



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

**“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
FARMACEÚTICO**

AUTORES:

Bach. MEDRANO SUCARI, ERIKA JUDHIT
Bach. MEDRANO SUCARI, DANIEL JHONATAN

ASESOR:

Dr. SAMANIEGO JOAQUIN, JHONNEL

LIMA – PERÚ

2020

DEDICATORIA

La presente tesis se la dedico a Dios, por permitirme cumplir mis metas. A mis padres por formarme como persona y por todo el soporte que me brindaron.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a Dios por permitirme llegar a este momento y a mis padres por su orientación, apoyo y sus valiosos consejos.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
2.1 Enfoque y diseño de la investigación.....	14
2.2 Población, muestra y muestreo	14
2.3 Variables de la investigación	14
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	14
2.5 Proceso de recolección de datos.....	17
2.6 Método de análisis estadístico.....	18
RESULTADOS.....	19
DISCUSIÓN	24
4.1 Discusión de resultados.....	24
4.2 Conclusión	25
4.3 Recomendación.....	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
ANEXOS	32

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1 Clasificación Taxonómica <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano).....	10
TABLA N° 2 Organismos de desafío típicos.....	11
TABLA N° 3 Actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	19
TABLA N° 4 Actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	20
TABLA N° 5 Efecto desinfectante del aceite esencial del <i>Origanum vulgare</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538.....	21
TABLA N° 6 Efecto desinfectante del aceite esencial del <i>origanum vulgare</i> frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC8739.....	22
TABLA N° 7 Efecto desinfectante del aceite esencial del <i>origanum vulgare</i> frente a <i>Salmonella</i> ATCC14028.....	23

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1 Flujograma de destilación por arrastre con vapor.....	15
FIGURA N° 2 Flujograma de la determinación de la actividad antimicrobiana.....	16
FIGURA N° 3 Halos de inhibición de <i>staphylococcus aureus</i> ATCC25923.....	19
FIGURA N° 4 Halos de inhibición de <i>escherichia coli</i> ATCC25922.....	20
FIGURA N° 5 Estadística descriptiva y comparativa de la actividad antimicrobiana de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> frente a <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> ATCC25923 y <i>Escherichia coli</i> ATCC25922	21
FIGURA N° 6 Resultado del efecto desinfectante frente a <i>staphylococcus aureus</i>	22
FIGURA N° 7 Resultado del efecto desinfectante frente a <i>Escherichia coli</i>	22
FIGURA N° 8 Resultado del efecto desinfectante frente a <i>Salmonella</i>	23

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A.	Instrumentos de recolección de datos	32
ANEXO B.	Operacionalización de las variables	33
ANEXO C.	Evidencias de trabajo de campo	34

RESUMEN

El presente estudio de enfoque cuantitativo y diseño experimental tuvo como objetivo determinar la concentración del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) con actividad antimicrobiana y que presenta efecto desinfectante. Para extraer el aceite esencial se aplicó el método de arrastre por vapor de agua, se determinó la actividad antimicrobiana del aceite esencial a las concentraciones de 100%, 80%, 40% y 20% frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, midiendo los halos de inhibición resultantes de aplicar el método modificado de Kirby Bauer. Por último, se eligió la concentración del aceite esencial al 80% y se demostró el efecto desinfectante sobre superficies.

Los resultados promedio de la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* fueron 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. Los conteos obtenidos al determinar el efecto desinfectante en las superficies tratadas con desinfectante tanto para, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* fue de 0 UFC que se reporta <100 UFC/superficie muestreada y para *Salmonella* Ausencia/superficie muestreada. Concluyendo que tiene efecto antimicrobiano a concentraciones de 80% y 100% y puesto que presenta acción bactericida frente a las cepas de estudio se comprueba la acción desinfectante del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) al 80%.

Palabras claves: *Origanum vulgare*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* antimicrobiano, desinfectante.

ABSTRACT

The present study of quantitative approach and experimental design had as objective to determine the concentration of the essential oil of *Origanum vulgare* L. (oregano) with antimicrobial activity and that presents disinfectant effect. To extract the essential oil, the steam dragging method was applied, and the antimicrobial activity of the essential oil was determined at concentrations of 100%, 80%, 40% and 20% against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, measuring the inhibition halos resulting from the application of Kirby Bauer's modified method. Finally, an essential oil concentration of 80% was chosen and the disinfecting effect on surfaces was demonstrated.

The average results of antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* were 8.0 mm, 8.0 mm, 9.3 mm and 14.7 mm, for *Escherichia coli* it was 8.0 mm, 9.3 mm, 15.7 mm and 12.0 mm at the concentrations of 20%, 40%, 80% and 100% respectively for each strain. The counts obtained when determining the disinfectant effect on the surfaces treated with disinfectant both for, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* was 0 CFU which is reported <100 CFU/sampled surface and for *Salmonella* Absence/sampled surface. Concluding that it has an antimicrobial effect at concentrations of 80% and 100% and since it presents bactericidal action against the strains of study, the disinfectant action of the essential oil of *Origanum vulgare* L. (oregano) at 80% is verified.

Keywords: Essential oil, *Origanum vulgare* L., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* antimicrobial, disinfectant.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas de salud pública son las Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETA), afectando y provocando enfermedades cada año a una de cada diez personas ⁽¹⁾. Según el estudio realizado por el Seguro Integral de Salud SIS en el 2017, la diarrea y gastroenteritis son la décima enfermedad con mayor incidencia ⁽²⁾. La Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) identificó 34 cepas de *Staphylococcus aureus* relacionadas a brotes de intoxicación alimentaria y el Instituto Nacional de Salud INS tipificó 379 cepas de *Salmonella* asociado a ETA ⁽³⁾. Es por ello, que existe una gran variedad de desinfectantes usados en la industria alimentaria, los que deben cumplir con dos propósitos fundamentales: prevenir las ETA y la alteración de los alimentos, además no deben generar residuos tóxicos ni interaccionar con compuestos orgánicos, que afectarían la salud del consumidor e incluso alterar la composición, sabor y olor de los alimentos ⁽⁴⁾. La contaminación de los alimentos puede producirse en cualquier etapa del proceso que va desde la producción, manipulación, procesamiento hasta su consumo, una de las causas es el contacto directo con superficies contaminadas ^(4, 5).

En consecuencia, se buscan alternativas naturales que tengan el mismo efecto desinfectante, pero con menores desventajas respecto a los compuestos químicos, visto de esta manera el Perú cuenta con una gran diversidad de recursos naturales, siendo el *Origanum vulgare* L. (orégano) uno de ellos, esta especia aromática es uno de los principales cultivos orientados a la exportación por su alta producción a nivel nacional ^(6, 7). Existen cuantiosos estudios en los cuales se ha demostrado el efecto bactericida del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano), frente a diferentes bacterias Gram positivas y Gram negativas, algunas relacionadas con las ETA.

Todo lo antes mencionado, motiva a evaluar la concentración del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano), que presente actividad antimicrobiana y efecto desinfectante frente a bacterias relacionadas a ETA en la industria alimentaria a fin de probar las bondades de un producto natural y presentar una alternativa, contrario a los desinfectantes químicos utilizados en la actualidad.

El problema general a responder es: ¿Cuál es la concentración del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) con actividad antimicrobiana y que presente efecto desinfectante frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*?

Los problemas específicos son: ¿Cuál es la concentración del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) que presentará actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*? y ¿Presentará efecto desinfectante el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*?

***Origanum vulgare* L. (orégano)**

Es una especie muy popular, en latinoamérica crece en Brasil, Chile, Argentina y Perú (Moquegua, Arequipa y Tacna) ⁽⁸⁾. Su nombre común proviene del griego “oros” (montaña) y “ganos” (ornamento), posee compuestos fenólicos monoterpenos como el carvacrol y timol ^(9, 10). El rendimiento del aceite esencial varía de acuerdo al ecotipo y altitud a la que se cultiva; y a las diferentes etapas fenológicas a la que son cosechadas ^(11, 12, 13). Posee diversas actividades como antioxidante, insecticida, efecto antimicrobiano, etc. ⁽¹⁴⁾

Tabla N° 1

Clasificación Taxonómica *Origanum vulgare* L. (orégano)

División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Asteridae
Orden:	Lamiales
Familia:	Lamiaceae
Género:	<i>Origanum</i>
Especie:	<i>Origanum vulgare</i> L.

Fuente: Herbario San Marcos del Museo de historia Natural de la Universidad San Marcos.

Las pruebas para evaluar la acción biológica (actividad antimicrobiana) de compuestos de plantas o sus componentes puros está basada en las utilizados para evaluar la susceptibilidad y/o resistencia a antibióticos, siendo el método cualitativo de difusión en disco Kirby-Bauer el recomendado ⁽¹⁵⁾, que refleja la capacidad del compuesto para inhibir el crecimiento de una bacteria ⁽¹⁶⁾.

Los desinfectantes son agentes químicos que al aplicarse sobre una superficie elimina las formas vegetativas de microorganismos nocivos ⁽¹⁷⁾. Hay diversas pruebas de desafío para evaluar su eficacia en la farmacopea y la AOAC (International Official Methods of Analysis) ^(18,19). La DIGESA según RM N°461-2007/MINSA elaboró una Guía Técnica estandariza con los procedimientos para la selección, toma de muestras y los criterios microbiológicos para superficies irregulares, se enumeran las UFC (Unidades Formadoras de Colonias) e interpretan los resultados ^(20, 21).

Tabla N° 2

Organismos de desafío típicos

Organismos de desafío AOAC	Aislamientos Ambientales Típicos
Bactericida: <i>Escherichia coli</i> , ATCC 11229, <i>Staphylococcus aureus</i> , ATCC 6538, <i>Pseudomona aeruginosa</i> , ATCC 15442.	Bactericida: <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Coynebacterium jeikeium</i> , <i>P. vesicularis</i> .
Fungicida: <i>Candida albicans</i> , ATCC 10231, <i>Penicillium chrysogenum</i> , ATCC 11709; <i>A. brasiliensis</i> , ATCC 16404.	Fungicida: <i>P. chrysogenum</i> , <i>A. brasiliensis</i> .
Esporicida: <i>Bacillus subtilis</i> , ATCC 19659.	Esporicida: <i>Bacillus sphaericus</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> .

Fuente: The United States pharmacopeia, USP 41 NF36.

López E. (2018), tuvo como objetivo demostrar el efecto antimicrobiano del aceite del *Origanum vulgare* L. sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, determinó la Concentración Mínima Bactericida CMB, Concentración Mínima Inhibitoria CMI, finalmente determinó la sensibilidad bacteriana. Concluyó que el aceite esencial de orégano es más efectivo sobre *Staphylococcus aureus* que sobre *Escherichia coli* e inhibe el crecimiento de ambos ⁽²²⁾.

Castillo P. (2017), evaluó la capacidad antimicrobiana del uso combinado de los aceites esenciales de orégano y ajo en hamburguesas de carne vacuna refrigerada, frente a 9 cepas bacterianas alterantes y patógenas (*E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, etc.) y 2 cepas de hongos. Demostró que la mezcla de aceites tiene efecto antimicrobiano frente a 8 bacterias, concluyó que su uso combinado permite aumentar la vida útil de las hamburguesas ⁽²³⁾.

Carhuas R. (2017), Investigó el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de *Menta piperita* (menta), *Origanum vulgare* (Orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierbaluisa), sobre *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. Concluyó que todos los aceites esenciales mostraban halo de inhibición frente a las cepas evaluadas, pero la esencia de orégano fue la que mostró mayor efecto antimicrobiano sobre *Streptococcus mutans* ⁽²⁴⁾.

Araujo F. (2016), determinó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre los coliformes y mesófilos en carne de hamburguesas preparadas artesanalmente, concluyó que no tiene efecto antimicrobiano sobre coliformes totales, pero sí sobre mesófilos a concentraciones mayores al 75% ⁽²⁵⁾.

Sánchez R.; Silva M.; Jiménez R.; Zea O. (2015), la investigación determinó el efecto de los desinfectantes químicos y extractos de plantas, concluyendo que reducen los recuentos promedio de bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli* y coliformes totales en carcasas de cuyes (*Cavia porcellus*) ⁽²⁶⁾.

Morillas I. (2015), estudio experimental, el autor comparó el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite de *Origanum vulgare* (orégano) frente a *Salmonella typhi*, En conclusión, demostró su eficacia bactericida desde una concentración del aceite esencial al 25 % ⁽²⁷⁾.

Las ETA afectan cada año a gran parte de la población mundial ⁽¹⁾, por lo que se implementan sistemas de prevención para garantizar la inocuidad en la industria alimentaria, siendo uno de ellos la adecuada limpieza y sanitización de ambientes y superficies en contacto directo con alimentos, por consiguiente se utilizan una gran variedad de compuestos químicos para su desinfección, no obstante estos productos tienen desventajas, es por ello que se dirige los estudios a la búsqueda constante de alternativas naturales que desempeñen la misma función, que a su vez presenten beneficios para la salud y el medio ambiente ^(4, 5). Siendo los fenoles catalogados como desinfectantes de uso general pues son eficaces frente a hongos, levaduras, algunos tipos de virus y bacterias, asimismo tienen una solubilidad relativamente baja y tienden a dejar residuos sobre las superficies ⁽¹⁷⁾. En la actualidad se ha demostrado la propiedad bactericida del aceite esencial de

Origanum vulgare L. (orégano) atribuidos a compuestos fenólicos como el timol y carvacrol ⁽⁸⁾. Por lo expuesto, la investigación pretende demostrar el potencial del aceite esencial de oregano como desinfectante y su posible aplicación en el proceso de sanitización, aportando al conocimiento en el ámbito científico acerca de las propiedades del producto natural objeto de estudio y representando un punto de partida para ampliar el conocimiento y fomentar una mayor investigación sobre nuevas aplicaciones.

Por lo antes expuesto el objetivo principal de la presente investigación es determinar la concentración del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) con actividad antimicrobiana y que presente efecto desinfectante frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, por lo tanto, se tienen los siguientes objetivos secundarios:

Determinar la concentración del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) con actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y el efecto desinfectante del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*

La hipótesis general afirma que el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) a diferentes concentraciones presentará actividad antimicrobiana y efecto desinfectante frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Las hipótesis específicas afirman que la concentración del aceite esencial *Origanum vulgare* L. (orégano) influirá en la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y que el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) presentará efecto desinfectante frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de la investigación

La presente investigación es de enfoque cuantitativo porque se estableció la relación entre las variable dependiente e independiente en base al análisis y medición de los datos obtenidos, de diseño experimental ya que se manipulará la variable independiente, que es la concentración del aceite esencial de *Origanum vulgare* L (orégano) y se pretende explicar la influencia de la concentración del aceite esencial sobre su actividad antimicrobiana y efecto desinfectante ⁽²⁸⁾.

2.2 Población, muestra y muestreo

La población es *Origanum vulgare* L. (orégano) fresco (tallo y hojas sin raíz), el que se recolectó del departamento de Arequipa, provincia de Caylloma del distrito de Huambo a una altitud de 3308 m.s.n.m. La muestra que se utilizará son 20 kg de *Origanum vulgare* L. (orégano) obtenido del recurso vegetal recolectado en el departamento de Arequipa, en la provincia de Caylloma del distrito de Huambo a una altitud de 3308 m.s.n.m. En el muestreo se incluyeron las hojas y tallo de orégano sin raíz de color verde, sin presencia de hojas marchitas. Depurando o excluyendo las plantas en estado inmaduro, hojas y tallo dañados.

2.3 Variables de la investigación

Se considera que la concentración es la variable independiente puesto que influye en la capacidad antimicrobiana y efecto desinfectante y como variable dependiente la actividad antimicrobiana y efecto desinfectante.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Las técnicas que se aplicarán para ejecutar la tesis, se describen a continuación:

Destilación por arrastre de vapor: Técnica basada en ley de Dalton sobre presiones parciales de dos compuestos líquidos inmiscibles entre sí, en el cual uno es más volátil que el otro, condensando el componente volátil se genera una fase inmiscible, usada para separar sustancias insolubles en agua y ligeramente volátiles de otras no volátiles que se encuentran en la mezcla, técnica empleada con periodicidad, se aplicará para la obtención del aceite esencial *Origanum*

vulgare L. (orégano), se describe el procedimiento en el siguiente flujograma (29, 30).

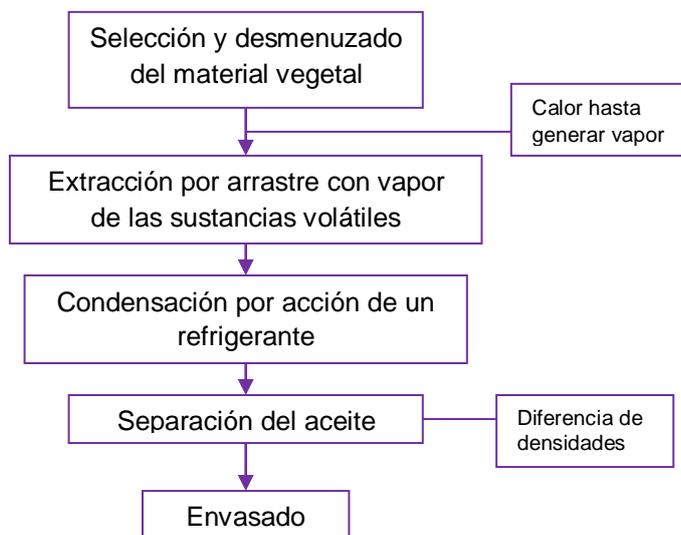


Figura N° 1 Flujograma de destilación por arrastre con vapor.

Fuente: elaboración propia.

Método de difusión de agar Kirby Bauer: Esta prueba estandarizada se emplea para determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial *Origanum vulgare* L. (orégano) a diferentes concentraciones frente a bacterias patógenas. Se emplea agar Plate Count, preparado acorde a las instrucciones del proveedor, para la preparación del inóculo, se seleccionan 4 o 5 colonias del microorganismo de estudio, provenientes de un cultivo puro o del obtenido por aislamiento primario del microorganismo, no se debe usar colonias de más de 24 horas. Se transfieren las colonias a un tubo que contenga caldo estéril de Trypticase-soya, incubarlo a 35°C por 2 a 8 horas aproximadamente hasta que se produzca un crecimiento moderado. Diluir el cultivo con solución salina estéril y obtener una turbidez equivalente a 0.5 de la escala McFarland (se prepara añadiendo 0.5 mL de BaCl₂ · 2H₂O (1.175%) a 99.5 mL de H₂SO₄ 0.36N (1%)). La siembra del cultivo diluido se hace por difusión sobre la superficie del medio, deja secar durante 5 a 20 minutos, luego colocar los discos impregnados con el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) a diferentes concentraciones sobre la superficie de agar con ayuda de pinzas estériles, incubar a 35°C por 24 horas y proceder con la lectura midiendo los halos de inhibición de cada disco, se mide con una regla el diámetro de la zona incluyendo los 6 mm del disco (15, 16, 31).

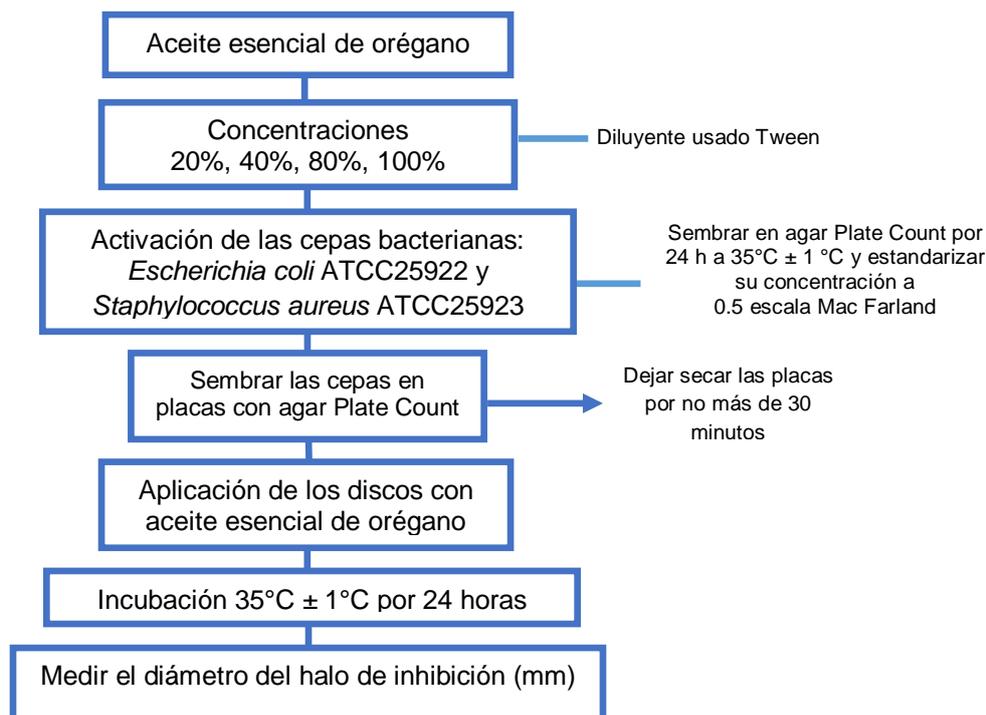


Figura N° 2 Flujograma de la determinación de la actividad antimicrobiana.

Fuente: Elaboración propia.

Prueba de desafío en superficie: Se realizará la prueba de desafío usando tres microorganismos estándares a una dilución conocida; *Escherichia coli* ATCC8739, *Staphylococcus aureus* ATCC6538 y *Salmonella sp.* ATCC14028, con los que se contaminarán las superficies inertes elegidas (cuchara, tenedor y cuchillo), se aplicará como desinfectante el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) a la concentración elegida, sobre las superficies inertes durante 15 minutos, se seleccionó el método de muestreo por enjuague y se realizaran las pruebas microbiológicas por método de AOAC para *Escherichia coli* ATCC8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC6538 y recuento en placa (ICMSF) para *Salmonella sp.* ATCC14028, se determinará la reducción logarítmica de los microorganismos de desafío para evaluar el efecto desinfectante del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) al 80% sobre superficies ^(17, 18, 19, 20, 21). A continuación, se detalla el proceso:

Activación de cepas: del cultivo refrigerado repicar a un tubo conteniendo 10 mL de caldo Tripticasa de Soya e incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, transferir 0.1 mL del microorganismo reactivado a una placa que contenga agar Tripticasa Soya y distribuir el inóculo con ayuda de una asa de Drigalsky; luego incubar a $37^{\circ}\text{C} \pm$

2°C por 24 horas, resuspender las colonias formadas en la placa con la ayuda de un asa de Cohle adicionando 5 mL de solución salina 0.9%, transferirlo a un tubo estéril y adicionar 5 mL de solución salina 0.9% ; transferir 0.1 mL en un segundo tubo que contenga solución salina 0.9% y realizar diluciones sucesivas agregando 1 mL a tubos que contengan 9mL de buffer fosfato PH 7.2 .

Contaminación de las superficies con diferentes concentraciones de cepas para determinar a qué concentración se recupera una cantidad de UFC contables, ya que las superficies son irregulares y varían en tamaño; en base a ello se eligió para *Salmonella* y *Escherichia coli* la concentración 1×10^6 UFC/mL y para *Staphylococcus aureus* 1×10^5 UFC/mL. Se contaminan las superficies colocando 10 mL de la cepa bacteriana a la concentración elegida en una bolsa y sumergir en ella las muestras (cuchara y tenedor de acero) por un tiempo de 60 segundos en todos los casos. Se secarán las superficies contaminadas a ambiente por 2 minutos, luego se separarán las muestras, se elegirá 01 muestra (M1) como Blanco o inicial que mediante el método de enjuague (sumergir la muestra en 100 ML de agua peptonada) de la cual se toma 1mL y se siembra en placa petrifilm o placas petri para cuantificar los microorganismos viables contados en UFC/superficies. El resto de muestras es tratado con aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) a la concentración elegida por 15 minutos y se procede a cuantificar las UFC/superficie aplicando el mismo método que se usó con la muestra control contaminada. Este paso se sigue para cada bacteria a analizar.

2.5 Proceso de recolección de datos.

Para recolectar los datos de la actividad antimicrobiana, evaluación del efecto antibacteriano o susceptibilidad de los dos microorganismos que se determina en función al diámetro del halo de inhibición de crecimiento del microorganismo (HICM), considerando lo siguiente: Sensibilidad nula (-), para un diámetro inferior a 8 mm; sensibilidad límite (sensible = +) para un diámetro > 8 mm y 14 mm; media (muy sensible = ++) para un diámetro comprendido ente > 14 mm a 19 mm; por último, se considera que el microorganismo es sumamente sensible (S.S. = +++) para un diámetro superior a 20 mm ^(15, 16, 31). El instrumento a usar esta en el ANEXO A1.

La recolección de datos obtenidos posterior a aplicar la prueba de desafío en superficie para determinar de la actividad bactericida que indicaría que el aceite esencial de *Origanum vulgare L.* (orégano) tiene o no efecto desinfectante frente las tres bacterias de desafío, para ello se realizará un conteo de los microorganismos viables que se representarán en UFC/superficies y Ausencia o presencia/superficie respectivamente para cada microorganismo. Ver instrumento e el ANEXO A2.

2.6 Método de análisis estadístico

El análisis estadístico se realiza tomando en cuenta los niveles de medición de datos las variables, siendo de tipo descriptiva hallando el promedio de los datos obtenidos y verificando la desviación estándar ⁽²⁸⁾.

RESULTADOS

Se presenta el efecto antimicrobiano de las diferentes concentraciones del aceite de *Origanum vulgare* L. (orégano) (100%, 80%, 40% y 20%) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, siendo los halos de inhibición de 8mm en las 3 repeticiones para las concentraciones de 20% y 40 % del aceite esencial; se obtuvo 9.0 mm, 9.0 mm y 10.0 mm en las repeticiones al 80% y finalmente 15.0 mm, 14.0 mm y 15.0 mm para el 100% del aceite esencial de *Origanum vulgare*; teniendo este último mayor actividad antimicrobiana que las otras concentraciones.

Tabla N° 3

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Concentración de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano)				
	n	100%	80%	40%	20%
1		15.0	9.0	8.0	8.0
2		14.0	9.0	8.0	8.0
3		15.0	10.0	8.0	8.0
X		14.7	9.3	8.0	8.0
D. E		0.58	0.58	0.00	0.00
n: número de repeticiones		X: promedio	D.E: desviación estándar		



Figura N° 3 Halos de inhibición de *Staphylococcus aureus* ATCC25923

Se muestran los resultados de la actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, obteniendo 8.0 mm en todas las repeticiones para 20% de aceite esencial de orégano; se obtuvo 10.0 mm, 9.0 mm y 9.0 mm para el 40%, siendo mayor que el primero; los halos de inhibición para el 80% son 16.0 mm, 16.0 mm y 15.0 mm siendo mayores que los obtenidos respecto las demás concentraciones del aceite esencial de *Origanum vulgare*, incluso frente al 100 % que fue de 12.0 mm en todas sus repeticiones.

Tabla N° 4

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Concentración de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano)				
	n	100%	80%	40%	20%
1		12.0	16.0	10.0	8.0
2		12.0	16.0	9.0	8.0
3		12.0	15.0	9.0	8.0
X		12.0	15.7	9.3	8.0
D. E		0.00	0.58	0.58	0.00
n: número de repeticiones		X: promedio	D.E: desviación estándar		



Figura N° 4 Halos de inhibición de *Escherichia coli* ATCC25922

En la figura 5 se aprecia que los promedios de las concentraciones de 20% y 40% no difieren mucho, se obtuvo 8.0 mm al 20% en ambas cepas y 8.0 mm y 9.3 mm respectivamente para cada cepa al 40%; para la concentración de 80 % de aceite esencial muestran diferencias significativas pues los halos de inhibición son de 9.3 mm y 15.7 mm mostrando mayor actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* a dicha concentración, sin embargo sucede lo contrario al 100% pues los halos son 14.7 mm y 12.0 mm respectivamente para cada cepa; demostrando menor efecto antimicrobiano frente a *Escherichia coli*; a mayor concentración incrementa el tamaño halo de inhibición frente a *Staphylococcus aureus*.

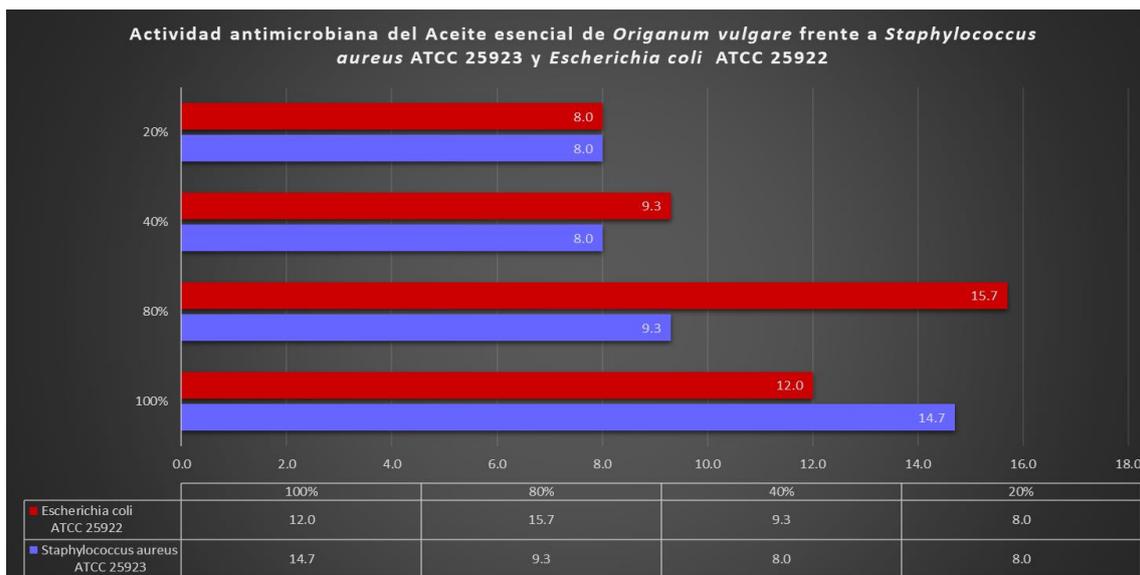


Tabla N° 5
Efecto desinfectante del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922

A continuación, se presentan los resultados del efecto desinfectante del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) al 80% frente a *Staphylococcus aureus* ATCC6538, *Escherichia coli* ATCC8739 y *Salmonella sp.* ATCC14028:

Se obtuvo 228×10^2 UFC/ Superficie muestreada de *Staphylococcus aureus* para M1 contaminada y no tratada con desinfectante, estando sobre el límite permisible; por otro lado, las muestras M2 y M3 tratadas con el desinfectante (aceite esencial de orégano al 80%) presentaron un recuento en placa Petri film 0 UFC, al multiplicarlo por el factor de dilución se representa como <100 UFC/ Superficie muestreada demostrando la efectividad del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. como desinfectante.

Tabla N° 5
Efecto desinfectante del aceite esencial del *Origanum vulgare* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC6538

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538			
Código	Muestras contaminadas	Observación	Resultados UFC/superficie muestreada
M1	Tenedor	Sin tratar con desinfectante	22800
M2	Tenedor	Tratado con desinfectante por 15'	<100
M3	Tenedor	Tratado con desinfectante por 15'	<100



Figura N° 6 Resultado del efecto desinfectante frente a *Staphylococcus aureus*

Se obtuvo para *Escherichia coli* M1 no tratada con desinfectante 361×10^2 UFC/ Superficie muestreada, estando sobre el límite permisible; por otro lado, las muestras M2 y M3 tratadas con el desinfectante (aceite esencial de orégano al 80%) presentaron un recuento en placa Petri film 0 UFC, al multiplicarlo por el factor de dilución se representa como <100 UFC/ Superficie muestreada estando dentro de los límites permisibles para coliformes (*Escherichia coli*). Demostrando la efectividad del aceite esencial de *Origanum vulgare* como desinfectante.

Tabla N° 6

Efecto desinfectante del aceite esencial del *Origanum vulgare* frente a *Escherichia coli* ATCC8739

<i>Escherichia coli</i> ATCC8739			
Código	Muestras contaminadas	Observación	Resultados UFC/superficie muestreada
M1	Cuchara	Sin tratar con desinfectante	36100
M2	Cuchara	Tratado con desinfectante por 15'	<100
M3	Cuchara	Tratado con desinfectante por 15'	<100



Figura N° 7 Resultado del efecto desinfectante frente a *Escherichia coli*

Se obtuvo para *Salmonella* M1 no tratada con desinfectante 413×10^2 UFC/ Superficie muestreada, lo cual se reporta como presencia/superficie muestreada, estando sobre los límites permisibles para este patógeno; mientras las muestras M2 y M3 tratadas con el desinfectante (aceite esencial de orégano al 80%) presentaron 0 UFC que se representa como Ausencia/ Superficie muestreada estando estas 2 últimas dentro de los límites permisibles para *Salmonella* establecidos por DIGESA. Demostrando la efectividad del desinfectante.

Tabla N° 7

Efecto desinfectante del aceite esencial del *Origanum vulgare* frente a *Salmonella* ATCC14028

<i>Salmonella sp.</i> ATCC14028			
Código	Muestras contaminadas	Observación	Ausencia o Presencia/ superficie muestreada
M1	Cuchara	Sin tratar con desinfectante	Presencia
M2	Cuchara	Tratado con desinfectante por 15'	Ausencia
M3	Cuchara	Tratado con desinfectante por 15'	Ausencia

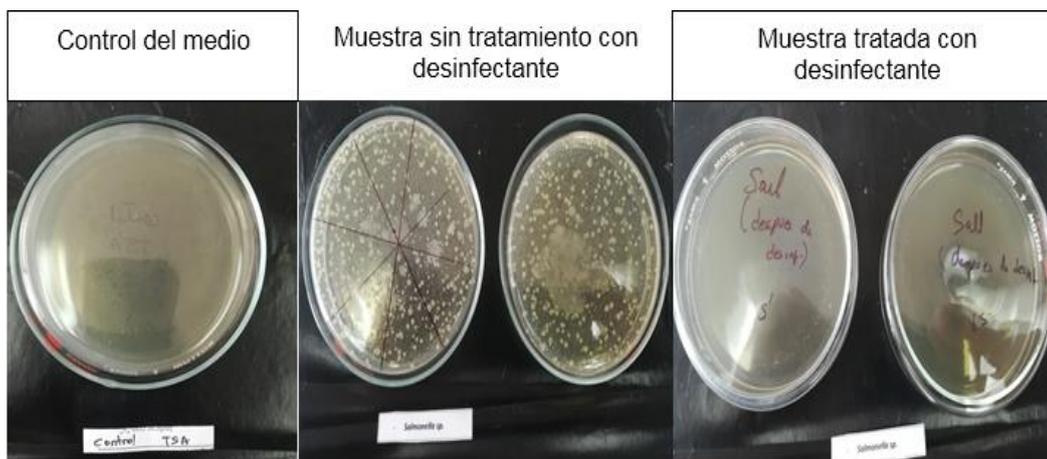


Figura N° 8 Resultado del efecto desinfectante frente a *Salmonella*

DISCUSIÓN

4.1 Discusión de resultados

La actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* es proporcional pues a mayor concentración mayor halo de inhibición, mientras que para *Escherichia coli* el mayor halo de inhibición obtenido fue usando aceite al 80%, lo que concuerda con la investigación realizada por López E., los halos obtenidos frente a *Staphylococcus aureus* son proporcionales a la concentración del aceite, en el caso de *Escherichia coli* obtuvo un mayor halo de inhibición a una concentración de aceite al 60 % con 17,62 mm siendo mayor a la obtenida al 90% (16,05 mm); además se puede inferir que la diferencia en los halos de inhibición, se debe a que la concentración de fenoles está determinada por la madurez de la planta y la zona geográfica de la misma, pues los halos de inhibición obtenidos en el estudio de López E. realizados en Ecuador, son mayores que los del presente estudio.

Castillo P. demostró la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano y extracto de ajo combinados frente a bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella*, el presente estudio también demostró efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Carhuas R., obtuvo el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano), por arrastre de vapor y luego demostró su efecto antimicrobiano frente a *Streptococcus* y *Lactobacillus* con una media de 24,91mm y 15,13mm respectivamente; el presente estudio demostró el mayor efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus* (14,7 mm) y *Escherichia coli* (15,7mm) a una concentración de 80% y 100% respectivamente; se explica su actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram (+) y Gram (-) debido a los compuestos fenólicos como el timol y carvacrol presentes en el aceite.

En las tablas N° 5, 6 y 7 se muestra la comparación de las muestras antes y después del tratamiento con el desinfectante (aceite esencial de orégano al 80%), demostrándose su efectividad como desinfectante sobre superficies contaminadas con *Escherichia coli* (patógeno del grupo de los coliformes), *Staphylococcus aureus* (mesófilo patógeno) ya que no hubo crecimiento bacteriano en las muestras tratadas; en otro estudio ejecutado por Araujo F. en el 2016 determinó el

efecto bactericida del aceite esencial de orégano frente a coliformes y mesófilos presentes en carne de hamburguesas deduciendo que tiene efecto sobre mesófilos a concentraciones de 75% y 100%, más no sobre coliformes ya que no hubo una reducción de las UFC de coliformes, siendo no apto para el consumo humano; por lo que podemos inferir que la reducción microbiana es mayor y eficiente sobre superficies inertes que sobre compuestos orgánicos, pues este último le aporta nutrientes a las bacterias, permitiendo su crecimiento.

Sanchez R., Silva M., Jimenez R. y Zea O., demostraron que los extractos de plantas reducen la carga microbiana de coliformes totales, *Escherichia coli* y bacterias aerobias mesófilas al tratar las carcasas de cuyes ya que tomaron muestras aplicando el método de enjuague antes y después del tratamiento con el desinfectante elegido; siendo el mismo método aplicado en el presente estudio para demostrar el efecto bactericida del aceite esencial de orégano *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* lográndose determinar la reducción bacteriana y demostrando su efecto desinfectante.

Se demostró el efecto desinfectante del aceite esencial de orégano al 80% frente a *Salmonella* lo que resulta lógico puesto que Morillas I. en el 2015 determinó la eficacia bactericida del aceite esencial de orégano a diferentes concentraciones (25%, 50%, 75%, 100%), obtuvo los siguientes valores promedio del halo de inhibición: 23,8 mm, 23,2 mm, 20,2 mm y 24,8 mm respectivamente.

4.2 Conclusión

El aceite esencial de *Origanum Vulgare* L. (orégano) al 80% con actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, presenta efecto desinfectante frente a ambas bacterias.

A una concentración de 80%, el aceite esencial de *Origanum Vulgare* L. (orégano) presenta actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* con un halo de inhibición promedio de 9,3 mm y 15,7 mm respectivamente, clasificados acorde a la escala Duraffourd como sensible y muy sensible.

El aceite esencial preparado al 80% enfrentado en superficies contaminadas con *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* tiene efecto desinfectante puesto que

disminuye las UFC de las superficies contaminadas de 361×10^2 UFC/ Superficie muestreada y 228×10^2 UFC/ Superficie muestreada para ambas bacterias respectivamente a <100 UFC/ Superficie muestreada, estando dentro de los límites permisibles establecidos por DIGESA para superficies, comprobando su efectividad como desinfectante. Se infiere su efectividad como desinfectante frente a *Salmonella* ya que las muestras tratadas con desinfectante por 15 minutos se reportaron como Ausencia/Superficie muestreada, a diferencia de la muestra no tratada cuyo resultado fue 413×10^2 UFC/Superficie muestreada estando fuera del límite permisible establecido por DIGESA.

4.3 Recomendación

Realizar estudios del efecto desinfectante del aceite esencial *Origanum Vulgare* L. (orégano) frente a otros microorganismos como hongos u otras bacterias de interés en el sector alimentario.

Desarrollar estudios del efecto desinfectante del aceite esencial de *Origanum Vulgare* L. (orégano) a otras concentraciones para identificar el rango de menor concentración a la que presente efecto desinfectante.

Se sugiere realizar estudios similares del efecto desinfectante utilizando diferentes aceites esenciales.

Se sugiere realizar estudios que evalúen la capacidad desinfectante del aceite esencial *Origanum Vulgare* L. (orégano) a diferentes tiempos de desinfección, para determinar la relación de la eficacia en relación al tiempo de desinfección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Estimaciones de la OMS sobre la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria [Internet]. 2015 diciembre [citado: 2020 julio 28]; 15(2). Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/200047/WHO_FOS_15.02_spa.pdf?sequence=1
2. Desinfectantes utilizados en la industria alimentaria: Características, modo de actuación y aspectos que inciden en su eficacia [Internet]. 2016 [Citado: 2020 julio 28] Disponible en: http://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Articulo_boletin_Desinfectantes_y_Modo_de_accion_en_IIAA.pdf
3. Las diez enfermedades que más afectan a los peruanos pobres. La Republica.pe [Internet]. 2017 Noviembre 10 [citado: 2020 agosto 10]; Disponible en: <https://larepublica.pe/sociedad/1143277-las-diez-enfermedades-que-mas-afectan-a-los-peruanos-pobres>.
4. Zamudio M.; Arias I.; Luna M.; Valenzuela A.; Segovia E. y Villanueva E. Vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en el Perú [Internet]. 2008 Junio [citado: 2020 agosto 10] Disponible en: <http://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/523/BOLETIN-2008-may-jun-103-104.pdf?sequence=1&isAllowed=y> // boletín
5. OMS. Prevención de las enfermedades transmitidas por los alimentos: las cinco claves para la inocuidad de los alimentos [Internet]. 2006 [Citado: 2020 julio 28] Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/fs_management/No_05_5keys_Oct06_sp.pdf?ua=1
6. Equipo vértice. Dietética y manipulación de alimentos [Internet] España: Editorial Vértice; 2011 [Citado: 2020 julio 29] Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=BhluA02K-6EC&pg=PA19&dq=intoxicacion+alimentaria+concepto&hl=es->

419&sa=X&ved=0ahUKEwi2w6KWwfrbAhVRja0KHbTIC4cQ6AEIJzAA#v=one
page&q=intoxicacion%20alimentaria%20concepto&f=false

7. Torres A., Del Castillo A., Farfan M., Gonzales J., Uriarte R., Hernández J., y otros. Perú: Indicador de la Actividad Productiva Departamental (cifras preliminares) Año 2017 [Internet]. 2018 Mayo [Citado: 2020 julio 29] Disponible en:
https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1524/libro.pdf
8. Klauer D. Manual técnico de cultivo ecológico de orégano (*Origanum sp L.*) [Internet]. 2009 Perú: Ediciones el Taller [Citado: 2020 julio 29] Disponible en:
<https://www.ecoagricultor.com/wp-content/uploads/2014/01/manual-cultivo-ecologico-oregano.pdf>
9. Romaina J.; Chaparro E.; Romani M.; Delgado T.; Crisosto A. y Vargas E. Agroindustria y Negocios [Internet]. 2015 junio 3^a ed. p. 21-17 [citado: 2020 agosto 03]; 3(3). Disponible en:
<http://www.upt.edu.pe/upt/sgc/assets/ckeditor/kcfinder/upload/files/Agroindustria%20%26%20Negocios%20Nro%203%20-%20Enero%202015.pdf>
10. Bruneton J. Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas Medicinales 2^a ed. España: Editorial Acribia S.A.; 2001.
11. Tellez L. y Nolzco D. Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp.) de Tacna [Internet]. 2017 junio p. 205-195 [citado: 2020 agosto 03]; (35). Disponible en:
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=337453922010>
12. Tellez L. Caracterización de los aceites esenciales de seis ecotipos de orégano (*Origanum vulgare* ssp.) procedentes del valle de Urubamba – Cusco; Perú [Internet]. 2017 [citado: 2020 agosto 28] Disponible en:
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3479/tellez-monzon-lena-asuncion.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

13. Béjaoui A.; Chaabane H.; Jemli M.; Boulila A.; y Boussaid M. Composición del aceite esencial y actividad antibacteriana de *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf. en diferentes etapas fenológicas [Internet]. 2013 diciembre p. 1120-1115 [citado: 2020 agosto 05]; 16 (12). Disponible en: <http://doi.org/10.1089/jmf.2013.0079>

14. Arcila C.; Loarca G.; Lecona S.; y González E. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes [Internet]. 2004 [citado: 2020 agosto 05]; 54(1). Disponible en: http://soregano.com/wp-content/uploads/2017/02/El-organo_-propiedade.pdf

15. Sánchez E., Castillo S., y García P. Actividad antimicrobiana. En Rivas C., Oranday M., & Verde M. (Eds.). Investigación en plantas de importancia médica. [Internet] Barcelona, España: 3ª ed. OmniaSciencie; 2016. p. 100-77 [citado: 2020 agosto 24] Disponible en: <https://www.omniascience.com/books/index.php/monographs/catalog/download/97/410/816-1?inline=1#:~:text=Dentro%20de%20los%20principales%20m%C3%A9todos,los%20microorganismos%20de%20inter%C3%A9s%20de%20los>

16. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión [Internet]. 2002 [citado: 2020 agosto 14] Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%2002.pdf>

17. The National formulary, NF 36: official from may 1, 2018 / by authority of the United States Pharmacopeial Convention; prepared by the Council of Experts and its Expert Committees. 2017

18. AOAC INTERNACIONAL. 2016. Métodos oficiales de análisis, 20 th ed. AOAC INTERNATIONAL, Arlington, VA.

19. ICMSF. Microorganismos de los alimentos Características de los patógenos microbianos. Editorial Acribia, 1996.

20. Guía Técnica Sobre Criterios Y Procedimientos Para El Examen Microbiológico De Superficies En Relación Con Alimentos Y Bebidas [Internet]. [citado:2020 agosto 30] Disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm
21. Instituto Nacional de Alimentos. Guía de interpretación de Resultados microbiológicos de Alimentos [Internet]. Argentina [citado: 2020 agosto 15] Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf
22. López E. Efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre cepas certificadas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Internet]. 2018 Ecuador: Universidad Técnica de Ambato [Citado: 2020 agosto 16]. Disponible en: <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27546/1/Tesis%20130%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20568.pdf>
23. Castillo P. Efecto combinado del aceite esencial de orégano y extracto de ajo, en la conservación de hamburguesas de carne vacuna refrigerada. [Internet]. 2017 Argentina: Universidad Nacional de Cuyo [Citado: 2020 agosto 16] Disponible en: http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/8750/tesis-brom.-castillo-mara-paula-2017.pdf
24. Carhuas R. Efecto antibacteriano del *Origanum vulgare*, *Menta piperita*, *Cymbopogon citratus* sobre el *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* en el hospital militar central lima 2017. [Internet]. 2017 Perú: Universidad de Huánuco [Citado: 2020 agosto 17] Disponible en: http://repositorio.udh.edu.pe/bitstream/handle/123456789/991/T_047_73856760-Tpdf..pdf?sequence=1&isAllowed=y
25. Araujo F. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* sobre Coliformes y Mesófilos en carnes de hamburguesas preparadas artesanalmente. [Internet]. 2016 Perú: Universidad Cesar Vallejo [citado: 2020 agosto 18] Disponible en:

http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/622/araujo_sf.pdf?sequence=1&isAllowed=y

26. Sánchez R., Silva M., Jiménez R. y Zea O. Efecto de desinfectantes químicos y extractos de plantas sobre la carga bacteriana en carcasas de cuyes (*Cavia porcellus*) [Internet]. 2015 abril p. 244-235 [Citado: 2020 agosto 18]; 26(2). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172015000200009
27. Morillas I. Efecto *in vitro* del aceite de *Origanum vulgare* sobre *Salmonella Typhi*. [Internet]. 2015 Perú: Universidad privada de Antenor Orrego [Citado: 2020 agosto 19]. Disponible en: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/1583>
28. Hernández R. Fernández C. y Baptista P. Metodología de la investigación [Internet]. 2014 6ta. ed. México [Citado: 2020 setiembre 10] Disponible en: <https://www.esup.edu.pe/descargas/perfeccionamiento/PLAN%20LECTOR%20PROGRAMA%20ALTO%20MANDO%20NAVAL%202020/2.%20Hernandez,%20Fernandez%20y%20Baptista-Metodolog%C3%ADa%20Investigacion%20Cientifica%206ta%20ed.pdf>
29. Química Orgánica 1 Destilación por arrastre con vapor [Internet]. p. 89-80 [citado: 2020 agosto 05]. Disponible en: http://organica1.org/1311/1311_10.pdf
30. Peredo L. Aceites esenciales Métodos de extracción [Internet]. 2009 [citado: 2020 agosto 05]; 21(2). Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)
31. Duraffourd C, Hervicourt L, Lapraz J. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1° ed. París: editorial Masson SA; 1983 [citado: 2020 agosto 14]

ANEXOS

ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos

ANEXO A1: Evaluación microbiológica del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) versus dos cepas bacterianas.

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Concentración de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano)			
n	100%	80%	40%	20%
1				
2				
3				
X				

<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Concentración de aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L. (orégano)			
n	100%	80%	40%	20%
1				
2				
3				
X				

n: número de repeticiones
X: promedio

OBSERVACIONES:

ANEXO A2: Evaluación bactericida del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) versus tres cepas bacterianas para determinar su efecto desinfectante.

Bacterias	Código	Muestras contaminadas	Observación	Conteo de UFC/ superficie muestreada	Ausencia/ Presencia
<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	M1	Cuchara	Sin tratar con desinfectante		
	M2	Cuchara	Tratado con desinfectante por 15'		
	M3	Cuchara	Tratado con desinfectante por 15'		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	M1	Tenedor	Sin tratar con desinfectante		
	M2	Tenedor	Tratado con desinfectante por 15'		
	M3	Tenedor	Tratado con desinfectante por 15'		
<i>Salmonella sp.</i> ATCC14028	M1	Cuchara	Sin tratar con desinfectante		
	M2	Cuchara	Tratado con desinfectante por 15'		
	M3	Cuchara	Tratado con desinfectante por 15'		

OBSERVACIONES:

ANEXO B. Operacionalización de las variables

VARIABLE	DEFICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
INDEPENDIENTE: Concentración del aceite esencial <i>Origanum vulgare L.</i> (orégano)	Expresa la medida en porcentaje de gramos o mililitros por cada 100 gramos o mililitros de muestra total	Evaluar la actividad antimicrobiana y efecto desinfectante	Concentración mg/mL	Diferentes concentraciones del aceite esencial	100 % 80 % 40 % 20 %	Porcentaje de concentración
DEPENDIENTE: Actividad Antimicrobiana	Capacidad de eliminar o reducir la proliferación de microbios (virus, bacterias, hongos o parásitos).	Ejecutar la actividad antimicrobiana	Diámetro del halo de inhibición	Nula (-) Sensible (+) Muy sensible (++) sumamente sensible (+++)	Ordinal	< 8 mm >8 ≤ 14 mm >14 ≤ 20mm > 20mm
DEPENDIENTE: Efecto desinfectante	Compuesto con la capacidad de destruir o inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos en fase vegetativa o no esporulada.	Ejecutar el efecto desinfectante	Unidades Formadoras de Colonias (UFC)	Recuento de UFC /superficie	UFC /superficie	Ausencia o presencia

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO C. Evidencias de trabajo de campo

ANEXO C1: Certificación botánica de *Origanum vulgare* L. (orégano)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N°247-USM-2018

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

La muestra vegetal (tallo con hojas) recibida de Erika Judhit MEDRANO SUCARI, estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas; ha sido estudiada y clasificada como: *Origanum vulgare* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

GENERO: *Origanum*

ESPECIE: *Origanum vulgare* L.

Nombre vulgar: "orégano"

Determinado por: Dra. Joaquina Albán Castillo

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

Lima, 19 de junio de 2018



Mag. ASUNCIÓN CANO ECHEVARRÍA
JEFE JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

ANEXO C2: Actividad Antimicrobiana

Tabla N° 1
Controles método de Kirby Bauer modificado

Muestra	Medio de cultivo	Resultado
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	APC	Crecimiento
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	APC	Crecimiento
Sin sembrar (control del medio)	APC	No hubo crecimiento
Discos con Tween	APC + <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	No hubo halo
Discos con Tween	APC + <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	No hubo halo

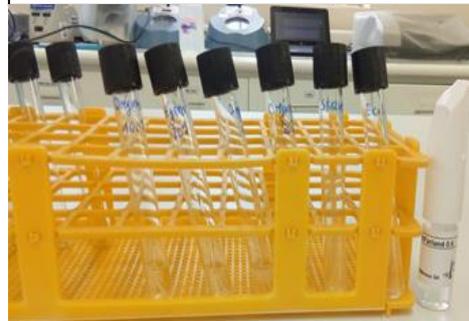
APC: Agar Plate Count

Fuente: Elaboración propia.

Activación y siembra de las cepas:
Staphylococcus aureus y *Escherichia coli*



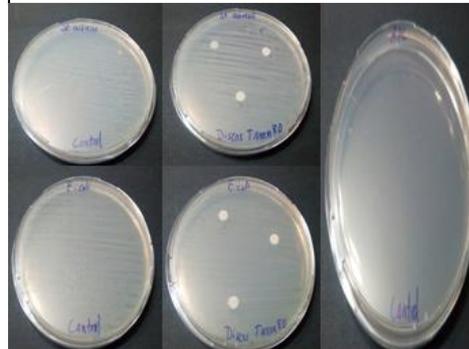
Estandarización a la escala 0.5 Mac Farland



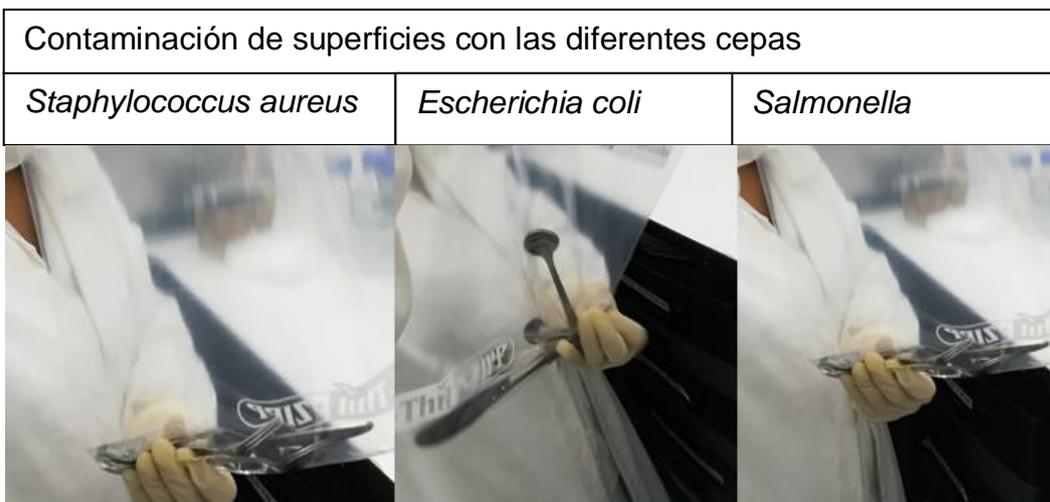
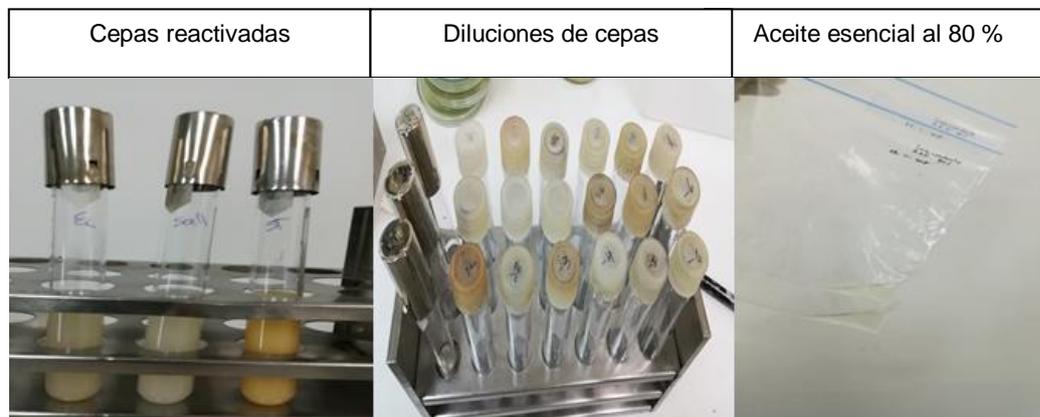
Preparación de las diluciones del aceite esencial de *Origanum vulgare* L.

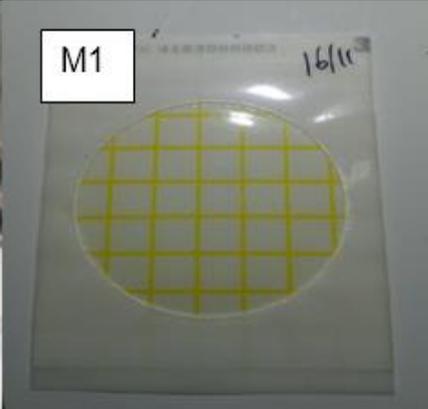


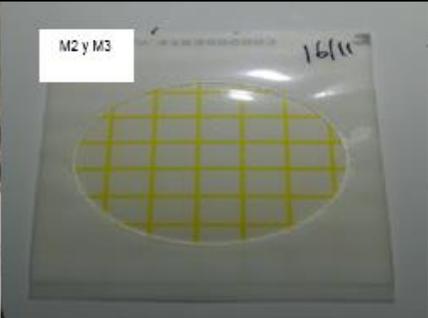
Controles del medio, cepas y diluyente



ANEXO C3: Efecto Desinfectante



Proceso para muestras sin tratamiento con desinfectante		
Enjuague	Sembrar e incubar	
<p><i>Staphylococcus aureus</i></p> 		
<p><i>Escherichia coli</i></p> 		
<p><i>Salmonella</i></p> 		

Proceso para muestras tratadas con desinfectante por 15 min		
Desinfección y enjuague	Sembrar e incubar	
<p><i>Staphylococcus aureus</i></p> 		
<p><i>Escherichia coli</i></p> 		
<p><i>Salmonella</i></p> 		