



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA  
SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA  
PATOLÓGICA**

**EFFECTO ANTIMICROBIANO *in vitro* DEL EXTRACTO  
DE *Allium sativum* (AJO) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE  
*Origanum vulgare* (ORÉGANO) SOBRE CEPA DE  
*Escherichia coli* JULIACA – 2016**

TESIS PREPARADA PARA OPTAR EL  
TÍTULO DE LICENCIADO TECNÓLOGO  
MÉDICO EN EL ÁREA DE LABORATORIO  
CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

FIDEL MAMANI QUIÑONEZ

JULIACA - PERÚ

2016

**EFFECTO ANTIMICROBIANO *in vitro* DEL EXTRACTO  
DE *Allium sativum* (AJO) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE  
*Origanum vulgare* (ORÉGANO) SOBRE CEPA DE  
*Escherichia coli* JULIACA – 2016**

Tesis para optar el título de licenciado  
tecnólogo médico en el área de laboratorio  
clínico y anatomía patológica

FIDEL MAMANI QUIÑONEZ

ASESOR:

Lic. T.M. ALFREDO CABRACANCHA ROQUE

JULIACA - PERÚ

2016

HOJA DE APROBACIÓN

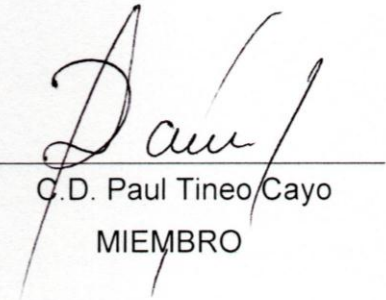
FIDEL MAMANI QUIÑONEZ

**“EFECTO ANTIMICROBIANO *in vitro* DEL EXTRACTO  
DE *Allium sativum* (AJO) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE  
*Origanum vulgare* (ORÉGANO) SOBRE CEPA DE  
*Escherichia coli* JULIACA – 2016”**

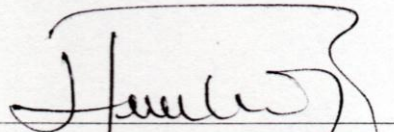
Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del  
título de licenciado en Tecnología Médica en el área de  
Laboratorio clínico y anatomía patológica por la Universidad  
Alas Peruanas



Lic T.M. Ynés Beatriz Orellana Porras  
SECRETARIO



C.D. Paul Tineo Cayo  
MIEMBRO



Dr. Efrain Urbano Carrasco Gonzalo  
PRESIDENTE

JULIACA – PERÚ

2016

Se dedica este trabajo a:

A Dios por permitirme conseguir los logros deseados y guiar mis pasos.

Mis padres Juan B. y María R, por sus ejemplos de amor, dedicación, por apoyo incondicional y ser el motivo de mi vida.

A mis hermanos Ana C†. Juan C, Judith y Fredy. Por inspirarme a seguir adelante.

Se agradece por su contribución  
para el desarrollo de esta tesis a:

A mi asesor Lic. T.M Alfredo  
Cabracancha Roque por su apoyo,  
orientación y valiosa asesoría en el  
proceso y elaboración de este  
trabajo.

A GyG Diagnostic Laboratorio  
Clínico e Imágenes por abrirme sus  
puertas de sus instalaciones y  
permitir el desarrollo de la presente  
investigación.

**Epígrafe:** “Aplazar una cosa fácil hace que sea difícil. Aplazar una cosa difícil la hace imposible.” George Claude Lorimer

# ÍNDICE

HOJA DE APROBACIÓN .....	¡Error! Marcador no definido.
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	iv
EPÍGRAFE .....	v
ÍNDICE .....	vi
RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	4
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	4
1.2. Delimitación de la investigación .....	6
1.2.1. Delimitación espacial .....	6
1.2.2. Delimitación temporal .....	6
1.2.3. Delimitación conceptual .....	6
1.3. Problema de investigación .....	7
1.3.1. Problema principal .....	7
1.3.2. Problemas específicos.....	7
1.4. Objetivos de la investigación .....	7
1.4.1. Objetivo general.....	7
1.4.2. Objetivos específicos .....	7
1.5. Hipótesis y variables de la investigación .....	8
1.5.1. Hipótesis general .....	8
1.5.2. Hipótesis específicas .....	8
1.5.3. Variables.....	8
1.5.3.1. Variable independiente.....	8
1.5.3.2. Variable dependiente.....	9
1.5.3.3. Operacionalización de las variables .....	9
1.6. Metodología de la investigación .....	9
1.6.1. Tipo y nivel de la investigación .....	9
1.6.1.1. Tipo de investigación .....	9
1.6.1.2. Nivel de investigación .....	9
1.6.2. Método y diseño de la investigación .....	10
1.6.2.1. Método de la investigación .....	10

1.6.2.2. Diseño de investigación.....	10
1.6.3. Población y muestra de la investigación .....	10
1.6.3.1. Población.....	10
1.6.3.2. Muestra.....	10
1.6.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de datos ..	11
1.6.4.1. Procedimientos .....	11
1.6.4.2. Técnicas .....	12
1.6.4.3. Instrumentos de recolección de datos .....	12
1.6.5. Justificación e importancia de la investigación .....	12
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	14
2.1. Antecedentes de la investigación .....	14
2.1.1. Antecedentes internacionales.....	14
2.1.2. Antecedentes nacionales.....	18
2.2. Bases teóricas.....	19
2.2.1. <i>Allium sativum</i> (Ajo) .....	19
2.2.1.1. Composición química .....	20
2.2.1.2. Propiedades antimicrobianas .....	21
2.2.2. <i>Origanum vulgare</i> (Orégano) .....	22
2.2.2.1. Composición química del orégano .....	23
2.2.2.2. Propiedades antimicrobianas .....	24
2.2.3. Ciprofloxacino .....	25
2.2.4. <i>Escherichia coli</i> .....	25
2.2.4.1. Método para determinar la susceptibilidad ante agentes antimicrobianos .....	26
2.3. Definición de términos básicos.....	28
CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	29
3.1. Análisis de tablas y gráficos .....	29
3.2. Contrastación de hipótesis .....	39
3.2.1. Prueba de la hipótesis general mediante el uso de la T de Student	39
3.2.1.1. Planteamiento de hipótesis estadística:.....	39
3.2.2. Prueba de las hipótesis específicas mediante el uso de la T de Student .....	41
3.2.2.1. Planteamiento de hipótesis estadística específica 4 parte 1: ....	41
3.2.3. Prueba de las hipótesis específicas mediante el uso de la T de Student .....	42



3.2.3.1. Planteamiento de hipótesis estadística específica 4 parte 2: ....	42
3.3. Discusión.....	43
3.4. Conclusiones.....	44
3.5. Recomendaciones.....	45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	46
ANEXOS .....	50
MATRIZ DE CONSISTENCIA .....	52

## RESUMEN

El **propósito** de la presente investigación fue de evaluar el efecto antimicrobiano del extracto de *Allium sativum* y del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a una cepa estándar de *Escherichia coli*.

Los **materiales** y **métodos**; el nivel de la investigación es aplicativo, cuasi experimental, prospectivo, transversal; los resultados se analizaron con la prueba de *t* de Student, obtenidos mediante el uso del método de difusión en disco de Kirby-Bauer. Para el procedimiento se utilizaron: extracto de *Allium sativum* y el aceite esencial de *Origanum vulgare* (expendidos en locales de venta de productos medicinales de medicina natural, utilizados por la población de la zona para contrarrestar distintas dolencias), placas Petri conteniendo agar Mueller Hinton inoculadas con una cepa estándar de *Escherichia coli*.

Los **resultados**. Se determinó que el extracto de ajo tiene unas medidas de halos de inhibición de alrededor de 12 mm que representa el 33.3% del total de las medidas para este antimicrobiano y para el aceite esencial de orégano con una medida alrededor de los 10 mm que representan el 36.7% del total de mediciones para este antimicrobiano.

Llegando a la **conclusión** que el extracto de *Allium sativum* (ajo) tiene un mejor efecto antimicrobiano *in vitro* que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli*.

**Palabras clave:** Efecto antimicrobiano, cepa, *Allium sativum*, *Origanum vulgare*, *in vitro*, método de difusión en disco, halos de inhibición.

## ABSTRACT

The **purpose** of this research was to evaluate the antimicrobial effect of *Allium sativum* extract and the essential oil of *Origanum vulgare* against a standard strain of *Escherichia coli*.

The **materials** and **methods**; the level of research is applicative, quasi-experimental, prospective, cross; the results were analyzed with the Student *t* test, obtained using the disk diffusion method of Kirby-Bauer. For the procedure were used: *Allium sativum* extract and essential oil of *Origanum vulgare* (expended in stores selling medicinal products natural medicine, used by the population of the area to counter various ailments), Petri plates containing Mueller Hinton agar inoculated with a standard strain of *Escherichia coli*.

The **results**. It was determined that garlic extract has measures of inhibition halos around 12 mm representing 33.3% of the measures for this antimicrobial and the essential oil of oregano with a measure about 10 mm representing 36.7% of all measurements for this antimicrobial.

**Concluding** that the extract of *Allium sativum* (garlic) has a better antimicrobial effect in vitro that the essential oil of *Origanum vulgare* (oregano) on *Escherichia coli* strain.

**Keywords:** Antimicrobial effect, strain, *Allium sativum*, *Origanum vulgare*, *in vitro* disk diffusion method, halos of inhibition.

## INTRODUCCIÓN

El incremento en la resistencia bacteriana hacia los antimicrobianos convencionales, motivado por varias causas dentro de las cuales está el uso irracional de antibióticos y la constante formación de mecanismos bacterianos para la formación de resistencia, hace necesaria la investigación de productos naturales con propiedades medicinales para la fomentación del uso de productos que pueden estar al alcance de la población además de ello el relativo elevado costo de los antimicrobianos de uso médico para la población de escasos recursos económicos.

En nuestra localidad actualmente existe poca investigación acerca de productos medicinales de origen natural, pero que sin embargo tiene amplio uso entre la población, promovido en gran parte por los comerciantes y distribuidores de estos productos como una alternativa a los productos obtenidos sintéticamente.

Las propiedades de los productos estudiados frente a bacterias de crecimiento rápido pueden ser evaluadas por el método de difusión en disco de Kirby-Bauer, obteniéndose resultados reproducibles además de ser un método estandarizado y de bajo costo en comparación a otros métodos.

Dentro de las bacterias de importancia la *Escherichia coli* es una bacteria potencialmente patógena, además de ello tiene la capacidad de poder formar mecanismos de resistencia bacteriana frente a distintos antibióticos.

De este modo es conveniente realizar el estudio sobre el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo) y del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli*.

# CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

## 1.1. Descripción de la realidad problemática

El uso de agentes antimicrobianos en infecciones producidas por *Escherichia coli* en la actualidad se ve afectada debido al incremento del desarrollo de mecanismos de resistencia a los antibióticos convencionales (1), llamando de forma alarmante al desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, ya que si no se tomara esta acción se correría el riesgo de que en un futuro no se pueda contar con antibióticos capaces de poder contrarrestar las consecuencias de las enfermedades infecciosas en la población que se encuentra expuesta a diferentes agentes microbianos (2); en esta búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos se encuentran los productos naturales con algunas propiedades medicinales atribuidas de forma empírica por la población, el ajo a quien se le atribuye varias propiedades entre ellas el efecto antimicrobiano ante una gran variedad de microorganismos, además de este el aceite esencial de orégano del cual se menciona de manera similar sus efectos antimicrobianos y demás propiedades, cabe recordar además que estos productos naturales son muy ampliamente en la población peruana y en especial la región Puno, sin conocimiento documentado en la región que sustente su uso (3).

En la actualidad resulta alarmante la resistencia de los microorganismos, entre otros causados principalmente por bacilos Gram negativos, a distintos antibióticos en las terapias dirigidos a los agentes causales de la infección (4), al elevado costo de los antimicrobianos sumado a estos se encuentra la aparición de los efectos adversos de ciertos antibióticos (3). Esto crea la necesidad de encontrar nuevos compuestos provenientes de plantas que puedan actuar de forma directa sobre la actividad antimicrobiana o inhibiendo los mecanismos de resistencia de los microorganismos. Las plantas medicinales representan una fuente muy importante para encontrar esta clase de compuestos químicos (2).

El uso inapropiado e indiscriminado de los agentes antimicrobianos relacionado con la prevalencia de la resistencia a las drogas en los

patógenos en estos varios factores influyen, de los cuales se puede mencionar: la variabilidad genética de los microorganismos, reservorios humanos o ambientales donde pueden persistir o ser transmitidos genes de resistencia u organismos resistentes, presiones selectivas por el uso aumentado e inapropiado de antibióticos, así como cambios sociales y tecnológicos que afectan la transmisión de los organismos. Si a esto se suma el aumento de pacientes inmunocomprometidos y de tratamientos con drogas inmunosupresoras, es entendible el incremento y emergencia de infecciones bacterianas. La resistencia bacteriana a los agentes antimicrobianos es un tema de importancia; pues dada la presencia en patógenos relacionados con enfermedades prevalentes, como son, la enfermedad diarreica aguda, las infecciones respiratorias agudas y las infecciones intrahospitalarias, le dan un carácter de problema prioritario por la alta resistencia de uso y abuso de los fármacos, por lo que es necesario la búsqueda de nuevos principios activos con actividad antimicrobiana (5).

La Organización Mundial de la Salud advierte que en todas las regiones del mundo, existe una elevada y creciente proporción de bacterias responsables de infecciones frecuentes son capaces de resistir la acción de los antibióticos usados convencionalmente, la *Escherichia coli* es una de las bacterias cuyos mecanismos de desarrollo de resistencia a antibióticos se encuentra en constante cambio haciendo cada vez más imperante la necesidad de poder contrarrestarlo. En todo el mundo se desarrollan y se propagan nuevos mecanismos de resistencia bacteriana que dificultan el tratamiento de enfermedades infecciosas habituales causando muertes y discapacidades (6). Si no disponemos de agentes antimicrobianos eficaces, muchos tratamientos médicos de referencia estarán condenados al fracaso o acarrearán riesgos muy importantes (7).

El Perú se define como un país de extraordinaria variedad de recursos vivos y ecosistemas, que hoy se conoce como diversidad biológica o biodiversidad. La diversidad de recursos genéticos es un logro de los grupos humanos aborígenes, que durante un proceso de al menos 10000 años han domesticado especies de la fauna y plantas nativas que han sido seleccionados y adaptado a los pisos ecológicos. El Perú es uno de los

mayores centros mundiales de recursos genéticos, con unas 182 especies de plantas domesticadas, y es reconocido como uno de los centros de origen de la agricultura (8).

Evaluar *in vitro* la actividad antimicrobiana del ajo y orégano empleando métodos de análisis de laboratorio, permitirá validar su uso y posteriormente orientará a la elaboración de esquemas de tratamientos dentro de su uso popular de manera correcta, siendo la población de escasos recursos económicos los principales beneficiarios con los resultados, debido al amplio uso de los productos naturales con potenciales efectos sobre la salud de la población tales como las propiedades antimicrobianas los mismos que serán socializados por los comercializadores de recursos naturales terapéuticos tradicionales.

## **1.2. Delimitación de la investigación**

### 1.2.1. Delimitación espacial

El estudio se realizó en el ambiente de microbiología del Laboratorio Clínico GyG Diagnostic, ubicado en el jirón 9 de diciembre nº 375 en la ciudad de Juliaca.

### 1.2.2. Delimitación temporal

El estudio se realizó desde el 11 de julio hasta el 15 de julio del 2016.

### 1.2.3. Delimitación conceptual

La prueba *in vitro* para determinar el efecto antimicrobiano comprende la medición del halo de inhibición formado a partir de la inoculación de la bacteria sobre la superficie del agar para enfrentarlo con el antimicrobiano; en este caso los productos naturales como el extracto de *Allium sativum* (ajo) y el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y el Ciprofloxacino (control positivo).

### **1.3. Problema de investigación**

#### 1.3.1. Problema principal

¿Cuál será el resultado de la evaluación del efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo) y el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016?

#### 1.3.2. Problemas específicos

¿Cuál es el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo) sobre cepa de *Escherichia coli*?

¿Cuál es el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli*?

¿Cuál es el efecto antimicrobiano *in vitro* del ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli*?

¿Cómo será la comparación *in vitro* del efecto antimicrobiano del extracto de *Allium sativum* (ajo), el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y el ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli*?

### **1.4. Objetivos de la investigación**

#### 1.4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo) y el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016.

#### 1.4.2. Objetivos específicos

Determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo) sobre cepa de *Escherichia coli*

Determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli*.



Determinar el efecto antimicrobiano in vitro de la Ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli*

Comparar in vitro el efecto antimicrobiano del extracto de *Allium sativum* (ajo), aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y del Ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli*

## 1.5. Hipótesis y variables de la investigación

### 1.5.1. Hipótesis general

El extracto de *Allium sativum* (ajo) tiene un mejor efecto antimicrobiano in vitro que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016.

### 1.5.2. Hipótesis específicas

Existe un buen efecto antimicrobiano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) sobre cepa de *Escherichia coli*

Existe un efecto antimicrobiano irregular in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli*

Existe un buen efecto antimicrobiano in vitro del Ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli* es bueno

Al comparar in vitro el efecto antimicrobiano del Ciprofloxacino es superior al extracto de *Allium sativum* (ajo) y al aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli*.

### 1.5.3. Variables

#### 1.5.3.1. Variable independiente

Antimicrobianos

- a) Ajo
- b) Orégano
- c) Ciprofloxacino

### 1.5.3.2. Variable dependiente

#### Cepa de *Escherichia coli*

### 1.5.3.3. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA	CATEGORIA
Variable independiente: Antimicrobianos	Un antimicrobiano es una sustancia química que, a bajas concentraciones, actúa contra los microorganismos, destruyéndolos o inhibiendo su crecimiento.	<i>Allium sativum</i> (ajo)  <i>Origanum vulgare</i> (orégano)  Ciprofloxacina	Administración de 10/ul de <i>allium sativum</i> (ajo) en discos de sensibilidad sobre cultivos de <i>Escherichia coli</i>  Administración de 10/ul de aceite esencial de <i>origanum vulgare</i> (ajo) en discos de sensibilidad sobre cultivos de <i>Escherichia coli</i>  Administración de discos de sensibilidad de Ciprofloxacina de 5 ug	Nominal	SI  NO
Variable dependiente: Cepa de <i>Escherichia coli</i>	Es un bacilo gramnegativo de la familia de las enterobacterias que se encuentra en el tracto gastrointestinal de humanos y animales de sangre caliente.	Inhibición del crecimiento de colonias de <i>Escherichia coli</i>	Inhibición del crecimiento de bacterias medidas en mm alrededor de los discos de sensibilidad	DE RAZON	0 mm 1 mm 2 mm 3 mm 4 mm 5 mm 6 mm 7 mm 8 mm 9 mm A más

## 1.6. Metodología de la investigación

### 1.6.1. Tipo y nivel de la investigación

#### 1.6.1.1. Tipo de investigación

La investigación según su enfoque es cuantitativa, básico o fundamental según el propósito.

#### 1.6.1.2. Nivel de investigación

Nivel aplicativo, cuasi experimental, prospectivo, transversal.

## 1.6.2. Método y diseño de la investigación

### 1.6.2.1. Método de la investigación

Se utilizó el método científico aplicando los siguientes pasos: formulación del problema, formulación de los objetivos, formulación de la hipótesis, marco teórico, operacionalización de las variables, procedimiento de campo, resultados, conclusiones y recomendaciones.

### 1.6.2.2. Diseño de investigación

Se usó estadística descriptiva para la presentación de datos mediante tablas de frecuencias y gráficos, además de estadística inferencial para comparar los grupos usando la prueba de *t* de Student por ser variables cuantitativas.

## 1.6.3. Población y muestra de la investigación

### 1.6.3.1. Población

90 Placas Petri inoculadas con cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922

#### a) Criterios de Inclusión

- Cepas ATCC pertenecientes a cepas de *Escherichia coli*.
- Cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli*.

#### b) Criterios de exclusión

- Cepas aisladas de muestras diversas.
- Cepas diferentes a *Escherichia coli*.

### 1.6.3.2. Muestra

Se usó 30 placas Petri por grupo de estudio  $n=90$  por ser un muestreo no probabilístico por conveniencia, y para cumplir con la ley de la distribución central.

## 1.6.4. Procedimientos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

### 1.6.4.1. Procedimientos

#### Preparación de los medios de cultivo.

Se realizó de acuerdo a las instrucciones detalladas por el fabricante del producto. Siendo estos pesados, en los volúmenes indicados, para posteriormente realizar el procedimiento de autoclavado. El paso siguiente será realizar la repartición del agar en estado líquido sobre las placas Petri, posterior a ello al disminuir su temperatura se solidifica el medio.

#### Preparación del inóculo bacteriano

Se toma como inóculo de 3 a 5 colonias de la cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli* revitalizada; las mismas que conserven las mismas características en cuanto al mismo tipo de morfología, estos son resuspendidos en caldo cerebro corazón de 4 ml se lleva a un proceso de incubación en promedio de 2 a 6 horas, terminado el proceso se realiza la comparación del inóculo con un estándar de Mc Farland de 0.5, en el caso que la suspensión sea mayor, realizar el ajuste que sea necesario con solución salina fisiológica.

#### Inoculación de los medios de cultivo

Posterior al ajuste del inóculo, se introduce un hisopo dentro de la suspensión y al retirarlo rotar varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso e Inocular sobre la superficie agar Mueller-Hinton de las placas que la contienen, inocular mediante la técnica de dispersión por agotamiento sin dejar ninguna zona libre. Dejar secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos.

#### Dispensación de los discos

Previo a la dispensación de discos se realiza el rotulado respectivo y la división correspondiente cada una de las placas. Luego del

procedimiento anterior se coloca los discos previamente embebidos con el antimicrobiano seleccionado, en el caso del disco control positivo se coloca el disco directamente por venir ya el antibiótico ya en su composición. Al realizar el procedimiento se debe tener cuidado de que los discos estén en pegados a la superficie del agar. Posteriormente se incuba las placas a 35°C +/- 2 en atmósfera aeróbica antes de que transcurran 15 minutos. Las placas se incuban 24horas.

#### Lectura de los resultados.

Transcurridas las 24 horas se realizar la lectura de los halos de inhibición con la ayuda de una regla. Para posteriormente realizar el análisis de los datos encontrados.

#### 1.6.4.2. Técnicas

En el procedimiento se utilizó la técnica de difusión disco placa basada en la técnica de Kirby-Bauer para observar la inhibición de las bacterias observando el halo formado por los extractos en investigados.

#### 1.6.4.3. Instrumentos de recolección de datos

- Regla para medida del halo de inhibición.
- Ficha de recolección de datos.

#### 1.6.5. Justificación e importancia de la investigación

Las enfermedades infecciosas causadas por agentes bacterianos, en especial por la *Escherichia coli* representa un problema creciente debido a varias causas, una de estas razones, son el uso indiscriminado de antibióticos y el desarrollo de mecanismos de resistencia bacteriana hacia los mismos. Una de las acciones tomadas por los investigadores en respuesta a ello es la búsqueda de productos naturales con acción antimicrobiana demostrada en base a conocimientos determinados mediante el uso de método científico (9). Es por ello la importancia de la

presente investigación de evaluar dos productos naturales con acción antimicrobiana usada por la población de Juliaca de la región Puno de forma empírica en base a observaciones sobre la acción frente a distintas dolencias para las cuales son usadas. Si bien los agentes antimicrobianos (antibióticos), actúan sobre los microorganismos para poder para contrarrestar las enfermedades infecciosas, muchas personas no tienen acceso a antimicrobianos por su relativo costo elevado. Por otra parte, la medicina alternativa, tiene una preponderancia muy alta en la población, debido a su accesibilidad y eficacia frente a distintas dolencias (10).

El presente trabajo tiene importancia porque tiene por objetivo evaluar el efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo) con el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) para así validar su uso y determinar cuál de los dos productos en estudio tiene mejor acción antimicrobiana, pudiendo así beneficiar a la población de escasos recursos económicos que tienen acceso a estos productos, reflejando de esta forma el aporte de estos conocimientos de manera teórico y social acerca de los productos en estudio.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de la investigación

#### 2.1.1. Antecedentes internacionales

Jiménez. (2015). Realizó un estudio comparativo *in vitro* del efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*. En este estudio buscó determinar y comparar la efectividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de ajo blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*. Los extractos obtenidos por percolación se concentraron a 10%, 20%, 40% y 80%, después de activar la cepa se realizó la siembra a la escala 0,5 Mc Farland en 22 placas Petri, 10 con agar Mueller Hinton más sangre al 2% y 12 con agar sangre, aplicando la técnica Kirby-Bauer, colocando las cuatro concentraciones mencionadas en cada placa, éstas fueron incubadas a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 24h al 5% de CO<sub>2</sub>; se midió los halos de inhibición a las 24 horas. Los resultados se analizaron con la prueba U de Mann Whitney y se concluyó que no existen diferencias significativas entre el ajo blanco y púrpura, teniendo mayor efecto antibacteriano con el púrpura al 80% con un promedio de 22,9mm, y el menor efecto con ajo blanco al 10% con un promedio de 11,2mm (11).

Álvarez. (2014). Estudió la utilización del extracto del *Allium savitum* "Ajo" como antimicrobiano en pacientes con problemas periodontales". El uso de antibióticos en odontología como agente antimicrobiano profiláctico luego de realizar un tratamiento periodontal, puede conllevar muchos riesgos, como es de conocimiento general un tratamiento antimicrobiano que no es llevado a término provoca la resistencia bacteriana a ese antibiótico específicamente, e incluso provoca la resistencia a toda la familia de la cual procede dicho compuesto, lo que quiere decir es que ese antibiótico no será capaz de combatir esa bacteria. Muchos pacientes no son conscientes del grave problema que acarrea el provocar que las bacterias se vuelvan resistentes, muchas veces, el

paciente abandona los tratamientos antibióticos por descuido o malos consejos de terceros, pero prima el desconocimiento del gran daño que puede causar a su salud y a la de las personas que están más cerca, en la decisión de abandonar el tratamiento no solo influyen factores socio económicos, sino también culturales. La propuesta de este trabajo es la utilizar el extracto de *Allium Savitum* "Ajo" como antimicrobiano de uso profiláctico luego de realizar un tratamiento periodontal, con el fin de evitar la aparición de infecciones oportunistas que podrían atacar mientras el paciente se recupera del tratamiento, para el efecto se utilizó el extracto del *Allium Savitum* en forma de enjuague bucal, el mismo fue aplicado en varias ocasiones en el día, durante el tiempo que dure el tratamiento, para poder, de ese modo evitar que se produzcan infecciones y a su vez mejorar el tiempo en que se produce la recuperación del tejido lesionado durante el proceso de destartraje en el tratamiento periodontal y de igual forma ayudar a promover una cultura de uso responsable de los antibióticos (12).

Sánchez. (2013). Evaluó el Efecto inhibitorio de *Allium cepa* y *Allium sativum* sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*. La herbolaria tradicional tiene una amplia gama de productos que son utilizados para tratar enfermedades de diversa índole y que son de fácil acceso para productores de traspatio, quienes muchas veces no cuentan con los recursos necesarios para aplicar buenas prácticas de bioseguridad. Se ha comprobado que los principios activos de muchos productos naturales tienen efecto sobre diferentes tipos de bacterias, es por ello que se realizó un estudio del efecto inhibitorio que tienen los extractos de *Allium cepa* (cebolla) y *Allium sativum* (ajo) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*, las cuales son bacterias asociadas a trastornos entéricos de muchos animales y que también pueden afectar al hombre. Mediante un análisis en microplaca se determinó que se requieren cantidades de por lo menos 12.5 mg/ml de ajo para inhibir el crecimiento de las bacterias mencionadas. La cebolla no presentó resultados favorables en el análisis en microplaca, pero mediante la determinación de la tasa porcentual de eliminación se



observó que ejerce un efecto bactericida sobre las bacterias, concluyendo que se requieren al menos concentraciones mayores al 10% de su extracto para tener resultados favorables. A dicha concentración, tanto la cebolla como el ajo demostraron tener un efecto sobre *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*, por lo que puede utilizarse como una opción de desinfectantes biodegradables y económicos (13).

Asensio. (2013). Estudió la utilización de aceites esenciales de variedades de orégano como conservante antimicrobiano, antioxidante y de las propiedades sensoriales de alimentos: quesos cottage, ricota y aceite de oliva". En argentina se producen cuatro variedades de oréganos: Mendocino, Compacto, Cordobés y Criollo. Esta planta aromática además de ser consumida cotidianamente como aromatizante de comidas puede ser destinada a la producción de aceites esenciales. El uso de aceites esenciales como conservantes naturales cobra especial importancia en la industria alimenticia, ya que estos compuestos son reconocidos como seguros para ser usados en forma intencionada en alimentos. Los aceites esenciales de orégano constituyen una alternativa como potenciales agentes antioxidantes y antimicrobianos prolongando la vida útil de los alimentos, especialmente aquellos ricos en grasas insaturadas, como es el caso del aceite de oliva, y aquellos que tienen alta actividad agua y que son susceptibles al deterioro microbiano, como es el caso de los quesos de pasta blanda como la ricota y el Cottage. El objetivo de este trabajo de tesis fue evaluar *in-vitro* las propiedades antioxidantes y antimicrobianas de aceites esenciales de las variedades de orégano producidas en Córdoba, Argentina, y evaluar el efecto conservante de dichos aceites esenciales sobre alimentos con alto contenido graso como el aceite de oliva y de humedad como los quesos de pasta blanda (ricota y Cottage) para preservar la calidad química, sensorial, nutricional y microbiológica de dichos productos. Para responder a estos objetivos se realizaron a) la determinación de la composición físico-química de los aceites esenciales de orégano (AE) de las variedades Mendocino (Men), Compacto (Com), Cordobés (Cor) y Criollo (Crio), b) la actividad antioxidante de los aceites

esenciales mediante los test usados con mayor frecuencia para su determinación c) la actividad biocida de los aceites esenciales contra bacterias gram positivas y negativas, levaduras, hongos filamentosos y nemátodos; d) análisis sensoriales sobre productos alimenticios como queso ricota y aceite de oliva adicionados con aceites esenciales de orégano midiendo la aceptabilidad por parte de los consumidores y e) estudios de almacenaje para evaluar cambios químicos, sensoriales y microbiológicos que se producen en quesos de pasta blanda (ricota y Cottage) y aceite de oliva preparados con el agregado de aceites esenciales de orégano. Los diferentes aceites esenciales de orégano presentaron distinta composición química, actividad antioxidante y biocida. El aceite esencial Criollo presentó mayor actividad antimicrobiana con respecto a los demás aceites esenciales exhibiendo bajos valores de concentración mínima inhibitoria y con capacidad bactericida contra *Escherichia coli* y *Bacillus cereus* al igual que el aceite esencial Cordobés. El aceite esencial Mendocino fue el más aceptado sensorialmente en las pruebas de aceptabilidad por parte de los consumidores cuando se los incluyó en los alimentos. Los aceites esenciales tuvieron mayor actividad biológica pero presentaron menor aceptabilidad al ser incluidos en los alimentos. El aceite de oliva saborizado con aceite esencial Cordobés almacenado en Oscuridad presento mayor estabilidad y preservó con niveles mayores de intensidad los atributos sensoriales positivos del producto. En las muestras de queso Cottage el aceite esencial Cordobés mostró al final del almacenaje menores contenidos de ácidos láctico, acético y cítrico, y menor número de microorganismos mesófilos totales que el resto de los tratamientos. También estas muestras presentaron mejor relación de ácidos grasos saturados/insaturados al final del almacenaje resultados que indican que el aceite esencial Cordobés tiene una muy buena actividad antioxidante y antimicrobiana cuando es aplicada sobre alimentos. En general los aceites esenciales de especies de orégano presentaron buena aptitud para la conservación de alimentos impidiendo el deterioro oxidativo en aceite de oliva y en quesos (ricota y Cottage),

además de mostrar buena actividad antimicrobiana en productos con alta actividad agua como el queso Cottage (14).

### 2.1.2. Antecedentes nacionales

Munayco (2012). Investigó el efecto antimicrobiano y antifúngico del extracto de *Allium sativum* frente a las cepas estándar American Tipe Culture Collection (ATCC) de *Streptococcus mutans*, *Capnocytophaga sputigena*, *Lactobacillus casei* y *Cándida albicans* a diversas concentraciones. Obtuvo el extracto por el proceso de maceración, utilizando el ciprofloxacino y el fluconazol como control positivo de las bacterias y hongo, respectivamente; y el alcohol de 70° como control negativo. Al realizar las pruebas de sensibilidad con el extracto a las concentraciones de 12 mg/mL, 18 mg/mL 30 mg/mL, 60 mg/mL, 90 mg/mL, 120 mg/mL, se obtuvo los siguientes resultados: La concentración antimicrobiana frente al *Capnocytophaga sputigena*, *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*, fue de 120 mg/mL, teniendo como referencia al estándar al ciprofloxacino a una concentración de 4 mg/ml y fluconazol a una concentración de 2 mg/ml. Los resultados tienen una distribución normal al 95 % de nivel de confianza. Con la prueba de Bartlett's, la varianza a distintas concentraciones fue igual con un 95 % de nivel de confianza. La concentración de 120 mg/mL, según la prueba de Anova tiene punto de intersección por lo que se planteó un Re-tets. Según esta prueba, la concentración de 120 mg/mL comparada con el estándar demostró que los resultados son estadísticamente iguales. Este estudio concluyó que el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* presentó efecto antimicrobiano frente a la cepa ATCC de *Streptococcus mutans*, *Capnocytophaga sputigena*, y *Cándida albicans* a excepción de *Lactobacillus casei* que presentó resistencia (15).

Maraví. (2012). Evaluó el efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de: *Menta piperita* (menta), *Origanum vulgare* (orégano) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* y *Cándida albicans*. El objetivo de la investigación fue determinar el efecto antibacteriano y antifúngico *in vitro*

del aceite esencial de: *Menta piperita* (Menta), *Origanum vulgare* (Orégano) y *Cymbopogon citratus* (Hierba Luisa) mediante el método de difusión en agar con disco, sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *Cándida albicans* ATCC 90028. Los aceites esenciales de dichas plantas se obtuvieron por el método de arrastre por vapor de agua. Para realizar el análisis microbiológico, se utilizó el aceite esencial de Menta al 50 y 100%, Orégano al 50 y 100% y Hierba Luisa al 50% y 90%, asimismo, para obtener concentraciones al 50% y 90%, éstas se diluyeron en agua destilada y dimetilsulfóxido. Estos aceites esenciales, fueron comparados con Nistatina como control positivo (para los hongos) y Gluconato de Clorhexidina al 0.12% (para las bacterias) y como controles negativos se utilizó: agua destilada y dimetilsulfóxido. Al realizar las pruebas de sensibilidad *in vitro* se obtuvieron los siguientes resultados: De los tres aceites esenciales, el que tuvo mayor efecto sobre *Streptococcus mutans* fue el Orégano, frente a *Lactobacillus acidophilus* y *Candida albicans* fue la Hierba Luisa. El aceite esencial de Orégano y Hierba Luisa tienen mayor efectividad antibacteriana y antifúngica que los controles positivos: Clorhexidina al 0.12% y Nistatina, a excepción de la *Menta piperita* (Menta) al 50% que su acción fue menor que los controles positivos (16).

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. *Allium sativum* (Ajo)

El ajo (*Allium sativum* L.) (17). Su nombre es debido a sus características olorosas el cual le confirió la denominación de *allium*. Además su género alberga más de 300 especies. Es una planta de tallo erguido, cilíndrico; con hojas planas y delgadas, tiene un bulbo sólido formado de bulbillos, llamados también dientes, flores blanquizcas o rojizas. Las partes usadas son los bulbillos o dientes (18). El fuerte olor característico que produce esta especie es atribuida a dos sustancias volátiles; la alicina y el disulfuro de alilo (19).

### 2.2.1.1. Composición química

Los bulbillos o dientes de ajo (*Allium sativum*) tiene un alto contenido de agua, aproximadamente el 65%, además se encuentra numerosos componentes activos tales como: sales minerales (selenio), azúcares, lípidos, aminoácidos esenciales, saponósidos, terpenos, vitaminas, enzimas, flavonoides y otros compuestos fenólicos. Sin embargo en cuanto a principios activos con acción antimicrobianos los más importantes lo representan sus compuestos azufrados (20, 21).

En su forma natural, sin ninguna alteración a nivel sus bulbillos, la principal sustancia es la aliína o sulfóxido de S-alil-cisteína (aminoácido azufrado), también encontramos sulfóxidos S-metil-L-cisteína y S-propenil-S-cisteína, S-glutación, g-glutamil-S-alil cisteína, y g-glutamil-S-alil-mercapto-L-cisteína (22). La aliína, es una sustancia inodora e inestable, cuando el ajo es machacado o triturado, la aliína es transformada en alicina entre otros compuestos azufrados (tiosulfatos), por la acción de la enzima aliinasa. Estos a su vez se transforman en otros compuestos organosulfurados: sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo, trisulfuro de dialilo y ajoenos (21).

#### a) Alicina

La actividad antimicrobiana del ajo (*Allium sativum*) fue reportado por Cavallito en 1944 y su componente activo disulfuro dialilo fue nombrado alicina. Stoll et al en 1951 confirmó que la alicina deriva de la acción de la encima allinasa sobre la aliina. Posteriormente Dankert et al en 1979 examinaron los extractos crudos de ajo (*Allium sativum*), en la prueba de difusión en agar, el efecto inhibitorio sobre bacterias tanto gram negativas como gram positivas, en esta prueba los microorganismos son inhibidos por el extracto de ajo (21, 23).

El trisulfuro de dialilo es el producto final de transformación de la alicina este cumple también tiene actividad antibacteriana, antifúngica y antiparasitaria (21).

La alicina se obtiene después de un proceso de lisis celular, liberándose así la aliina sobre la cual actúa la allinasa dando como producto a la alicina esta sustancia tiene actividades antimicrobianas contra una amplia gama de bacterias Gram negativas y Gram positivas, la actividad antifúngica, actividad antiparasitaria, y actividad antiviral (23).

La forma de determinar que un compuesto posee actividad antimicrobiana se basa en dos características principales. Primero, el compuesto debe ser capaz de alcanzar los objetivos potenciales y, si éstos son intracelulares, significa que debe ser capaz de ingresar dentro de la célula microbiana, tiene que penetrar la pared celular bacteriana, la membrana celular y además de estos dos límites, las cápsulas de ciertas bacterias pueden constituir una capa adicional de la resistencia. La alicina demostró que difunde a través de estas membranas. Las diferencias estructurales de las bacterias en cuanto a su composición de polisacáridos y lípidos de su pared celular tienen un efecto sobre la permeabilidad de la alicina y a su vez se ven reflejados en la capacidad antibacteriana de la alicina. El efecto antimicrobiano de alicina se debe a su reacción química con los grupos tiol de las enzimas diferentes, por ejemplo, alcohol deshidrogenasa, la tiorredoxina reductasa, y la ARN polimerasa; los cuales se ven afectados en su función en las bacterias por lo que conlleva a la muerte celular de la bacteria (21, 23).

#### 2.2.1.2. Propiedades antimicrobianas

Las propiedades antimicrobianas del extracto de *Allium sativum* (ajo) cuyo principal componente activo es la alicina, al cual se le atribuye

propiedades antimicrobianas, indican la eficacia sobre una amplia gama de bacterias, algunos protozoarios, de la misma forma hongos y también algunos virus aunque con limitada información documentada al respecto (24).

Las propiedades antibacterianas del ajo demuestran un amplio espectro antibacteriano sobre bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas incluyendo especies de *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, y *Clostridium*. Incluso las bacterias ácido-resistentes tales como *Mycobacterium* la tuberculosis son sensibles al ajo (22).

La acción de *Allium sativum* sobre protozoarios inhibe el crecimiento de parásitos como *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, tripanosomas, *Leishmania major*, *Leptomonas colosoma* y *Fasciculata crithidia* (24).

Los hongos muestran sensibilidad hacia la alicina estos incluyen por ejemplo *Cándida*, *Cryptococcus*, *Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum*. La alicina inhibe tanto la germinación de las esporas y el crecimiento de las hifas. El modo de acción de la alicina en la hongo aún no se ha dilucidado, pero se cree que actúa en encimas tiol (23).

En cuanto a sus propiedades sobre los virus se dispone de información muy reducida al respecto. Entre los virus que son sensible a los extractos de ajo son el citomegalovirus humano, influenza B, Virus Herpes simplex tipo 1, herpes simple virus de tipo 2, virus vaccinia, virus de la estomatitis vesicular, y el tipo rinovirus humano (23).

### 2.2.2. *Origanum vulgare* (Orégano)

El orégano (*Origanum vulgare*). Pertenece a la familia Lamiaceae (17). Su género alberga a más de dos docenas de diferentes especies de plantas, presenta un olor característico a especias. El tamaño aproximado de esta planta llega alrededor de unos 45 cm de alto. Los

tallos de color rojizo, con hojas ovaladas, de color verde claro y tallos erguidos y ramificados, presentan flores rosas y en algunos casos blancos, apretados en densos capítulos, formando panículas, con largas brácteas de color púrpura y numeroso estambres salientes (25). La esencia aromática se encuentra en unas pequeñas glándulas en toda la planta, compuesto por un estearopteno y dos tipos de fenoles, principalmente carvacrol y en menor proporción timol. Las raíces contienen estaquiosa y los tallos sustancias tánicas (26).

La composición y la cantidad de los metabolitos secundarios de estas plantas dependen de factores climáticos, la altitud, la época de cosecha, y su estado de crecimiento. Por lo anterior el estudio de dichos factores y su influencia en su cultivo es importante para su mejor aprovechamiento y explotación. El p-cimeno y los derivados fenólicos carvacrol y timol han sido encontrados en diversas hierbas y especias incluyendo el orégano. Estas sustancias son monoterpenoides representativos de un pequeño grupo de compuestos aromáticos que la naturaleza produce vía la ruta del mevalonato seguido por compuestos aromáticos (27).

#### 2.2.2.1. Composición química del orégano

En cuanto a la composición y concentración de sustancias activas presentes en esta planta depende en general de varios, uno de los más influyentes son las condiciones climáticas, época de cosecha, altitud a la cual es producida, etc. En este sentido, cabe señalar que, será diferente evaluar el aceite esencial de orégano con un extracto del mismo, dependiendo de las condiciones en las que se realiza estas extracciones, y de la procedencia de las plantas (27).

La composición química del *Origanum vulgare* de extractos acuosos y sus aceites esenciales. Se logró determinar la presencia de flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano (28). En la especie de *Origanum vulgare* se han encontrado ácidos



coumérico, ferúlico, caféico, hidroxibenzóico y vainillínico. Los principales componentes de la especie *Origanum vulgare* son el carvacrol y el timol con sus respectivas enzimas. Las concentraciones de estas sustancias en el aceite esencial varían de acuerdo a época de la recolección y a altitud. Los hidrocarburos monoterpenoides  $\gamma$ -terpineno y  $r$ -cimeno se encuentran presentes en los aceites esenciales en cantidades menores en comparación a las concentraciones de carvacrol y el timol (27).

a) Aceite esencial de orégano y sus componentes fenólicos

Los compuestos fenólicos de los aceites esenciales de orégano, carvacrol y timol, que estructuralmente presentan parecida composición variando solo en la localización del grupo hidroxilo en el anillo fenólico, han demostrado tener actividad antimicrobiana actuando a nivel de la membrana de celular, afectando la permeabilidad de la bacteria, de esta forma ejerce su acción antibacteriana (27).

#### 2.2.2.2. Propiedades antimicrobianas

En muchas investigaciones se evaluó la actividad del aceite esencial de orégano encontrándose actividad contra bacterias Gram negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* y *Enterobacter cloacae*; y gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis*. En cuanto a su acción sobre los hongos presenta acción sobre *Cándida albicans*, *Aspergillus Níger*, *Geotrichum* y *Rhodotorula* (27).

En las bacterias Gram negativas, los compuestos fenólicos que componen el aceite esencial de orégano actúa sobre los fosfolípidos presentes en la membrana externa promoviendo así cambios en cuanto a la composición de ácidos grasos y consecuentemente inhibiendo de esta forma su desarrollo (29).

### 2.2.3. Ciprofloxacino

Es un antibiótico perteneciente al grupo de las fluoroquinolonas (Quinolonas de segunda generación) con efectos bactericidas, cuyo mecanismo de acción radica en actuar sobre una enzima llamada ADN girasa en microorganismos Gram negativos y la topoisomerasa en microorganismos Gram positivos (30). De esta forma el material genético de la bacteria no puede ser replicada, deteniendo así la proliferación de la bacteria finalmente muere sin proliferar (31).

Su estructura básicamente se deriva de todas la quinolonas con la diferencia de la introducción de un átomo de flúor en el carbono 6 y un anillo de piperazina en el carbono 7. Estas estructuras mejoran las características en relación a sus propiedades farmacocinéticas demostrando tener buena absorción oral y amplia distribución tisular (30).

Su espectro es mayor en relación a las quinolonas de primera generación, sin embargo debido al uso creciente las bacterias generan mecanismos de resistencia alterando los puntos blancos de acción de este antibiótico. Sobre los mecanismos de resistencia se pueden señalar los siguientes: alteración de la Gyr A (girasa A), alteración de la Gyr B (girasa B), alteración de la topoisomerasa IV, dificultad el paso del antibiótico a través de la pared bacteriana y exceso de salida por alteración de los mecanismos de flujo externo (30).

### 2.2.4. *Escherichia coli*

*Escherichia Coli* es un bacilo Gram negativo perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, es un microorganismo frecuentemente aislado en muestras biológicas (32). Forma parte de la flora bacteriana comensal del intestino del ser humano y de mamíferos de sangre caliente (33).

En 1885 el microbiólogo alemán Theodore von Escherich, su descubridor, la llamo *Bacterium coli commune*, sus hallazgos fueron de estudio. Actualmente es conocido con *Escherichia coli*, en honor a su

descubridor. Normalmente no causa infección en el organismo en el que se encuentre como comensal, excepto en aquellos cuya inmunidad este deprimida (32).

Para la determinación del grupo patógeno al que pertenecen Kauffman desarrolló un esquema de serotipificación que continuamente varía y que actualmente tiene 176 antígenos somáticos (O), 112 flagelares (H) y 60 capsulares (K). El antígeno "O" es el responsable del serogrupo; la determinación del antígeno somático y flagelar (O:H) indica el serotipo, el cual en ocasiones se asocia con un cuadro clínico en particular (34).

La *Escherichia coli* puede ser aislada de diferentes muestras en sus respectivos medios desarrollados para tal fin, es un microorganismo de crecimiento rápido, haciéndolo adecuado para la determinación del antibiograma en el que se evalúa la capacidad de un antimicrobiano frente a este microorganismo (35). Para posteriormente proponer un esquema de tratamiento para contrarrestar su desarrollo. Las cepas patógenas de *Escherichia coli* se clasifican de siguiente forma enterotoxigénica, enterohemorrágica, enteroinvasiva, enteropatógena, enteroagregativa, de adherencia difusa. Cada uno de los microorganismos mencionados genera patogenicidad mediante diferentes mecanismos (34).

#### 2.2.4.1. Método para determinar la susceptibilidad ante agentes antimicrobianos

La generación de resistencias de los microorganismos a los antimicrobianos hace necesaria la determinación de sensibilidad de los microorganismos frente a distintos antimicrobianos por medio del uso de distintos métodos. Siendo esta, el estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos, una de las funciones más importantes de los laboratorios de microbiología. Su realización permite evaluar la respuesta in vitro de un microorganismo a diferentes antimicrobianos, para posteriormente determinar su

eficacia in vivo, de acuerdo a las distintas características del antimicrobiano (36).

El procedimiento para su realización debe estar determinado en esquemas de trabajo que aseguren resultados que se reflejen en el tratamiento que permita la correcta elección del antimicrobiano en infecciones sobre pacientes a los cuales se les realiza este análisis (37).

a. Método de difusión en disco – placa

Basado en la técnica descrita y estandarizada por Kirby-Bauer en el año 1966, desde entonces este método es recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de Instituto de Estándares clínicos y de laboratorio (por sus siglas en ingles CLSI), con sede en los Estados Unidos (37). Tienen la ventaja de ser altamente reproducibles, recomendado principalmente para el estudio de Enterobacterias (36).

El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de Petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante (papel filtro de 6mm) impregnados con los diferentes antibióticos (37). El disco al ponerse en contacto con la humedad del agar absorbe el agua y el antimicrobiano difunde radialmente a través del espesor del agar formándose así una gradiente de concentración (38). Es una metodología aplicable a una amplia variedad de bacterias, fundamentalmente bacterias aerobias no exigentes de crecimiento rápido como la *Escherichia coli*. Este método se realiza en agar Mueller-Hinton porque permite obtener resultados reproducibles debido a que en el crecen la mayor parte de bacterias que causan patologías de tipo infecciosas. Las lecturas son realizadas a las 18 - 24 horas las cuales serán leídas y posteriormente interpretados como

sensible (S), intermedia (I) o resistente (R) según las categorías establecidos por el CLSI (37).

### 2.3. Definición de términos básicos

**Antimicrobiano:** sustancia que destruye los microorganismos, tales como bacterias, hongos o parásitos que impide su multiplicación o crecimiento (39).

**In vitro:** dentro de un cristal, se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo o un entorno artificial controlado fuera de un organismo vivo (39).

**Cultivo:** método para la propagación de microorganismos tales como bacterias, hongos y parásitos (cuando nos referimos a áreas de microbiología) vivas en medios propicios, para su desarrollo, como un método fundamental para el estudio de las bacterias y otros microorganismos (39, 40).

**Colonias:** término utilizado ampliamente como un grupo de seres vivos organizados bajo bases cooperativas, grupo discreto de microorganismos, como un conjunto de bacterias en un cultivo (40).

**Cepa:** en microbiología se define como grupo de microorganismos pertenecientes a una misma especie o variedad caracterizados por alguna cualidad en particular. Puede definirse como un conjunto de especies bacterianas que comparten, al menos, una característica (39, 40).

**Resistencia:** oposición o fuerza que contrarresta. Capacidad natural que tiene un organismo a resistir los efectos de un fármaco. La resistencia se produce naturalmente por selección natural a través de mutaciones producidas por azar. Si una bacteria porta varios genes de resistencia, se le denomina multirresistente (39, 40).

## CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

### 3.1. Análisis de tablas y gráficos

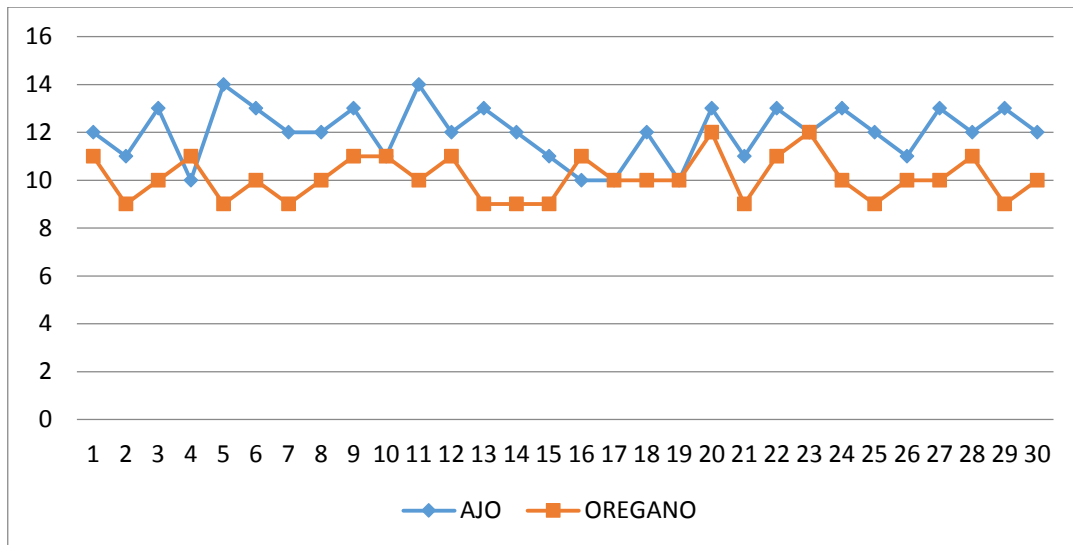
**Tabla n°1: Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo) y del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016**

		Ajo		Orégano	
		N	%	N	%
Halo inhibitorio	9 mm	0	0	9	30
	10 mm	4	13.3	11	36.7
	11 mm	5	16.7	8	26.7
	12 mm	10	33.3	2	6.7
	13 mm	9	30	0	0
	14 mm	2	6.7	0	0
	Total	30	100	30	100

**Fuente:** Matriz de datos.

**Elaborado:** Por el investigador.

**Gráfico n°1: Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo) y del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016**



**Fuente:** Matriz de datos

**Elaborado:** por el investigador.

Interpretación y análisis

En la tabla N° 01 y gráfico N° 01, en la muestra estudiada según la lectura de los halos inhibitorios, el extracto de *Allium sativum* tuvo mayores valores de inhibición que el aceite esencial de *Origanum vulgare*, teniendo una frecuencia mayor alrededor de los 12 mm. Los valores de inhibición del aceite esencial de orégano presentan una frecuencia mayor alrededor de los 10 mm.

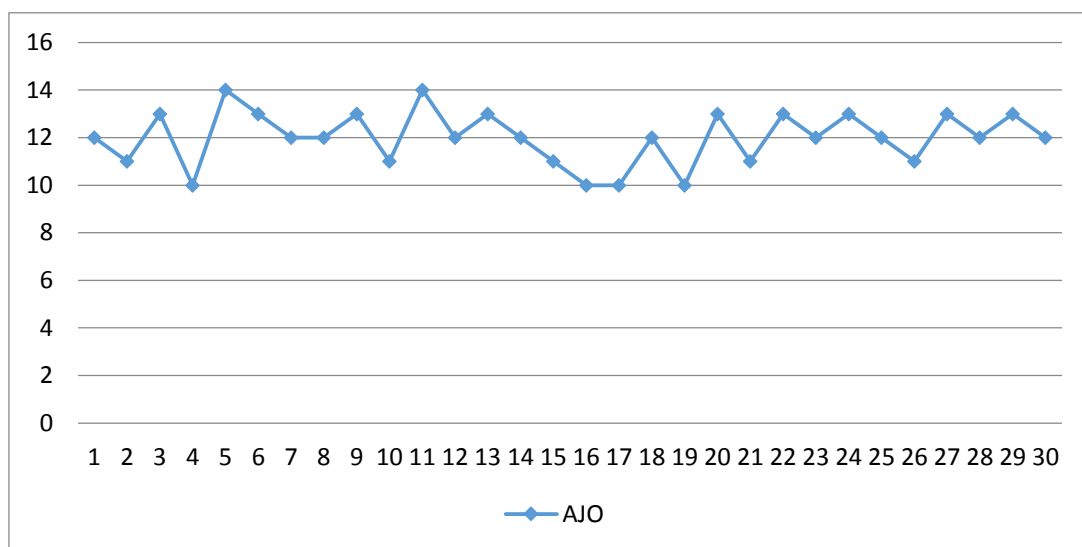
**Tabla n°2: Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016**

		N	%
Halo inhibitorio	10 mm	4	13.3
	11 mm	5	16.7
	12 mm	10	33.3
	13 mm	9	30
	14 mm	2	6.7
Total		30	100

**Fuente:** Matriz de datos

**Elaborado:** por el investigador.

**Gráfico n°2: Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016**



**Fuente:** Matriz de datos

**Elaborado:** por el investigador.



### Interpretación y análisis

En la tabla N° 02 y gráfico N° 02, al evaluar el efecto inhibitorio del extracto de ajo podemos observar que el 33.3% de las medidas realizadas presenta una medición de 12mm, 30% presenta halos de inhibición de 13mm, 16.7% presenta halos de inhibición de 11mm, 13.3% presenta halos de inhibición de 10mm y 6.7% presenta halos de inhibición de 14mm. En suma todos representan el 100% de las mediciones. De a partir de estos datos podemos determinar que el extracto de ajo tiene una inhibición mayor en frecuencia con halos de 12mm.

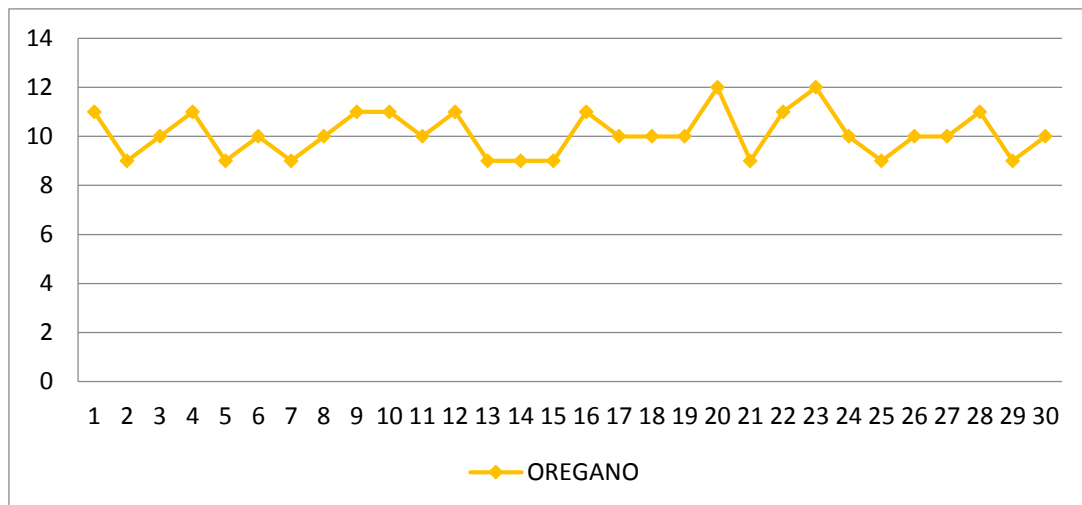
**Tabla n°3: Efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016**

		Orégano	
		N	%
Halo inhibitorio	9 mm	9	30
	10 mm	11	36.7
	11 mm	8	26.7
	12 mm	2	6.6
Total		30	100

**Fuente:** Matriz de datos

**Elaborado:** por el investigador.

**Gráfico n°3: Efecto antimicrobiano *in vitro* del *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016**



**Fuente:** Matriz de datos

**Elaborado:** por el investigador.

### Interpretación y análisis

En la tabla N° 03 y gráfico N° 03, en las mediciones realizadas a los halos de inhibición producidas por el aceite esencial de orégano, sobre colonias de *Escherichia coli*, 36.7% presenta medidas de 10mm, 30% presenta medidas de 9mm, 26.7% presenta medidas de 11mm y un 6.6% presenta medidas de 12mm, sumados todos estos porcentajes hacen un total del 100% de las medidas de inhibición. Observando estos datos encontramos que el mayor porcentaje en frecuencia representa los halos de 10mm.

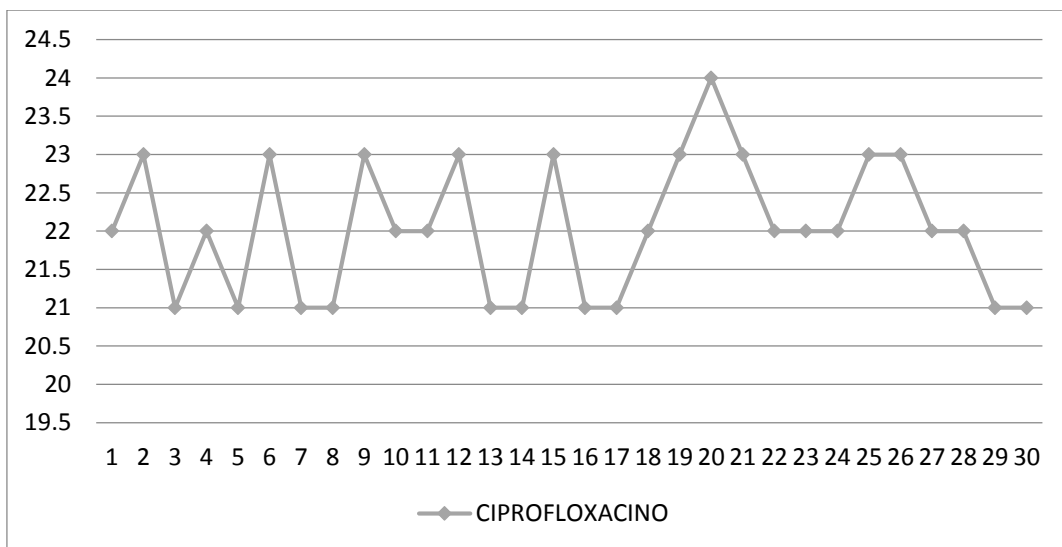
**Tabla n°4: Efecto antimicrobiano *in vitro* del Ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016**

		N	%
	21 mm	10	33.3
Halo	22 mm	10	33.3
inhibitorio	23 mm	9	30
	24 mm	1	3.4
Total		30	100

**Fuente:** Matriz de datos

**Elaborado:** por el investigador.

**Gráfico n°4: Efecto antimicrobiano *in vitro* del Ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016**



**Fuente:** Matriz de datos

**Elaborado:** por el investigador.

### Interpretación y análisis

En la tabla N° 04 y gráfico N° 04, de acuerdo a las mediciones de los halos de inhibición del Ciprofloxacino sobre cepas de Escherichia Coli, se observa que 33.3% presenta halos de inhibición de 21mm, de igual forma 33.3% presenta halos de inhibición de 22mm, 30% presenta halos de 23mm y el 3.4% restante presenta halos de 24mm, sumados todos los porcentajes mencionados hacen una suma total de 100%. Esto nos permite determinar que en las medidas de los halos de inhibición obtenidas del Ciprofloxacino las medidas con mayor frecuencia son de 21mm y 22 mm, correspondiendo a cada uno de ellos un porcentaje de 33.3%.

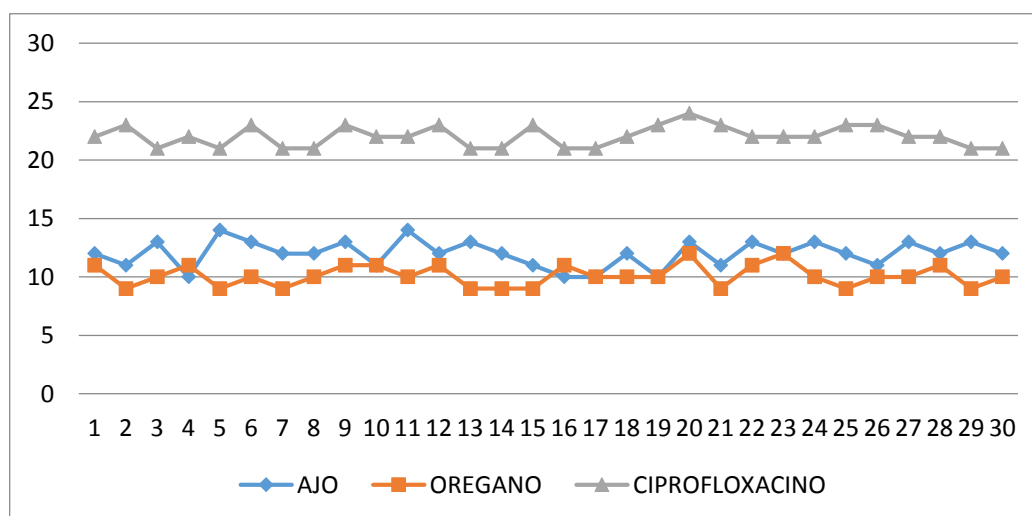
**Tabla n°5: Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo), *Origanum vulgare* (orégano) y Ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016**

		Ajo		Orégano		Ciprofloxacino	
		N	%	N	%	N	%
Halo inhibitorio	9 mm	0	0	9	30	0	0
	10 mm	4	13.3	11	36.7	0	0
	11 mm	5	16.7	8	26.7	0	0
	12 mm	10	33.3	2	6.7	0	0
	13 mm	9	30	0	0	0	0
	14 mm	2	6.7	0	0	0	0
	21 mm	0	0	0	0	10	33.3
	22 mm	0	0	0	0	10	33.3
	23 mm	0	0	0	0	9	30
	24 mm	0	0	0	0	1	3.4
	Total	30	100	30	100	30	100

**Fuente:** Matriz de datos

**Elaborado:** por el investigador.

**Gráfico n°5: Efecto antimicrobiano *in vitro* del extracto de *Allium sativum* (ajo), *Origanum vulgare* (orégano) y Ciprofloxacino sobre colonias de *Escherichia coli* Juliaca – 2016**



### Interpretación y análisis

En la tabla N° 05 y gráfico N° 05, al realizar una comparación de los tres antimicrobianos en evaluación las medidas más frecuentes para el extracto de ajo fueron 12mm que representan el 33.3% del total de las medidas realizadas a los halos que produce el extracto de ajo, además de esto se puede observar que la máxima medida de halos de inhibición producida por el extracto de ajo es de 14mm representando estas medidas el 6.7% del total de medidas realizadas a los halos de inhibición del ajo. En cuanto a los halos de inhibición producidas por el aceite esencial de orégano la mayor frecuencia es para 10mm presentando el 36.7% del total de los halos producidas por el aceite esencial de orégano, la máxima medida de inhibición para el aceite de orégano representa la medida de 12mm que en porcentaje representa el 6.7%. Con respecto a las medidas del Ciprofloxacino la mayor frecuencia se observa en medidas de 21mm y 22mm que en porcentajes cada uno con 33.3% y la mayor medida de los halos de inhibición correspondiente al Ciprofloxacino es de 24mm que en porcentaje representa el 3.4% del total de las medidas para este antimicrobiano.

**Tabla n°6: Estadística descriptiva del efecto antimicrobiano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo), aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) y Ciprofloxacino sobre colonias de *Escherichia coli* en puno – 2016**

<b>Antibacteriano</b>	<b>Media (X)</b>	<b>Desviación estándar (S)</b>
Ajo	12	1.14
Oregano	10.1	0.92
Ciprofloxacino	22.03	0.89

Interpretación y análisis:

El promedio de inhibición mayor fue logrado por el Ciprofloxacino mostrando una media de 22.03, así mismo con una desviación estándar menor correspondiente a 0.89, nos indica que la inhibición es más consistente cuando se usa Ciprofloxacino.

**3.2. Contrastación de hipótesis**

3.2.1. Prueba de la hipótesis general mediante el uso de la T de Student

3.2.1.1. Planteamiento de hipótesis estadística:

a) Hipótesis General

Ho: El extracto de *Allium sativum* (ajo) no tiene un mejor efecto antimicrobiano in vitro que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016

Hi: El extracto de *Allium sativum* (ajo) tiene un mejor efecto antimicrobiano in vitro que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016



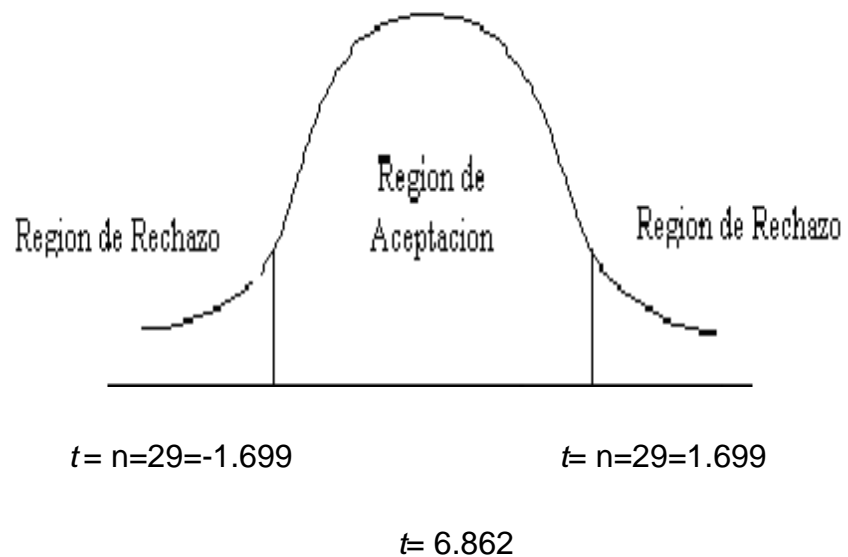
b) Nivel de Significancia:

$$\alpha = 0.05$$

c) Estadística de prueba

$$T = \frac{Z}{\sqrt{V/\nu}} = Z \sqrt{\frac{\nu}{V}}$$

d) Regla de Decisión.



Como la  $t = 6.862$ , esta cae en la zona de rechazo de la  $H_0$ , por lo tanto se rechaza la  $H_0$  y se acepta la  $H_1$ .

**Conclusión:** Al determinar el p-valor = 0.00 = 0.00%, y un nivel de significancia del 0.05, con una probabilidad de error del 0.00% El extracto de *Allium sativum* (ajo) tiene un mejor efecto antimicrobiano in vitro que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016.

### 3.2.2. Prueba de las hipótesis específicas mediante el uso de la T de Student

#### 3.2.2.1. Planteamiento de hipótesis estadística específica 4 parte 1:

a) Hipótesis General

Ho: Al comparar in vitro el efecto antimicrobiano del Ciprofloxacino no es superior al extracto de *Allium sativum* (ajo) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016

Hi: Al comparar in vitro el efecto antimicrobiano del Ciprofloxacino es superior al extracto de *Allium sativum* (ajo) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016

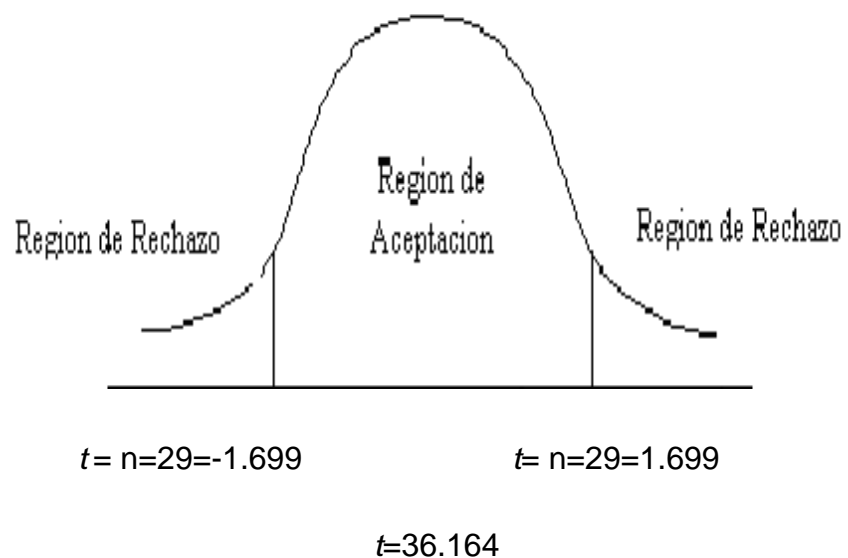
b) Nivel de Significancia:

$$\alpha = 0.05$$

c) Estadística de prueba

$$T = \frac{Z}{\sqrt{V/\nu}} = Z \sqrt{\frac{\nu}{V}}$$

d) Regla de Decisión.



Como la  $t=36.164$ , esta cae en la zona de rechazo de la  $H_0$ , por lo tanto se rechaza la  $H_0$  y se acepta la  $H_1$ .

**Conclusión:** Al determinar el p-valor= 0.00 = 0.00%, y un nivel de significancia del 0.05, con una probabilidad de error del 0.00% Al comparar in vitro el efecto antimicrobiano del Ciprofloxacino es superior al extracto de *Allium sativum* (ajo) sobre cepa de *Escherichia coli*.

### 3.2.3. Prueba de las hipótesis específicas mediante el uso de la T de Student

#### 3.2.3.1. Planteamiento de hipótesis estadística específica 4 parte 2:

a) Hipótesis General

$H_0$ : Al comparar in vitro el efecto antimicrobiano del Ciprofloxacino no es superior al aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016

$H_1$ : Al comparar in vitro el efecto antimicrobiano del Ciprofloxacino es superior al aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016

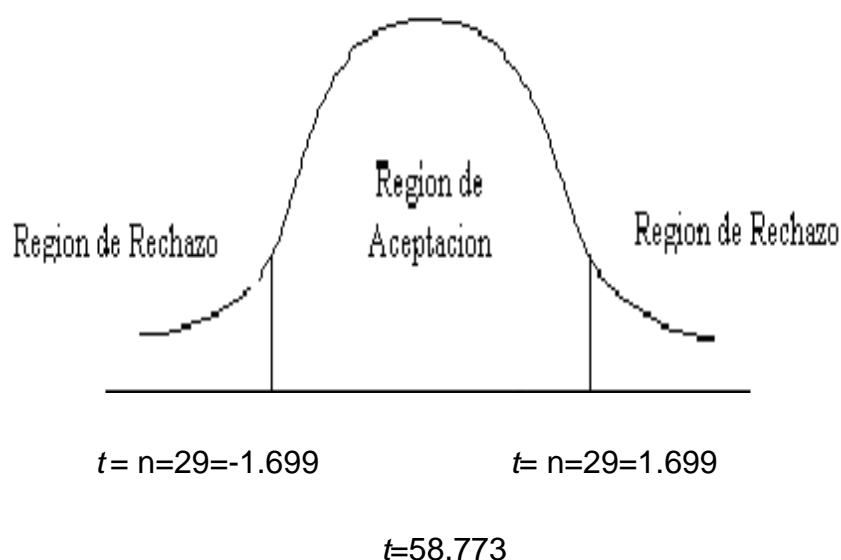
b) Nivel de Significancia:

$$\alpha = 0.05$$

c) Estadística de prueba

$$T = \frac{Z}{\sqrt{V/\nu}} = Z \sqrt{\frac{\nu}{V}}$$

d) Regla de Decisión.



Como la  $t=58.773$ , esta cae en la zona de rechazo de la  $H_0$ , por lo tanto se rechaza la  $H_0$  y se acepta la  $H_1$ .

**Conclusión:** Al determinar el p-valor= 0.00 = 0.00%, y un nivel de significancia del 0.05, con una probabilidad de error del 0.00% Al comparar in vitro el efecto antimicrobiano del Ciprofloxacino es superior al extracto de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli* Juliaca – 2016.

### 3.3. Discusión

Las investigaciones para determinar el efecto antimicrobiano de productos naturales, van encaminadas al desarrollo e investigaciones de nuevos principios activos para contrarrestar los males producidos por agentes infecciosos que constantemente desarrollan mecanismos de resistencia hacia los antibióticos de uso común.

La presente investigación en la evaluación de efecto antimicrobiano del extracto de *Allium sativum* no concuerda con lo hallado por: **Jiménez**; en cuanto a que investigo el efecto antimicrobiano del ajo pero en otra cepa bacteriana de aquí que se puede inferir que las diferencias se hallan en las estructuras celulares de las bacterias en estudio; **Munayco**; realizó una investigación sobre estándares bucales siendo estas diferentes a la *Escherichia coli* y de misma forma que el anterior estudio se puede mencionar que es debido al tipo de microorganismo cuyas características

son diferentes a los usados en la presente investigación; **Sánchez**; por su parte realizo una investigación utilizando otro método de evaluación del efecto antimicrobiano por lo cual los resultados no pueden ser comparados; **Álvarez**; estudio el efecto antimicrobiano basándose en la utilización del extracto de ajo en pacientes con problemas de salud dental, desde luego sus resultados no pueden ser comparados con los del presente estudio. Sin embargo sus resultados, pese a no concordar directamente con el presente estudio, muestran alentadores resultados con respecto al uso de antimicrobianos de origen natural.

La evaluación de efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Origanum vulgare* la presente investigación no concuerda con lo hallado por: Asencio; quien investigo el uso del aceite esencial de *Origanum vulgare* en la conservación de algunas variedades de queso y aceite de oliva, utilizando otra técnica para el análisis del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano; **Maraví**; por su parte evaluó el efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano y otros productos de origen natural pero usando microorganismos diferentes al usado en la presente investigación. Se debe mencionar que en estos estudios si bien no se encuentran similitudes significativas los hallazgos respaldan en gran medida a los hallados en la presente investigación.

### 3.4. Conclusiones

- El extracto de *Allium sativum* (ajo) tiene un mejor efecto antimicrobiano in vitro que el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli*.
- Existe un buen efecto antimicrobiano in vitro del extracto de *Allium sativum* (ajo) sobre cepa de *Escherichia coli*
- Existe un efecto antimicrobiano irregular in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli*.

- Existe un buen efecto antimicrobiano in vitro de la Ciprofloxacino sobre cepa de *Escherichia coli* es bueno.
- Al comparar in vitro el efecto antimicrobiano del Ciprofloxacino es superior al extracto de *Allium sativum* (ajo) y el aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) sobre cepa de *Escherichia coli*.

### **3.5. Recomendaciones**

- Hacer estudios sobre los productos estudiados incluyendo el análisis de la composición de los extractos y aceites esenciales, para poder determinar el efecto antimicrobiano en diferentes concentraciones de las preparaciones.
- Determinar el efecto antimicrobiano del extracto de *Allium sativum* y aceite esencial de *Origanum vulgare* frente a otros microorganismos patógenos.
- Para estudios posteriores utilizar microorganismos aislados de muestras clínicas, para evaluar su efectividad.
- Se sugiere un mayor tamaño de muestras.
- Realizar las investigaciones con cepas diferentes a la *Escherichia coli*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pérez H, Robles A. Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Guadalajara Revista Médica MD*. 2013; 4 (3): 86-191.
2. Avello M, Cisternas I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Rev méd Chile*. 2010;138 (10): 1288-93.
3. Rhoegas P. Libro blanco de los herbolarios y las plantas medicinales. 1º ed. Madrid: Fundación Salud y Naturaleza (S.N.); 2007.
4. Zampini IC, Cudmani N, Islas M. Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibiótico-resistentes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 2007; 41 (3): 385-93.
5. Cabrera Y, Fadragas A, Guerrero L. Antibióticos naturales: Mito o realidad. *Revista Cubana de Medicina General Integral*. 2005; 21.
6. OMS. Estrategia mundial de la Organización Mundial de la Salud para contener la resistencia a los antimicrobianos. WHO/CDS/CSR/DRS/20012. 2011.
7. Salvatierra-González R, Benguigui Y. Resistencia antimicrobiana en las Américas. Magnitud del problema y su contención. Washington, DC; Organización panamericana de la salud Oficina Sanitaria Panamericana. 2007.
8. Santiviáñez R, Cabrera J. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas. In: Salud INd, editor. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud; 2013. p. 55.
9. James D. La nueva farmacia natural: Alimentos curativos para prevenir y tratar más de 75 males comunes. 1º ed. Pennsylvania, Press R, editors 2010.
10. Hernández L, Rodríguez M. Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2001; 6: 44-7.
11. Jiménez A. Estudio comparativo in vitro del efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y clorhexidina al 0, 12% sobre cepas de *Streptococcus mutans* [Tesis de grado]: Universidad Central de Ecuador; 2015.
12. Álvarez S. Estudio sobre la utilización del extracto del *Allium Sativum* "Ajo" como antimicrobiano en pacientes con problemas periodontales [Tesis de grado]: Universidad de Guayaquil; 2014.

13. Sánchez M. Efecto inhibitorio de *allium cepa* y *allium sativum* sobre cepas de *escherichia coli* y *salmonella enteritidis* [Tesis de grado]: Universidad Veracruzana; 2013.
14. Asensio C. Utilización de aceites esenciales de variedades de orégano como conservante antimicrobiano, antioxidante y de las propiedades sensoriales de alimentos: quesos cottage, ricota y aceite de oliva [Tesis doctoral]: Universidad Nacional de Córdoba; 2013.
15. Munayco E. Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal [Tesis de grado]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2011.
16. Maravi G. Efecto antibacteriano y antifúngico del aceite esencial de: menta piperita (menta), *origanum vulgare* (orégano) y *cymbopogon citratus* (hierba luisa) sobre *streptococcus mutans* ATCC 25175, *lactobacillus acidophilus* ATCC 10746 y *cándida albicans* ATCC 90028. [Tesis de grado]: Universidad Privada Nolbert Wiener; 2012.
17. Restrepo M. El milagro de las plantas. Aplicaciones medicinales y orofaríngeas.: Bogotá: fundación hogares juveniles campesinos.; 2005.
18. Fulder S, Blackwood J. El ajo. Traditions I, editor: Mexico D.F.: Lasser Press; 1997. 130 p.
19. Cebrián J. Diccionario integral de plantas medicinales. 2º ed. Integral, editor: RBA Libros; 2002. 672 p.
20. Lachance P. Nutraceuticals: Designer Foods III: Garlic, Soy and Licorice. Nutrition PiFSa, editor: John Wiley & Sons; 2008. 375 p.
21. Acob J, Kirsch G, Slusarenko A, Winyard P, Burkholz T. Recent Advances in Redox Active Plant and Microbial Products: Springer Netherlands; 2014.
22. Naidu A. Natural food antimicrobial systems: CRC press; 2000. 818 p.
23. Borlinghaus J, Albrecht F, Gruhlke M, Nwachukwu I, Slusarenko A. Allicin: chemistry and biological properties. *Molecules*. 2014;19(8):12591-618.
24. Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes and infection*. 1999;1(2):125-9.
25. Kintzios S. Oregano: the genera *Origanum* and *Lippia*. plants Maa, editor: Taylor & Francis; 2003.



26. Nurzynska-Wierdak R. Herb yield and chemical composition of common oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil according to the plant's developmental stage. *Herba polonica*. 2009; 55 (3): 55-62.
27. Arcila-Lozano C, Loarca-Piña G, Lecona-Urbe S, González E. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2004; 54 (1): 100-11.
28. Nereyda E. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*. 2011; 7 (1): 153-70.
29. Reyes F, Palou E, López A. Vapores de aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2012; 6 (1): 29-39.
30. Leyva S, Leyva E. Fluoroquinolonas. Mecanismos de acción y resistencia, estructura, síntesis y reacciones fisicoquímicas importantes para propiedades medicinales. *Soc Quím México*. 2007;2 (1): 1-13.
31. Alós J. Quinolonas. *España Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2009; 27 (5): 290-7.
32. Koneman E, Allen S. Koneman. *Diagnostico Microbiologico: Texto y Atlas En Color*: Buenos Aires : Panamericana; 2008. 1475 p.
33. Guarner F, Khan A, Garisch J, Eliakim R, Gangl A, Thomson A, et al. Probióticos y prebióticos. *Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos*. 2011: 1-29.
34. Rodríguez-Angeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *salud pública de méxico*. 2002; 44 (5): 464-75.
35. Jay J, Golden M, JamesJay DA, Loessner M, Golden D, Lerda D, et al. *Microbiología moderna de los alimentos*. 5 ed: Zaragoza :. Acribia; 2005. 767 p.
36. Bauer W, Kirby M, Sherris J, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *USA The American Journal of Clinical Pathology*. 1966; 45 (4): 593 - 6.
37. García J, Cantón R, García E, Gómez-Lus L, Martínez L, Rodríguez-Avial C, et al. Métodos Básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. *España Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2000; 11 (1 - 54): 54.

38. Sacsquispe R, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de Disco Difusión. Procedimientos para realizar el antibiograma: Lima: Instituto Nacional de Salud; 2002. p. 13 - 9.
39. Dorland N. Dorland Diccionario enciclopédico ilustrado de medicina. 30 ed. España E, editor 2005. 2240 p.
40. Panda U. Diccionario médico conciso y de bolsillo. 2ª ed: México. Jaypee-Highlights Medical Publisher; 2013. 843 p.

## ANEXOS

Ficha de recolección de datos

	<b>Medidas de halos de inhibición de antimicrobianos (en mm)</b>		
	<b>Extracto de ajo</b>	<b>Aceite esencial de orégano</b>	<b>Ciprofloxacino</b>
<b>Placa 1</b>	12	11	22
<b>Placa 2</b>	11	9	23
<b>Placa 3</b>	13	10	21
<b>Placa 4</b>	10	11	22
<b>Placa 5</b>	14	9	21
<b>Placa 6</b>	13	10	23
<b>Placa 7</b>	12	9	21
<b>Placa 8</b>	12	10	21
<b>Placa 9</b>	13	11	23
<b>Placa 10</b>	11	11	22
<b>Placa 11</b>	14	10	22
<b>Placa 12</b>	12	11	23
<b>Placa 13</b>	13	9	21
<b>Placa 14</b>	12	9	21
<b>Placa 15</b>	11	9	23
<b>Placa 16</b>	10	11	21
<b>Placa 17</b>	10	10	21
<b>Placa 18</b>	12	10	22
<b>Placa 19</b>	10	10	23
<b>Placa 20</b>	13	12	24
<b>Placa 21</b>	11	9	23
<b>Placa 22</b>	13	11	22
<b>Placa 23</b>	12	12	22
<b>Placa 24</b>	13	10	22
<b>Placa 25</b>	12	9	23
<b>Placa 26</b>	11	10	23

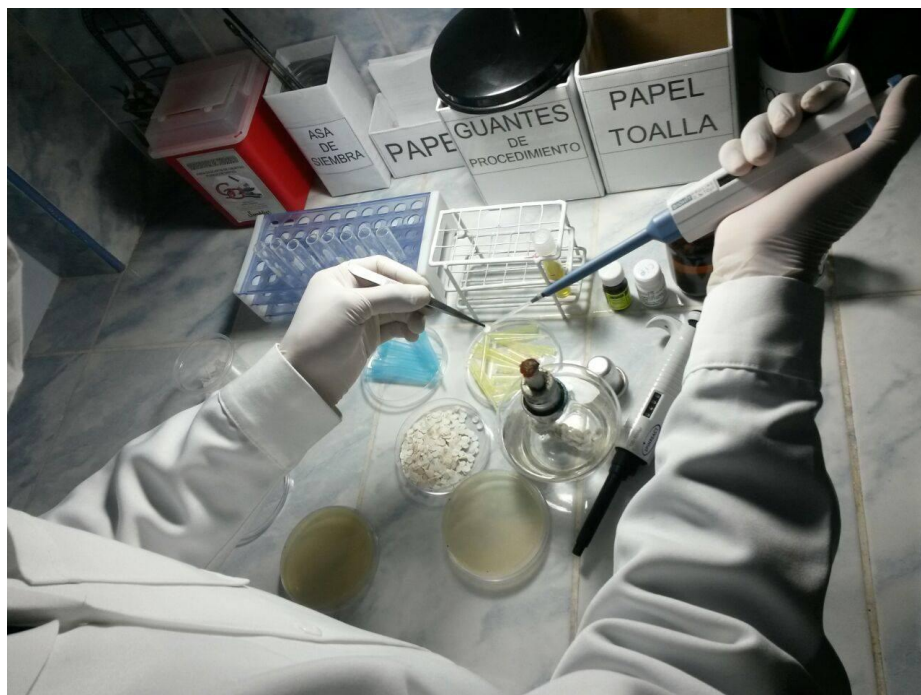
<b>Placa 27</b>	13	10	22
<b>Placa 28</b>	12	11	22
<b>Placa 29</b>	13	9	21
<b>Placa 30</b>	12	10	21



Materiales utilizados para el procedimiento.



Proceso de embebimiento de los discos problema, con los antimicrobianos correspondientes, extracto de ajo y aceite esencial de orégano 10 ul de cada uno con la ayuda de una micropipeta.



Colocación de los discos embebidos en la placa con ayuda de una pinza



Observación y medición de halos de inhibición.

