular to irregular, convex, slightly erose edge &amp; smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge &amp; rough</p> <p><b>Microscopic Features:</b>                  Gram negative straight rod</p> <p><b>Medium:</b>                  SBAP</p> <p><b>Method:</b>                  Gram Stain (1)</p>	
<p><b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)</p> <p>See attached ID System results document.</p>	<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b>                  (1) Oxidase (Kovacs): negative                  Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive                  (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm                  (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm                  (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p> <p style="text-align: center;">                  Amanda Kuperus                  Quality Control Manager                  AUTHORIZED SIGNATURE</p>
<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 data-bbox="199 1489 422 1646">  <p>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</p> </div> <div data-bbox="391 1653 1396 1691"> <p><small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small></p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="199 1736 422 1892">  <p>TESTING CERT #2655.01</p> </div> <div data-bbox="470 1870 869 1892"> <p><small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small></p> </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)	<b>High consistency:</b> 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)	<b>Low consistency:</b> 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 genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	<b>No consistency:</b> The requirements for high or low consistency are not met.

Run Creation Date/Time:

2020-03-27T11:51:17.542 KLH

Applied MSP Library(ies):

BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C7 (+++) (A)	335-506	Escherichia coli	2.55

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

## Anexo 8. Fotografías del desarrollo experimental



Figura 2. Recolección del *Origanum vulgare* L.



**Figura 3. Preparación de la muestra vegetal**





Figura 4. Obtención del aceite esencial por destilación con arrastre de vapor

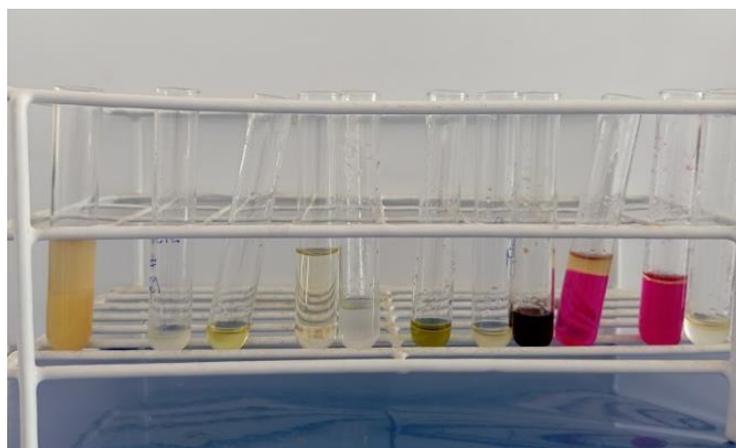
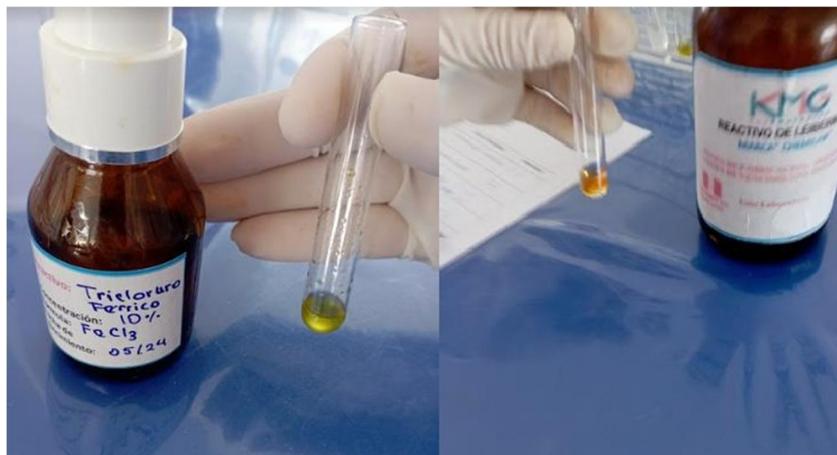
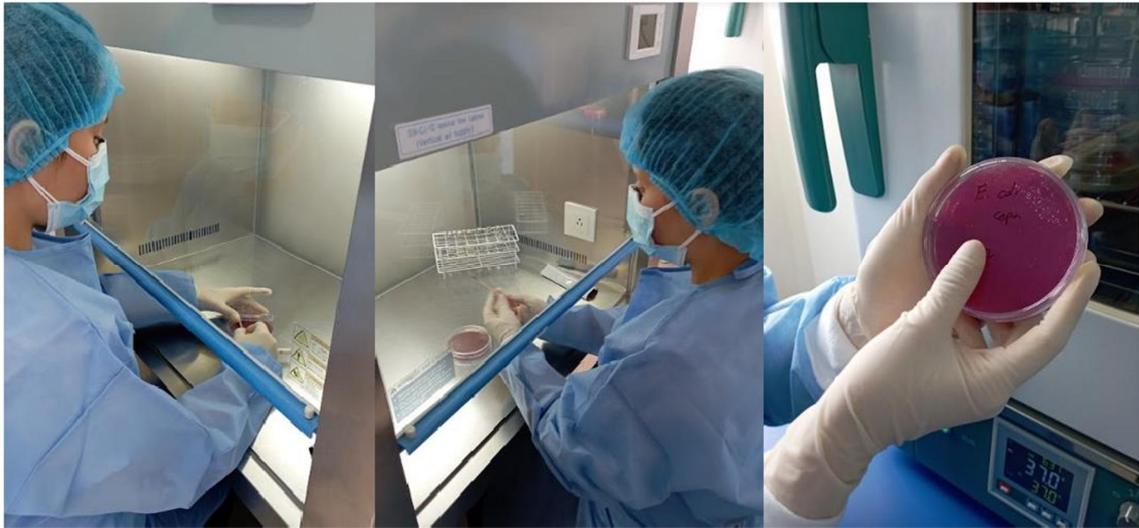


Figura 5. Marcha fitoquímica



**Figura 6. Activación de la cepa ATCC**



**Figura 7. Preparación del cultivo bacteriano**



Figura 8. Sembrado de *Escherichia coli* ATCC 25922 en placa Petri

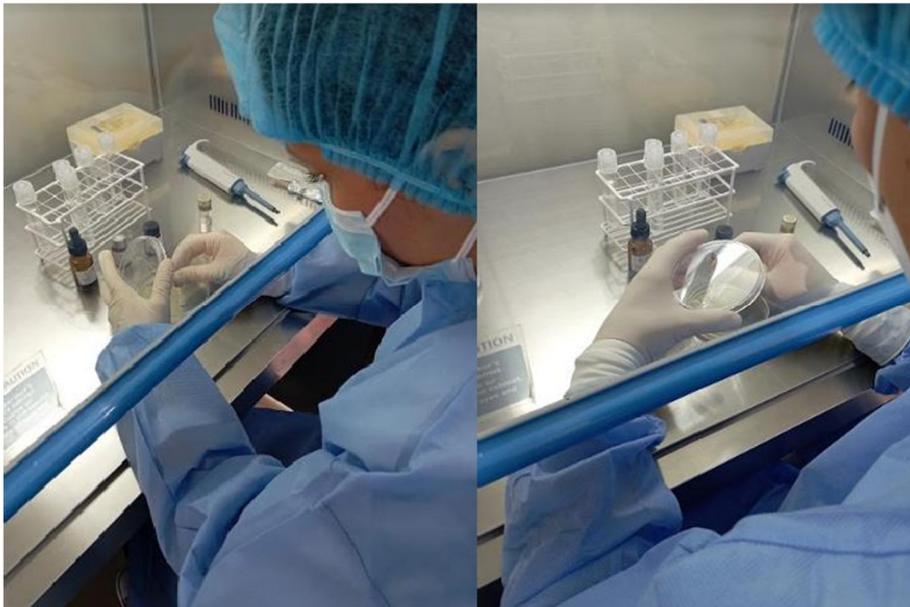
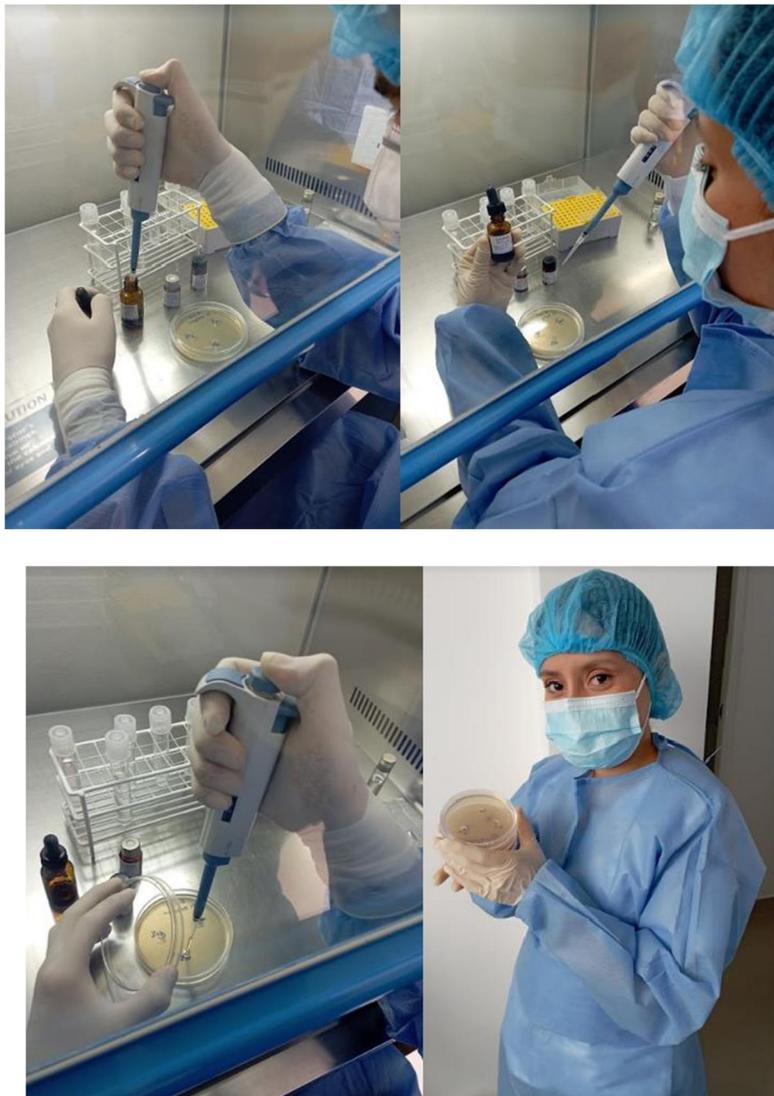


Figura 9. Preparación de los pozos en agar



**Figura 10. Aplicación del aceite de orégano en placas**



**Figura: 11. Incubación de las placas**