



EN LA UAP  
TÚ ERES PARTE  
DEL CAMBIO



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

**TESIS:**

**EFEECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LA MEZCLA DEL ACEITE  
ESENCIAL DE *Origanum vulgare* “ORÉGANO” Y *Rosmarinus  
officinalis* “ROMERO” FRENTE A *Staphylococcus aureus* Y  
*Escherichia coli***

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**Presentado por:  
BACH. VELA LLANOS RAQUEL**

**ASESOR:  
Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña.**

**Cajamarca, Perú, Febrero 2022**

## DEDICATORIA

A mis padres, quienes se esforzaron por apoyarme tanto económicamente como moralmente.

A mis hermanos, quienes fueron los mejores maestros y amigos, para inculcarme a seguir estudiando.

A mis tías, con quienes compartimos desafíos, habilidades, tristezas y sobre todo mucha alegría y emoción

***Raquel***

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Privada Alas Peruanas y a todos sus maestros. Estaré eternamente agradecida por dedicar día a día lo mejor de sus conocimientos, durante los 5 años académicos que duro mi formación profesional.

***Raquel***

## NDICE

Dedicatoria .....	i
Agradecimiento .....	ii
Índice general .....	iii
Índice de tablas .....	vi
Índice de figuras .....	vii
Resumen .....	viii
Abstract .....	ix
Introducción .....	x

### **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

1.1. Descripción de la situación problemática .....	11
1.2. Formulación del problema .....	12
1.2.1. Problema general .....	12
1.2.2. Problemas específicos .....	13
1.3. Objetivos de la investigación .....	13
1.3.1. Objetivo general .....	13
1.3.2. Objetivos específicos .....	13
1.4. Justificación e importancia de la investigación .....	14
1.4.1. Justificación de la investigación .....	14
1.4.2. Importancia de la investigación .....	15
1.5. Limitaciones del estudio .....	15

### **CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO**

2.1. Antecedentes .....	16
2.1.1. A nivel nacional .....	16
2.1.2. A nivel internacional .....	23
2.2. Bases teóricas .....	27
2.2.1. <i>Origanum vulgare</i> “orégano” .....	27
2.2.2. <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” .....	31
2.2.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35

2.2.4. <i>Escherichia coli</i> .....	39
2.3. Definición de términos básicos .....	47

### **CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES**

3.1. Formulación de hipótesis .....	50
3.1.1. Hipótesis general .....	50
3.1.2. Hipótesis específicas .....	50
3.2. Identificación de variables .....	50
3.3. Operacionalización de variables .....	51

### **CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

4.1. Tipo y nivel de investigación .....	52
4.1.1. Tipo de investigación .....	52
4.1.2. Nivel de investigación .....	52
4.2. Método y diseño de investigación .....	52
4.2.1. Método de investigación .....	52
4.2.2. Diseño de investigación .....	53
4.3. Población y muestra de la investigación .....	53
4.3.1. Población .....	53
4.3.2. Muestra .....	53
4.4. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos .....	54
4.4.1. Técnicas .....	54
4.4.2. Instrumentos .....	55
4.4.3. Procedimientos .....	55
4.5. Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información	62
4.6. Aspectos éticos .....	62

### **CAPÍTULO V: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

5.1. Resultados de la investigación .....	64
---	----

<b>CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN</b>	
6.1. Discusión de la investigación .....	69
<b>CONCLUSIONES</b> .....	74
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	75
<b>FUENTES DE INFORMACIÓN</b> .....	76
<b>ANEXOS</b> .....	86

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N° 01:</b> Diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	64
<b>Tabla N° 02:</b> Análisis de varianza ANOVA del diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	65
<b>Tabla N° 03:</b> Diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y de la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% frente a <i>Escherichia coli</i> .....	66
<b>Tabla N° 04:</b> Análisis de varianza ANOVA del diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y de la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% frente a <i>Escherichia coli</i> .....	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N° 01:</b> Estructura química del carvacrol .....	29
<b>Figura N° 02:</b> Estructura química del timol .....	29
<b>Figura N° 03:</b> Estructura química de ácido carnósico, carnosol, epirosmanol, rosmaridifenol y ácido rosmarínico..	32
<b>Figura N° 04:</b> Estructura antigénica de <i>Escherichia coli</i> .....	41
<b>Figura N° 05:</b> Diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	65
<b>Figura N° 06:</b> Diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y de la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% frente a <i>Escherichia coli</i> .....	67

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. **Método:** Experimental, observacional, cuantitativa, cuya muestra fue mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero”. Se contó con 5 grupos (blanco, control positivo y problemas I, II y III) y cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, las que se reactivaron en cloruro de sodio y mediante la técnica de Kirby – Bauer, se hizo el antibiograma en placas de Agar Muller-Hinton inoculadas unas con cepas de *Staphylococcus aureus* y otras con *Escherichia coli*, cuyo procedimiento fue: para el grupo blanco se utilizó discos de sensibilidad embebidos con alcohol etílico de 70°; para el grupo control positivo, discos de ciprofloxacino de 5 µg; y para los grupos problemas I, II y III, discos embebidos con la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100%, colocándose sobre la superficie de las placas, con ayuda de una pinza estéril y llevándose a incubar a 37°C por 24 horas. **Resultados:** La mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% logró alcanzar halos de inhibición de 16; 20,1; y 25 mm de diámetro respectivamente frente a *Staphylococcus aureus* y 11,1; 16,2; y 21,9 mm frente a *Escherichia coli*; asimismo, el ciprofloxacino alcanzó 28,6 y 37 mm frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; y, el alcohol etílico de 70° 6 mm en ambas cepas. **Conclusión:** La mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” tiene mayor efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* y que frente a *Escherichia coli*, mostrando diferencias muy significativas de  $p < 0,01$ , al análisis de varianza ANOVA.

**Palabras claves:** Efecto antibacteriano, *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero”.

## ABSTRAC

**Objective:** To determine the in vitro antibacterial effect of the mixture of the essential oil of *Origanum vulgare* "oregano" and *Rosmarinus officinalis* "rosemary" against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Method:** Experimental, observational, quantitative, whose sample was a mixture of the essential oil of *Origanum vulgare* "oregano" and *Rosmarinus officinalis* "rosemary". There were 5 groups (blank, positive control and problems I, II and III) and strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, which were reactivated in sodium chloride and using the Kirby-Bauer technique, the antibiogram was made on plates of Muller-Hinton Agar inoculated some with *Staphylococcus aureus* strains and others with *Escherichia coli*, the procedure of which was: sensitivity discs soaked with 70° ethyl alcohol were used for the target group; for the positive control group, 5 µg ciprofloxacin discs; and for problem groups I, II and III, discs soaked with the mixture of the essential oil of *Origanum vulgare* "oregano" and *Rosmarinus officinalis* "rosemary" at 50%, 75% and 100%, placed on the surface of the plates, with help of a sterile forceps and incubating at 37°C for 24 hours. **Results:** The mixture of the essential oil of *Origanum vulgare* "oregano" and *Rosmarinus officinalis* "rosemary" at 50%, 75% and 100% managed to achieve inhibition halos of 16; 20.1; and 25 mm in diameter respectively against *Staphylococcus aureus* and 11.1; 16.2; and 21.9 mm against *Escherichia coli*; likewise, ciprofloxacin reached 28.6 and 37 mm against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*; and, ethyl alcohol of 70° 6 mm in both strains. **Conclusion:** The mixture of the essential oil of *Origanum vulgare* "oregano" and *Rosmarinus officinalis* "rosemary" has a greater antibacterial effect in vitro against *Staphylococcus aureus* and than against *Escherichia coli*, showing highly significant differences of  $p < 0,01$ , when analyzed by ANOVA variance.

**Key words:** Antibacterial effect, *Origanum vulgare* "oregano" and *Rosmarinus officinalis* "rosemary".

## INTRODUCCIÓN

Pese a los avances científicos sobre la síntesis de nuevos medicamentos, hasta la fecha no se queda atrás la investigación y el uso de las plantas medicinales, especies que por años se siguen utilizando, gracias a sus propiedades terapéuticas que aún lo hacen más importantes. No cabe duda que las plantas medicinales fueron la principal fuente terapéutica con que contaban los antepasados; las mismas que, hoy en día son fuente de formulación de medicamentos. El *Origanum vulgare* “orégano” es una especie medicinal, que se utiliza desde muchos años como condimento, para dar sabor a los alimentos, dejando atrás sus propiedades terapéuticas. Diferentes estudios han identificado que el orégano es fuente importante de timol, carvacrol, alcanfor, etc. siendo los responsables de varias propiedades medicinales, entre ellas: antibacteriana y antiinflamatoria. De otro lado el *Rosmarinus officinalis* “romero”, se conoce como planta aromatizante, gracias a un aceite esencial que se destila de las hojas, pero muchos no toman interés en las importantes propiedades que podrían tener dicho aceite esencial, pues empíricamente se utiliza como antiséptico, antiespasmódico, depurativo, carminativo, etc. Teniendo en cuenta, la importancia de las plantas medicinales y sus principios activos que contienen ambos recursos vegetales, este estudio busca extraer el aceite esencial de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero”, para luego hacer una mezcla y un antibiograma en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* con la finalidad de determinar su actividad antibacteriana, la misma que de demostrarse servirá como base para otros estudios o para ser utilizada por algunos pobladores que viven en zonas rurales, donde no tiene acceso a los medicamentos y son de bajos recursos económicos.

## CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Descripción de la situación problemática

Las infecciones generadas por bacterias, siguen siendo uno de los problemas de salud que aqueja a un porcentaje importante de la población, tanto a nivel local, nacional e internacional, afectando no solo la salud del paciente, sino también la economía y a la sociedad; por lo que, es necesario tomar medidas en el diagnóstico, epidemiología y en la elección del antibiótico para el tratamiento de la enfermedad infecciosa. Existen un sin número de bacterias que causan infección, dentro de ellas está el *Staphylococcus aureus*, un microorganismo Gram positivo que forma parte de la flora bacteriana normal del ser humano; pero también se vuelve patógeno, siendo responsable de la infección de la piel y tejidos blandos, adquiridas a nivel hospitalario y comunitario; así como, de otras infecciones simples como foliculitis, forunculitis, hasta infecciones severas, como endocarditis, septicemia, meningitis y neumonía. La característica o impacto de estas cepas bacterianas es la resistencia a diferentes antibióticos, tal es el caso a las penicilinas y meticilina; por lo que, para su tratamiento se deben emplear otros antibióticos, entre ellos las quinolonas (levofloxacino).<sup>1,2</sup>

Por otro lado, *Escherichia coli*, es una bacteria Gram negativa, que forma parte de la flora bacteriana intestinal del ser humano; pero que causa infección y desencadena diferentes enfermedades, cuando recorre otros órganos; por ejemplo, la vejiga y los riñones. Este microorganismo, es principal responsables de la mayoría de infecciones urinarias, sobre todo en la población femenina, por razones fisiológicas (cercanía del ano con la vagina); mecanismo por el cual, ingresa con facilidad y coloniza rápidamente, la vejiga, hasta llegar a los riñones, desencadenado, diferentes infecciones urinarias, como: cistitis y

pielonefritis. Además, esta bacteria también genera infecciones gastrointestinales, tales como: síndrome urémico hemolítico, colitis hemorrágica y cuadros de disentería, afectando a gran parte de la población y sobre todo a la población infantil.<sup>1,2</sup>

No cabe duda que frente a estas infecciones generadas, tanto por *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, existen antibióticos, como las sulfamidas, macrólidos, quinolonas y otros antibióticos específicos, capaces de interferir e inhibir la replicación bacteriana; pero también, existe la posibilidad de resistencia bacteria y lo más común las reacciones adversas.<sup>3</sup> Situación, que lleva a buscar otras alternativas de tratamiento no farmacológico, como es el caso de la recurrencia a las plantas medicinales, que se ha utilizado desde épocas anteriores y hasta la fecha sigue dando buenos resultados; tal es el caso del *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” especies medicinales que resaltan por sus principales metabolitos, entre ellos, el aceite esencial y sus principales componentes como: carvacrol y timol, en el orégano; y el  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, canfeno, y ácido rosmarínico, en el romero.<sup>4,5</sup> En tal sentido, este estudio enfocará su objetivo en determinar el efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Problema general**

¿Tendrá efecto antibacteriano in vitro la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*?

### **1.2.2. Problemas específicos**

¿Tendrá efecto antibacteriano in vitro la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus*?

¿Tendrá efecto antibacteriano in vitro la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% frente a *Escherichia coli*?

## **1.3. Objetivos de la investigación**

### **1.3.1. Objetivo general**

Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus*.
- Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% frente a *Escherichia coli*.

## **1.4. Justificación e importancia de la investigación**

### **1.4.1. Justificación de la investigación**

Las enfermedades infecciosas bacterianas representan un gran desafío, para la salud de la población, generando un número importante de morbimortalidad. No cabe duda que con el descubrimiento de los antibióticos, se ha logrado disminuir la incidencia de enfermedades infecciosas y con ello la mortalidad;

sin embargo, así como existe el descubrimiento de nuevos antimicrobianos eficaces y selectivos para algunas enfermedades, también aparecen nuevas enfermedades mucho más difíciles de curar y junto a ello, la aparición de la resistencia bacteriana a ciertos antibióticos; así como, las reacciones adversas, generando preocupación y malestar por parte de los profesionales de la salud y sobre todo por el paciente, que en ocasiones ve resultados positivos frente a la enfermedad que lo aqueja, pero al mismo tiempo no es ajeno a algunas reacciones adversas que lo genera la administración de dichos antibióticos.

Razón por la que, este trabajo de investigación busca una alternativa de tratamiento no farmacológico, inclinándose por el uso de las plantas medicinales, que hasta la fecha no han dejado de sorprender, por sus diferentes propiedades terapéuticas, tal es caso de *Origanum vulgare* “orégano”, que se le atribuye propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antimicrobianas, expectorantes, entre otras, cuyos principios activos como el timol y carvacrol, presentes en el aceite esencial que se extrae de las hojas serían los responsables de la mayoría de sus actividades biológicas; asimismo, *Rosmarinus officinalis* “romero”, una especie medicinal que contiene aceite esencial en sus hojas, cuyos componentes principales serían, el  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, canfeno, ésteres terpénicos como el 1,8-cineol, alcanfor, linalol, verbinol, terpineol, carnosol, rosmanol, isorosmanol, 3-octanona, isobanil-acetato y  $\beta$ -cariofileno; los ácidos vanílico, caféico, clorogénico y rosmarínico; además, de taninos y flavonoides, los cuales también intervendrían en las distintas propiedades terapéuticas. Por lo tanto, este estudio tendrá a finalidad determinar y a la vez comparar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a las cepas de

*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, motivo por el cual, de comprobarse dicha actividad, se dejará como evidencia un producto natural con menos reacciones adversas y al alcance de la población con bajos recursos económicos.

#### **1.4.2. Importancia de la investigación**

Este trabajo de investigación es de importancia, ya que, a pesar de contar con diferentes antibióticos, que son efectivos contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, muchos de ellos son capaces de desencadenar algunas reacciones adversas y otros se hacen resistentes a este tipo de bacterias y a otras, generando malestar en el paciente o en el peor de los casos agravando más el cuadro clínico; motivo por el cual, este estudio busca demostrar que el efecto antibacteriano de aceite esencial de orégano y romero frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, que de comprobarse dicho efecto, de dejará una alternativa de tratamiento antibacteriano natural (para algunas enfermedades que sean generadas por las bacterias antes mencionadas), con menos reacciones adversas que los medicamentos sintéticos y al alcance de la población con menos recursos económicos.

#### **1.5. Limitaciones del estudio**

Una de las limitaciones para la ejecución de esta tesis está relacionado a la enfermedad del coronavirus (COVID-19), la misma que hasta la fecha todavía se siguen dando restricciones para poder ejercer algunas actividades de manera presencial.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

#### 2.1.1. A Nivel nacional

**Carhuallanqui A, Salazar M, Ramos D.** Realizaron un estudio sobre el “Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) frente a *Listeria monocytogenes* Y *Staphylococcus aureus*”, artículo de investigación científica, que se realizó en la Universidad Nacional de San Marcos en Perú en el año **2020**. El objetivo fue determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. **Metodología:** La muestra fue aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y cepas identificadas de *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*, cuya técnica utilizada fue la de Kirby – Bauer, en la que se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante microdilución y la concentración mínima bactericida (CMB) por siembra en agar. **Resultados:** El aceite esencial de orégano tuvo como componentes al timol (11,9%) y carvacrol (1,7%), determinándose actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (CMI= 2%, CMB= 4%) alcanzando un halo de inhibición promedio de 24 mm de diámetro y contra *Listeria monocytogenes* (CMI= 4%, CMB= 4%) haciendo un halo de inhibición promedio de 12 mm de diámetro. **Conclusión:** El aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” tiene actividad antibacteriana contra estas 2 cepas bacterianas, siendo más efectiva contra *Staphylococcus aureus*, cuyos componentes responsables son el timol y carvacrol, pudiéndose utilizar como antimicrobiano o desinfectante natural.<sup>6</sup>

Por su parte, **Choque M.** Estudió el “Efecto antibacteriano del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano) comparado con oxacilina, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213”, para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano, en la Universidad César Vallejo en Perú en el año **2018**. El objetivo fue determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano) comparado con oxacilina, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. **Metodología:** Se obtuvo aceite esencial de orégano y luego se realizaron diluciones al 25%, 50%, 75% y 100% en solución salina, luego se obtuvieron cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) y discos de sensibilidad antibiótica de oxacilina de 1µg, guiándose del método de Kirby-Bauer, en donde se inocularon placas de Agar Müller Hinton con cepas de *Staphylococcus aureus*, sobre las cuales se pusieron discos de sensibilidad embebidos con aceite esencial de orégano al 25%, 50%, 75% y 100% para el grupo problema y para el grupo control discos de sensibilidad antibiótica de oxacilina de 1µg. **Resultados:** El aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” logró tener efecto antibacteriano frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, alcanzando halos de inhibición promedio de 20,46 mm al 100%, 17,54 mm al 75%, 14,31 mm al 50% y 12 mm de diámetro al 25% a diferencia de la oxacilina que logró 38,00 mm de diámetro. **Conclusión:** El aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” logró tener efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213; sin embargo, no superó al halo de inhibición antibacteriano que logró la oxacilina.<sup>7</sup>

Asimismo, **Sandoval A, Contreras R.** Estudiaron el “Efecto de las concentraciones del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de *Origanum vulgare* (orégano) en el crecimiento de *Staphylococcus aureus*”, artículo de investigación científica

realizado en la Universidad Privada César Vallejo en Perú en el año **2018**. El objetivo fue determinar el efecto de las concentraciones del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de *Oreganum vulgare* (orégano) en el crecimiento de *Staphylococcus aureus*". **Metodología:** El estudio fue experimental transversal, cuya muestra biológica fue aceite esencial de orégano en concentraciones de 10, 20, 40 y 60 ug/mL y extracto hidroalcohólico de *Origanum vulgare* "orégano" obtenido por maceración en concentraciones de 10, 20, 40 y 60 mg/mL. La parte experimental se realizó mediante la técnica de Kirby – Bauer, utilizando para el antibiograma Agar Müller Hinton con la cepa de *Staphylococcus aureus* y discos embebidos con aceite esencial y extracto hidroalcohólico de *Origanum vulgare* "orégano" en sus diferentes concentraciones. **Resultados:** Dieron a conocer que el *Oreganum vulgare* "orégano" evidenció efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*, logrando halos de inhibición de 2,2; 2,2; 3,5 y 3,8 cm (22, 22, 35 y 38 mm) de diámetro en sus concentraciones de 10, 20, 40 y 60 ug/mL para el aceite esencial y 0,7; 0,9; 1,9 y 2,0 cm (7, 9, 19 y 20 mm) de diámetro para el extracto hidroalcohólico en sus concentraciones 10, 20, 40 y 60 mg/mL respectivamente. **Conclusión:** Tanto el aceite esencial como el extracto hidroalcohólico de *Origanum vulgare* (orégano) tienen efecto contra el crecimiento de *Staphylococcus aureus*", evidenciándose mayor halo de inhibición para el aceite esencial.<sup>8</sup>

Por su parte, **Alegre L.** Realizó un trabajo de investigación sobre el "Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC 11229 comparado con gentamicina", para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano, en la Universidad Privada César

Vallejo en Perú en el año **2018**. El objetivo fue determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC 11229 comparado con gentamicina. **Metodología:** El trabajo se dividió en 3 grupos de experimentación (problema, control y blanco). El antibiograma se realizó mediante el método de Kirby-Bauer, usando placas Petri de cultivo con Agar Müller Hinton, con cepas de *Escherichia coli*, sobre las cuales se aplicó: al grupo problema, discos embebidos de aceite esencial de orégano y romero al 50%, 75% y 100%; al grupo blanco, discos embebidos de dimetilsulfoxido; y al grupo control, discos de sensibilidad antibiótica de gentamicina. **Resultados:** Los resultados evidenciaron que el aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” logró una inhibición de 21,93 mm de diámetro a la concentración de 100% frente a *Escherichia coli*, siendo éste el mayor halo de inhibición promedio, seguido de 15,64 mm a la concentración de 75% y 10,43 mm a la concentración de 50%; en cambio, *Rosmarinus officinalis* “romero” logró halos de inhibición de 9,64 mm a la concentración de 75%, 14,64 mm a la concentración del 100% y a la concentración de 50% no se evidenciaron formación de inhibición. Asimismo, la gentamicina logró un halo promedio de 20,22 mm de diámetro. **Conclusión:** Ambas especies evidenciaron efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli*, registrando mayor inhibición el *Origanum vulgare* “orégano” a la concentración del 100%.<sup>9</sup>

De igual manera, **Carrillo J.** Estudió el “Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de las hojas de *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Rosmarinus officinalis* (romero) frente a cepas de *Escherichia coli*”, para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico, realizado en la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote en Perú en año el **2018**. El objetivo fue determinar

el efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de las hojas de *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Rosmarinus officinalis* (romero) frente a cepas de *Escherichia coli*". **Metodología:** El estudio fue experimental in vitro, para ello se obtuvo como muestras aceite esencial de tomillo y romero mediante la técnica de arrastre de vapor. Para la parte experimental, se utilizó el método de difusión en disco, utilizándose placas de Agar MacConkey, en las cuales se sembraron la bacteria *Escherichia coli* y luego de impregnaron discos embebidos de aceite esencial de tomillo y romero al 5%, 10%, 25% y 100%, utilizándose como blanco al dimetilsulfoxido. **Resultados:** Refieren que el aceite esencial de las hojas de *Thymus vulgaris* "tomillo" logro halos de inhibición promedio de 9; 8,13; 8,81 y 15,36 mm de diámetro en sus concentraciones de 5, 10, 25 y 100% respectivamente frente a *Escherichia coli*; en cambio *Rosmarinus officinalis* "romero" evidenció, 8,06; 10,94; 10,25 y 18,38 mm de diámetro en sus concentraciones de 5, 10, 25 y 100% respectivamente frente a *Escherichia coli*. **Conclusión:** Por lo tanto, se concluye que el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* "romero" mostró tener mayor efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli*, haciendo un halo de inhibición promedio de 18,38 mm de diámetro a la concentración del 100% en comparación con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* "tomillo" que logró un halo de inhibición promedio de 15,36 mm de diámetro a la misma concentración .<sup>10</sup>

En tal sentido, **Figueroa B.** Realizó una investigación sobre el "Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina", para obtener el Título Profesional de Médico Cirujano, en la Universidad Privada César Vallejo en Perú en el año **2018**. El objetivo fue determinara el efecto antibacteriano del

aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina. **Metodología:** La muestra fue aceite esencial de romero, al cual se hizo diluciones a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%; además de las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y los discos de sensibilidad antibiótica de oxacilina 30 µg. Para el diseño de contrastación, se utilizó placas Petri con medio de Agar Mueller Hinton, con previa inoculación de la cepa de *Staphylococcus aureus*; a las cuales se impregnaron discos embebidos con aceite esencial de romero al 25%, 50%, 75% y 100%, representando este el grupo problema, discos de sensibilidad antibiótica de oxacilina de 30 µg, como grupo control positivo y discos embebidos con dimetilsulfoxido como grupo blanco. **Resultados:** Los resultados mostraron el aceite esencial de *Rosmainus officinalis* “romero” obtuvo el mayor halo de inhibición promedio a la concentración de 100% (8,20 mm de diámetro), seguido de 7,4 mm a la concentración de 75%, 6,3 a la concentración de 50% y 2,8 mm de diámetro a la concentración de 25% frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*; mientras que, la oxacilina alcanzó un halo de inhibición promedio de 30,30 mm de diámetro. **Conclusión:** El aceite esencial de *Rosmarinus afficionalis* “romero” tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*, pero en menor grado que la oxacilina. <sup>11</sup>

Entre tanto, **Rodenas D, Rodríguez A.** Investigaron sobre el “Efecto antibacteriano del extracto etanólico de tallos de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) en cultivos de *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro”, para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico en la Universidad Inca Garcilaso de la Vega en Perú en el año **2018**. El objetivo fue determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de

tallos de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) en cultivos de *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro. **Metodología:** El método utilizado para este estudio fue difusión en disco, para el cual, se reactivaron las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* de acuerdo a la escala de Mac Farland y luego se inocularon estas cepas en placas Petri con Agar Müller Hinton, realizándose el antibiograma y utilizándose discos embebidos de extracto etanólico de romero al 25%, 50% y 75%, para el grupo problema; discos de amoxicilina de 10ug, para el grupo control positivo; y discos embebidos de alcohol de 70° para el grupo negativo. **Resultados:** El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) tuvo efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*, obteniendo halos de inhibición promedio de 10,34; 12,95 y 15,81 mm de diámetro en sus concentraciones de 25, 50 y 75% respectivamente a diferencia de amoxicilina que obtuvo un halo de inhibición de 47,11 mm de diámetro. **Conclusión:** El extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* “romero” presentó actividad antibacteriana in vitro, en todas sus concentraciones ensayadas frente a la cepa bacteriana de *Staphylococcus aureus*, pero en menor grado que amoxicilina<sup>12</sup>

De tal modo, **Garay H.** Estudió el “Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “orégano” sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, in vitro. Cajamarca – 2015”, para obtener el Título Profesional en Magister, en la Universidad Nacional de Cajamarca en Perú en el año **2015**. El objetivo general fue determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “orégano” sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, in vitro. Cajamarca – 2015”. **Metodología:** El estudio fue experimental in vitro, cuya muestra fue aceite esencial de orégano diluido en

concentraciones de 10%, 50% y 100% en alcohol etílico de 70°; además de tener, las cepas patógenas estandarizadas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. El diseño experimental, se hizo mediante el método de Kirby Bauer, en donde el grupo problema, se subdividió en 3 grupos, constituidos por discos embebidos de 20 µL de aceite esencial de orégano al 10%, 50% y 100% respectivamente, en Agar Müller Hinton, con cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; mientras que el grupo control positivo, estuvo formado por 2 subgrupos, el primero con Agar Müller Hinton y la cepa *Escherichia coli*, utilizándose para el antibiograma discos de antibióticos, de nitrofurantoina 300 µg, azitromicina 15 µg, cloxacilina 1 µg, bacitracina 0,04 U y cefotaxima 30 µg; asimismo el segundo grupo control, estuvo conformado por Agar Müller Hinton y la cepa *Staphylococcus aureus*, en donde se realizaron pruebas de sensibilidad antibiótica, con amoxicilina + ácido clavulánico 2 µg, eritromicina 15 µg, ciprofloxacino, amoxicilina 25 µg y cefradina 30 µg. **Resultados:** El aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” mostró efecto antibacteriano, frente a *Escherichia coli* alcanzando halos de inhibición promedio de 10 mm al 10%, 17 mm al 50% y 30 mm de diámetro al 100%; de igual contra *Staphylococcus aureus* con halos de inhibición de 7 mm al 10%, 36 mm al 50% y 41 mm de diámetro al 100%. **Conclusión:** El aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” mostró tener mayor efecto antibacteriano in vitro frente *Staphylococcus aureus* comparado con el efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli*.<sup>13</sup>

### 2.1.2. A nivel internacional

**Ortega A.** Realizó la “Determinación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano

(*Origanum vulgare*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600”, para obtener el Título Profesional de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, Facultad de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales, en Ecuador en el año **2018**. El objetivo fue determinar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano (*Origanum vulgare*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600”. **Metodología:** Se extrajeron aceites esenciales de orégano y tomillo y luego se hicieron diluciones a concentraciones de 10%, 25%, 50% y 100% con dimetilsulfoxido. Para el diseño experimental, se utilizó discos de sensibilidad antibiótica de vancomicina para el grupo control positivo; agua destilada, para el grupo blanco; y discos de sensibilidad embebidos con aceite esencial de orégano y tomillo para los grupos problemas. **Resultados:** Los resultados indicaron que el aceite esencial de *Thymus vulgaris* “tomillo” y *Origanum vulgare* “orégano” tienen efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*, siendo el mayor halo de inhibición para el *Origanum vulgare* “orégano” 33 mm de diámetro a la concentración del 100%, seguido de 30 mm al 75%, 28 mm al 50%, 20 mm al 25% y 14 mm de diámetro al 10%; y, para el *Thymus vulgaris* “tomillo”, 33 mm al 100%, 31 mm al 75%, 28 mm al 50%, 21 mm al 25% y 15 mm de diámetro al 10%. **Conclusión:** El aceite esencial de *Thymus vulgaris* “tomillo” y *Origanum vulgare* “orégano” mostraron tener efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* en todas sus concentraciones ensayadas, evidenciándose mayor halo de inhibición a mayor concentración.<sup>14</sup>

De la misma manera, **López E.** Investigó el “Efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de orégano (*Origanum*

*vulgare*) sobre cepas certificadas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*”, para obtener el Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnista, realizado en la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias, en el Ecuador en el año **2018**. El objetivo fue determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre cepas certificadas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*”. **Metodología:** El aceite esencial de orégano se obtuvo mediante destilación de arrastre de vapor y las cepas bacterianas del Laboratorio MEDIBAC. Para la parte experimental, el aceite esencial se diluyó en concentraciones del 30%, 60% y 90%; y la reactivación de las cepas, se hizo en Agar MacConkey para *Escherichia coli* y en Agar Manitol Salado para *Staphylococcus aureus*; utilizando, además Agar Müller Hinton para el antibiograma. **Resultados:** El aceite esencial de orégano alcanzó halos de inhibición frente a la cepa de *Escherichia coli*, de 13,01 mm al 30%, 17,62 mm al 60% y 16,05 mm de diámetro al 90%; mientras que, frente a *Staphylococcus aureus* fue de, 13,25 mm al 30%, 16,35 mm al 60% y 25 mm de diámetro al 90%. **Conclusión:** El aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” mostró mayor efecto antibacteriano *in vitro* frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* a la concentración del 90%; mientras que, frente a *Escherichia coli*, lo hizo a la concentración del 60%<sup>15</sup>

Al igual, **Montero M et al.** Estudiaron el “Efecto antimicrobiano del extracto crudo oleoso de *Rosmarinus officinalis* sobre cepa de *Escherichia coli*”, artículo de investigación, que se realizó, en la Universidad Técnica De Ambato, Facultad De Ciencias Agropecuarias, en el Ecuador en el año **2017**. El objetivo fue determinara el efecto antimicrobiano del extracto crudo oleoso de *Rosmarinus officinalis* sobre cepa de *Escherichia coli*”.

**Metodología:** Consistió, en diluir el extracto de *Rosmarinus officinalis* en concentraciones de 20%, 40%, 60% y 80% en alcohol etílico de 70°, para posteriormente reactivar la cepa de *Escherichia coli* en Agar MacConkey, el cual se la estandarizó al 0,5 de la escala de MacFarland en el espectrofotómetro. El antibiograma se hizo en placas de Agar Müller Hinton, que estaban con la cepa bacteriana de *Escherichia coli* y luego de impregnaron los discos embebidos de extracto de romero al 20%, 40%, 60% y 80%, utilizándose como control negativo etanol de 96°, para luego ponerles a incubarlos a 37 °C, por 24 horas. **Resultados:** El extracto crudo oleoso de *Rosmarinus officinalis* “romero” mostró tener efecto antibacteriano in vitro sobre la cepa de *Escherichia coli*, obteniendo halos de inhibición promedio de 5,55 mm al 20%, 6,8 mm al 40%, 9,1 mm al 60% y 10,9 mm de diámetro al 80%. **Conclusión:** El extracto de *Rosmarinus officinalis* “romero” evidenció tener efecto antibacteriano in vitro contra las cepas de *Escherichia coli*, resaltando mayor eficacia en sus concentraciones de 60 y 80%.<sup>16</sup>

Así que, **Estrada S.** Hizo un trabajo de investigación intitulado “Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*)”, para obtener el Título Profesional de Bioquímico Farmacéutico, realizado en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en el Ecuador en el año **2010**. El objetivo fue determinar la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). **Metodología:** El estudio evaluó la actividad antibacteriana y antimicótica in vitro de los extractos de *Rosmarinus officinalis* “romero” y *Thymus vulgaris* “tomillo” frente a las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella*

*typhimurium* ATCC 14028, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Candida albicans* ATCC 10231 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. El método empleado para este experimento fue la microdilución en caldo, utilizado para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bacteriana (CMB). Para medir la eficacia, se utilizaron las letras “A” (activo), “P” (parcialmente activo), “I” (inactivo). **Resultados:** El extracto de *Rosmarinus officinalis* “romero” y *Thymus vulgaris* “tomillo” presentaron actividad antibacteriana in vitro frente a *Staphylococcus aureus* alcanzando un halo de inhibición de 16 y 14 mm de diámetro respectivamente a la concentración del 100%; así como, 17 para el romero y 15 para el tomillo frente a *Pseudomonas aeruginosa*; y, 13,8 para el romero y 15,1 para el tomillo como actividad antimicótica in vitro frente a *Candida albicans*; mientras que, frente a *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, no presentaron ningún efecto antibacteriano. **Conclusión:** El que el extracto de *Rosmarinus officinalis* “romero” y *Thymus vulgaris* “tomillo” presentaron actividad antibacteriana in vitro frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* y actividad antimicótica frente a *Candida albicans*; pero no; se evidenció actividad alguna frente a *Salmonella typhimurium* y *Klebsiella pneumoniae*. Además, se presume que los compuestos fenólicos como, el timol, carvacrol y cineol, serían los responsables de dichas actividades terapéuticas.<sup>17</sup>

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. *Origanum vulgare* “orégano”

*Origanum vulgare* es una especie que se conoce mayormente como orégano, perteneciente a la familia lamiaceae, que presenta hojas con un aroma característico, utilizado en arte de

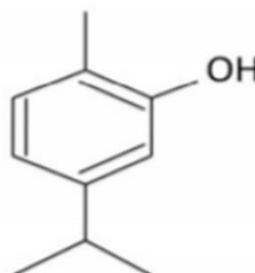
la cocina para dar aroma o sazón (condimento) a los alimentos cocidos; así como, en la elaboración de cosméticos, fármacos y licores. Es una planta herbácea perenne, con tallos erectos que alcanza un tamaño de aproximadamente 90 cm, que están mayormente ramificados en la parte superior. Las hojas tienen un tamaño de 10 a 40 mm de largo, glabras o pubescentes especialmente en la cara superior, enteras y pecioladas. Las flores son generalmente rosadas dispuestas en inflorescencias terminales, corimbiformes con brácteas de 3 mm de largo y 1 mm de ancho, rojizas o violáceas.<sup>18,19</sup>

#### **2.2.1.1. Composición química**

El principal componente del orejano es el aceite esencial (0,15 a 0,4%), cuyos componentes más importantes y los que están en mayor concentración son el carvacrol, timol y el terpinol. Los fenoles totales también son de importancia terapéutica, puesto que representan hasta el 90% de la esencia, conteniendo hidrocarburos monoterpénicos, como el limoneno, pineno y los s y los sesquiterpénicos:  $\beta$ -cariofileno, bisaboleno, además linalol y terpinen-4-ol. Además, el orégano es rico en vitamina A, C, E, K, B<sub>6</sub>; así como, en fibra, folato, hierro, calcio y potasio.<sup>20,21</sup>

**Carvacrol.** El carvacrol (2-metil-5-(1-metiletil) fenol) es un componente del aceite esencial del orégano, que se encuentra entre 60 a 70 %. Su estructura química lo representa un grupo fenólico con un alto poder hidrofóbico. Su mecanismo de acción del carvacrol se refiere a la capacidad de desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas, permitiendo la salida de lipopolisacáridos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática,

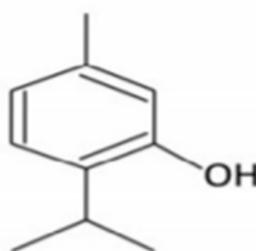
generando con ello la salida del ATP, inhibición de la actividad de las ATPasas y disminución de la fuerza motriz del protón.<sup>20,21</sup>



**Figura N° 01: Estructura química del carvacrol.**

**Fuente:** García M, Palou E. 2008.<sup>20</sup>

**Timol.** El timol (isopropilmetacresol ó 2-isopropil-5-metilfenol), es también uno del componente mayoritario del aceite esencial de orégano, con actividad antimicrobiana. Tiene una estructura química similar al carvacrol, pero con la diferencia de la posición del grupo hidroxilo. El mecanismo de acción es similar al del carvacrol, siendo capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas, permitiendo la salida de lipopolisacáridos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática.<sup>20,21</sup>



**Figura N° 02: Estructura química del timol.**

**Fuente:** García M, Palou E. 2008.<sup>20</sup>

### 2.2.1.2. Propiedades

El *Origanum vulgare* “orégano” tiene diferentes propiedades como antiespasmódica, digestiva, carminativa, expectorante, diurética, cicatrizante, antiséptica, antimicrobiana, antioxidante, antifúngica, etc.<sup>21,22</sup>

**Antioxidante:** La presencia de grupos hidroxilos de los flavonoides, así como la vitamina C, entre otros compuesto del orégano, son los que le dan la propiedad de actuar como antioxidante, capacidad que tiene cualquier sustancia o compuesto de capturar o secuestrar radicales libres y con ello prevenir la oxidación de otras moléculas capaces del desencadenamiento de enfermedades crónicas y degenerativas, producto del estrés oxidativo.<sup>20,22</sup>

**Antibacteriano:** El carvacrol y el timol, principios activos presentes en el aceite esencial de orégano, son los responsables de la actividad antibacteriana, ejerciendo efecto terapéutico contra algunas 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*. Además, también ejercen actividad antifúngica contra: *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum* y *Rhodotorula*.<sup>20,21</sup>

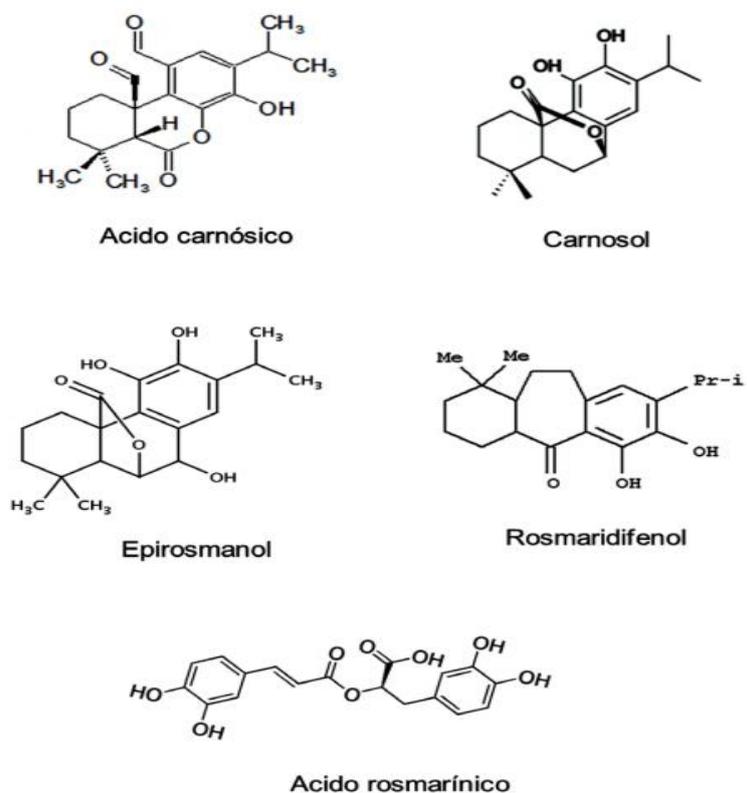
## **2.2.2. *Rosmarinus officinalis* “romero”**

*Rosmarinus officinalis*, es una especie vegetal que se conoce comúnmente como, romero, romaní, hombre viejo, planta solar y rosa marina. Es un arbusto perenne que alcanza una altura hasta de 1 metro y otros que pueden superar el metro. Se caracteriza por ser una planta aromática, con ramas pubescentes, que son leñosas cuando alcanzan su madurez, tiene hojas simples, opuestas, sésiles, lineales y coriáceas, que alcanzan una longitud de 3,5 cm. Las flores son pequeñas labiadas de color azulado (algunas veces rosadas), agrupadas en densos racimos auxiliares o terminales, siendo el fruto un tetraqueno brillante de color marrón oscuro.<sup>23,24</sup>

### **2.2.2.1. Composición química**

Esta especie tiene varios compuestos, entre los cuales han sido agrupados de manera general en: ácidos fenólicos, flavonoides, aceite esencial, ácidos triterpénicos, alcoholes triterpénicos.<sup>25,26</sup>

De manera general, el aceite esencial de romero tiene como componentes:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, canfeno, ésteres terpénicos como el 1,8-cineol, alcanfor, linalol, verbinol, terpineol, carnosol, rosmanol, isorosmanol, 3-octanona, isobanil-acetato y  $\beta$ -cariofileno; los ácidos vanílico, caféico, clorogénico, rosmarínico, carnósico, ursólico, oleanólico, butilínico, betulínico, betulina,  $\alpha$ -amirina,  $\beta$ -amirina, borneol, y acetato de bornilo.<sup>26,27</sup>



**Figura N° 03: Estructura química de ácido carnósico, carnosol, epirosmanol, rosmaridifenol y ácido rosmarínico**

**Fuente:** Ávila R, Navarro A, Vera O, Dávila R, Melgoza N, Meza R. 2011.<sup>27</sup>

Dentro de los terpenoides, se encuentra: la pirosalvina (diterpeno amargo), ácido oleánico, ácido 2-β-OH-oleanólico, ácido 3-O-aetilursólico, ácido arnosilio, rosmaridienol, 7- metoxi-rosmarol, etc. Los flavonoides del romero, contienen: apigenina, disometia, luteolina, hispidulina, cirisimarina, nepritina, simensetina, cupafolina, 7- metoxi-fegopolina. Además, esta especie es rica en: ácido fenólico, colina, taraxasterol, lupel, estigmasterol, campesterol, taninos, entre otros.<sup>26,27</sup>

**Taninos:** Es un compuesto amargo que genera esta especie con fines de protección del medio externo;

compuesto que le confiere la propiedad astringente. Este compuesto tiene acción terapéutica antimicrobiana, actuando como estimulador fagocítica, así como intervenir en la lisis de enzimas y proteínas de transporte de las bacterias.<sup>25,27</sup>

**Flavonoides:** Son pigmentos no nitrogenados que intervienen en la respuesta adaptativa y protectora de la planta contra los rayos ultravioleta, además de atraer a los polinizadores. Este compuesto tiene propiedad antioxidante y antimicrobiana, que actuaría en la formación de complejos con proteínas solubles, extracelulares y células de la pared bacteriana, causándoles lesión y lisis.<sup>26,27</sup>

**Aceite esencial:** El aceite esencial se obtiene en su mayor parte de las hojas y flores del romero. Forma parte del grupo de los terpenoides, cuya acción terapéutica es antiséptica y antimicrobiana, estando involucrado los componentes como: el alfa pipeno, alcanfor, 1,8 cineol o eucaliptol, limoneno, verbenona, canfeno y borneol; siendo efectivo frente a las bacterias, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, además de algunos hongos, virus y protozoarios.<sup>25,27</sup>

**Triterpenos:** Se trata de compuestos lipofílicos como: el ácido ursólico y ácido oleánico; alcoholes triterpénicos como alfa y beta-amirina. Estos compuestos también tendrían actividad antibacteriana, actuando o produciendo lisis de la membrana celular de las bacterias.<sup>24,25</sup>

#### 2.2.2.2. Propiedades

El romero tiene varias propiedades terapéuticas, como: hiperglucemiante (aumenta los niveles de glucosa en

sangre), antiséptica, fungistática, emenagoga, cicatrizante, analgésica, antibacteriana, antiespasmódica, expectorante, antiulceroso (gastritis y ulcera péptica), en enfermedades hepáticas, etc.<sup>26,27</sup>

**Antinflamatoria:** Esta propiedad terapéutica, se relaciona al ácido rosmarínico que contiene, puesto que algunos estudios hechos in vivo a en ratones, demostraron que el extracto de hojas de romero, redujo el edema, mediante la inhibición de la anafilaxis cutánea.<sup>23,24</sup>

**Antioxidante:** Esta actividad terapéutica, está ligada principalmente a los flavonoides, compuestos capaces de interferir o capturar radicales libres, previniéndose así la oxidación de moléculas de importancia fisiológica, como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, ayudando de esta manera a la aparición de algunas enfermedades crónicas y degenerativas, tales como: diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares, hipertensión arterial, entre otras.<sup>23,24</sup>

**Antibacteriano:** El romero tiene actividad antibacteriana, ejerciendo su efecto contra algunas bacterias Gram negativas como: *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*; asimismo contra, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella typhi*. Propiedades terapéuticas que le atribuye al aceite esencial y principalmente a sus componentes como:

el alfa pineno, beta pineno, mirceno, limoneno, cafeno y alcanfor.<sup>25,26</sup>

**Antiviral:** La presencia del ácido carnosólico del aceite esencial del romero, inhibe la actividad del enzimática del herpes virus tipo 1; por lo que se, el aceite esencial

de esta especie, se puede utilizar para tratar afecciones virales, producidas por el herpes virus simple tipo 1.<sup>26,27</sup>

### **2.2.3. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* es bacteria Gram positiva anaerobia agrupadas como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas, productora de coagulasa (proteína generada por varias bacterias, que permite la conversión del fibrinógeno en fibrina) y catalasa (enzima capaz de desdoblarse el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre); característica única utilizada para diferenciar el género *Staphylococcus*, de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*, que pertenecen a la catalasa negativa. Se encuentra distribuida en por todo el mundo, por lo que uno de cada tres pacientes se encuentra colonizadas, pero no infectadas. Este tipo de bacteria fue descubierta por primera vez en 1880, en la ciudad de Aberdeen Escocia, por el Médico Cirujano Alexander Ogston en un absceso infectado, quien introdujo el nombre de *Staphylococcus*, del griego staphyle, que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de la inflamación y supuración.<sup>28,29</sup>

*Staphylococcus aureus* puede estar involucrado en varias enfermedades que van desde infecciones cutáneas y mucosas que generalmente son benignas, tales como: conjuntivitis, foliculitis; así como otras enfermedades más complicadas como celulitis, abscesos infectados, meningitis, sepsis, endocarditis, neumonía, entre otras. Además, también infecta al tracto gastrointestinal, ya sea por presencia física de *Staphylococcus aureus* o por la ingesta de la enterotoxina estafilocócica.<sup>28,29</sup>

### 2.2.3.1. Morfología

El *Staphylococcus aureus* es un coco inmóvil Gram positivo, que mide de 0,5 a 1,5 micras de diámetro, que se divide en tres planos para formar grupos de células irregulares semejantes a racimos de uvas. En extendidos de pus los cocos aparecen solos, en pares, en racimos o en cadenas cortas. Los racimos irregulares son característicos de extendidos tomados de cultivos que se desarrollan en medios sólidos, mientras que en otros cultivos son frecuentes las formas de diplococos y en cadenas cortas. Unas pocas cepas producen una cápsula o capa de baba que incrementa la virulencia del microorganismo.<sup>30,31</sup>

### 2.2.3.2. Patogenia

Esta bacteria es patógena que actúa como saprófito, pues al género *Staphylococcus* pertenecen 32 especies, de ellas 16 colonizan a los seres humanos y algunas forman parte de la flora microbiana de la piel y mucosas del individuo; mientras que otras, forman parte de la flora de otros mamíferos y aves. Pero en ocasiones cuando las defensas del individuo disminuyen pueden llegar a colonizar y producir una infección ocasionando una enfermedad. La mayoría de pacientes que adquieren infección por *Staphylococcus aureus* son pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos; ya que, en su mayoría este tipo de bacteria infecta principalmente a la piel y tejidos blandos, produciendo neumonía, sialoadenitis, sepsis con o sin metástasis (osteítis, endocarditis, abscesos colonizados) y enfermedades por toxinas (síndrome de piel escaldada por estafilococo y gastroenteritis).<sup>29,30</sup>

Otra característica de este tipo de bacteria, es la resistencia a través de una betalactamasa inducible que le confiere la resistencia ante los betalactámicos como las penicilinas, cuya resistencia esta codificada por un plásmido presente en más del 90 % de las cepas. Otra de las cualidades es la resistencia al óxido nítrico, capacidad que los distingue de otras bacterias, incluyendo a *Staphylococcus epidermitis* y *Staphylococcus saprophyticus*, característica que se logró observar en pacientes resistentes a la metilina como en las que son susceptibles al antibiótico, así como en cepas presentes en hospitales y las demás adquiridas en la comunidad.<sup>29,30</sup>

La variabilidad de *Staphylococcus aureus*, es la rápida respuesta adaptativa frente a cambios del medio y su continua adquisición de determinantes de resistencia antibiótica, han hecho de éste un residente habitual del hábitat hospitalario, donde origina problemas de multirresistencia, ocasionalmente importantes. Aunque el término resistencia a metilina incluye resistencia a derivados  $\beta$ -lactámicos, las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (SARM) presentan, en general, resistencia múltiple a varios grupos de antibióticos. A través de diversos mecanismos, pueden presentar resistencia al cloranfenicol, tetraciclinas, macrólidos, lincosamidas, aminoglucósidos e incluso a quinolonas, describiéndose cada vez con mayor frecuencia brotes de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina y sensibles sólo a los glucopéptidos.<sup>29,30</sup>

### **2.2.3.3. Epidemiología**

La epidemiología de las infecciones por este tipo de bacteria, está relacionadas con la emergencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), bacteria que genera infección de un 80% de la piel y tejidos blandos. El *Staphylococcus aureus* es un patógeno de importancia a nivel mundial, puesto que es un microorganismo oportunista que se encuentra formando parte de la flora bacteriana normal del individuo sano, mostrándose pocos días después del nacimiento y encontrándose en el muñón del cordón umbilical, el área perianal, la piel y en ocasiones en el tractogastrointestinal. La infección o colonización más frecuente de *Staphylococcus aureus*, es la mucosa nasal y el principal reservorio lo forma el individuo enfermo o el portador; siendo más frecuente la colonización en hospitales, involucrados los pacientes con hemodiálisis, con diabetes mellitus tipo 1, pacientes con lesiones cutáneas, heridas quirúrgicas, individuos con neumonías y los con problemas de VIH. Una característica de este tipo de bacteria que se ha presentado durante años recientes, es la resistencia a diversos antibióticos, con los que se sigue el tratamiento, ya que en varias oportunidades se han reportado un gran número de brotes epidémicos de *Staphylococcus aureus* a nivel mundial, en especial en hospitales, centros de atención médica, clínicas privadas y otras en la comunidad.<sup>30,31</sup>

### **2.2.3.4. Tratamiento**

Esta bacteria produce la enzima beta-lactamasa, pero hay que tener en cuenta que está logrando un alto grado

de tolerancia contra penicilinas resistentes a beta-lactamasa como: la oxacilina, cloxacilina, dicloxacilina o metecilina. Estos *Staphylococcus* resistentes a metecilina son muy peligrosos, ya que generan varias infecciones nosocomiales (contraídas en el hospital) y son multiresistentes a una gran cantidad de antibióticos. La vancomicina, es el antibiótico de elección en caso de resistencia a la cloxacilina, cotrimoxazol, cefalosporina, amoxicilina asociada a ácido clavulánico, imipenem, clindamicina, ciprofloxacino o amikacina; pero en ciertas ocasiones, también ha desarrollado resistencia; siendo, el levofloxacino o la daptomicina, los que desencadenan menos resistencia.<sup>31,32</sup>

#### **2.2.4. *Escherichia coli***

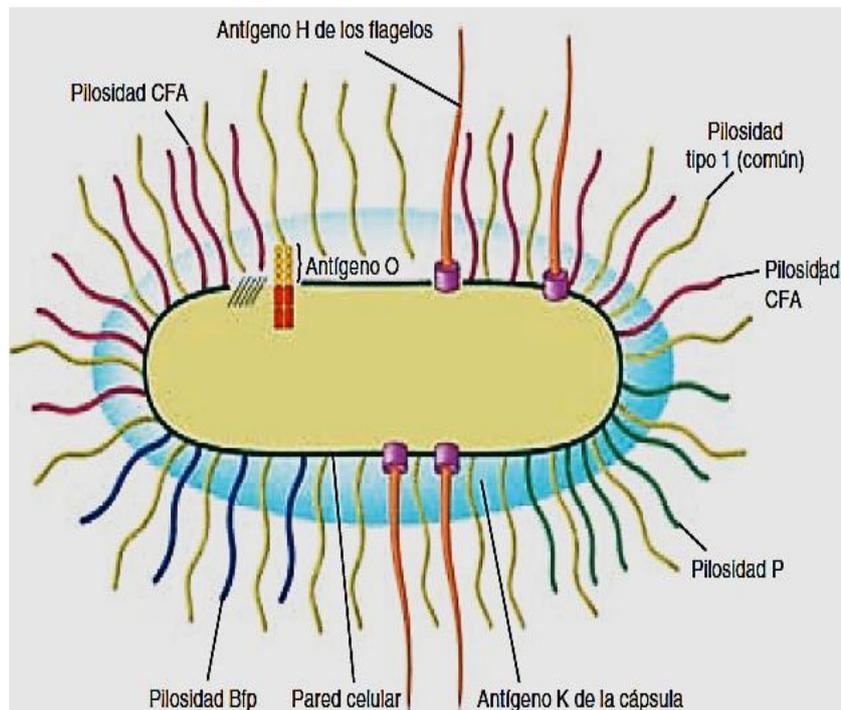
*Escherichia coli* es una bacteria Gram negativa, que coloniza el intestino del ser humano pocas horas después de su nacimiento y se considera un microorganismo de la flora normal, presente en el intestino; así como también se encuentra en aguas negras y en otros ambientes. Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore von Escherich, bacteriólogo alemán, quien la denominó *Bacterium coli*, que posteriormente recibiría el nombre de *Escherichia coli*, en honor a su descubridor. Esta bacteria y otras, que se encuentran en el intestino, son importantes para el buen funcionamiento correcto del proceso digestivo, además de producir las vitaminas B y K. *Escherichia coli* es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram (Gram negativo), es anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos (que rodean su cuerpo), no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa y su prueba de IMVIC es ++-- ( que se compone de cuatro pruebas: Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato).<sup>33,34</sup>

#### 2.2.4.1. Características

*Escherichia coli* se caracteriza por ser un bacilo Gram negativo, no esporulante, que produce indol a partir del triptófano, pues no utiliza citrato como fuente de carbono y no produce acetoina. Además, fermenta la glucosa y la lactosa con producción de gas. Esta bacteria, al igual que las demás bacterias Gram negativas consta de tres elementos: la membrana citoplasmática, la membrana externa y, entre ambas, un espacio periplásmico constituido por péptidoglucano. Esta última estructura confiere a la bacteria su forma y rigidez, y le permite resistir presiones osmóticas ambientales relativamente elevadas. *Escherichia coli* es una bacteria mesófila, su óptimo de desarrollo se encuentra en el entorno de la temperatura corporal de los animales de sangre caliente (35 - 43 °C). Parece, que las facultades de adaptación de esta bacteria son poco comunes, debido a la adquisición de nuevos genotipos a partir de plásmidos, bacteriófagos, y otros elementos que transmiten su material genético. Además, su conocida capacidad de ubicuidad favorece la aparición reiterada de cepas con nuevas propiedades, incluyendo capacidades patógenas no fácilmente reconocibles. Las cepas patógenas de este microorganismo se distinguen de la flora normal por poseer factores de virulencia, como exotoxinas. Los factores de virulencia específicos pueden utilizarse, junto al tipo de enfermedad.<sup>34,35</sup>

En sí, este tipo de bacteria, por lo mismo de poseer plásmidos que portan genes que codifican la producción de distintas adhesinas, enzimas o enterotoxinas, otorga a *Escherichia coli* características patogénicas

particulares y dependiendo de la producción de proteínas producidas, genera infecciones urinarias o gastrointestinales. Fermenta la lactosa, úrea y citrato negativo, indol positivo y móvil. Desde el punto de vista antigénico la especie de *Escherichia coli*, se compone de más de 150 serogrupos O; ya que contienen antígenos de envoltura polisacáridos K, que le confiere a la bacteria resistir más fácilmente la fagocitosis que las bacterias no capsuladas. Además, se describen más de 56 antígenos H que permiten completar su clasificación en serotipos O:H.<sup>34,35</sup>



**Figura N° 04: Estructura antigénica de *Escherichia coli***

**Fuente:** Garay H. 2015.<sup>13</sup>

#### 2.2.4.2. Clasificación

Se distinguen seis cepas según su capacidad patógena, a las cuales también se les puede llamar virotipos:

*Escherichia coli* enteropatógena (ECEP), enterotoxigénica (ECET), enteroinvasiva (ECEI), enterohemorrágica (ECEH), enteroagregativa (ECEA) y de adherencia difusa (ECAD).<sup>35,36</sup>

***Escherichia coli* enteropatógena (ECEP).** Esta cepa causa diarrea en humanos, conejos, perros y caballos, al igual que la enterotoxigénica, pero la etiología y los mecanismos moleculares de colonización son diferentes. Carece de fimbrias y no produce la toxina termoestable (ST) y la toxina termolábil (LT), pero utilizan la proteína intimina, una adhesina, para adherirse a las células intestinales. Este virotipo posee una serie de factores de virulencia que son similares a los que se encuentran en *Shigella*, como la toxina shiga. La adherencia a la mucosa intestinal causa una reordenación de la actina en la célula hospedante, que induce una deformación significativa. Estas bacterias son moderadamente invasivas: penetran en las células hospedadoras provocando una respuesta inflamatoria. La causa principal de diarrea en los afectados por esta cepa son seguramente los cambios provocados en la estructura de las células intestinales.<sup>35,36</sup>

***Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET).** Se parece mucho a *Vibrio cholerae*, se adhiere a la mucosa del intestino delgado, no la invade, y elabora toxinas que producen diarrea (diarrea del viajero). No hay cambios histológicos en las células de la mucosa y muy poca inflamación. Produce diarrea no sanguinolenta en niños y adultos, sobre todo en países en vías de desarrollo, aunque los desarrollados también se ven afectados.

Emplea varias toxinas, incluyendo la enterotoxina resistente al calor y la enterotoxina termolábil.<sup>35,36</sup>

***Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI).** Es inmóvil, no fermenta la lactosa, invade el epitelio intestinal causando diarrea sanguinolenta en niños y adultos, libera el calcio en grandes cantidades impidiendo la solidificación ósea, produciendo artritis y en algunos casos arterioesclerosis. Es una de las *E. coli* que causa más daño debido a la invasión que produce en el epitelio intestinal.<sup>35,36</sup>

***Escherichia coli* enterohemorrágica o verotoxigénica (ECEH).** La convención internacional de nomenclatura de patógenos ha recomendado el uso de STEC (Shiga Toxin *Escherichia coli*) para este grupo, debido a que estas bacterias producen una toxina citotóxica para células Vero de cultivo de similaridad estructural a la toxina producida por *Shigella dysenteriae*. Las STEC producen verotoxinas que actúan en el colon. Sus síntomas son: primero colitis hemorrágica, luego síndrome urémico hemolítico (lo anterior más afección del riñón, posible entrada en coma y muerte), y por último, púrpura trombocitopénica trombótica (lo de antes más afección del sistema nervioso central). Esta cepa no fermenta el sorbitol y posee un fago, donde se encuentran codificadas las verotoxinas, también llamadas "Toxinas Shiga", no posee una fimbria formadora de mechones, en vez de esto posee una fimbria polar larga que usa para adherencia.<sup>35,36</sup>

***Escherichia coli* enteroagregativa o enteroadherente (ECEA).** Sólo encontrada en humanos, son llamadas enteroagregativas porque tienen fimbrias con las que aglutinan células en los cultivos de tejidos, se unen a la mucosa intestinal causando diarrea acuosa sin fiebre, no son invasivas y producen hemolisina y una enterotoxina ST similar a la de las enterotoxigénicas. Se le asocian dos toxinas: toxina termoestable enteroagregante (EAST) y toxina codificada por plásmidos (PET).<sup>35,36</sup>

***Escherichia coli* de adherencia difusa (ECAD).** Se adhiere a la totalidad de la superficie de las células epiteliales y habitualmente causa enfermedad en niños inmunológicamente no desarrollados o malnutridos. No se ha demostrado que pueda causar diarrea en niños mayores de un año de edad, ni en adultos y ancianos.<sup>35,36</sup>

#### **2.2.4.3. Patogenia**

*Escherichia coli* puede causar infecciones intestinales y extra intestinales generalmente graves, tales como infecciones del aparato excretor, cistitis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía. El grupo *Escherichia enteroinvasiva* y *Shigella spp.* se encuentra relacionada genética y bioquímicamente. Se asocia fundamentalmente enfermedades de origen alimentario, siendo responsables de la diarrea del viajero. El mecanismo de patogenidad de ECEI es la invasión del epitelio del colon, sin producción de toxina termolábil (LT) y toxina termoestable (ST), dando lugar a una diarrea disenteriforme acuosa que se manifiesta con

sangre y mucosidad en heces acompañado de fiebre y dolor abdominal.<sup>33,34</sup>

*Escherichia coli*, está dividida por sus propiedades virulentas, pudiendo causar diarrea en humanos y otros animales. Otras cepas causan diarreas hemorrágicas por virtud de su agresividad, patogenicidad y toxicidad. La mayoría de pacientes que están predispuestos a sufrir infecciones intestinales (diarreicas) por este tipo de bacterias son los niños entre 1 y 8 años de edad, generado por la contaminación de los alimentos y por la mala cocción de los mismos.<sup>33,34</sup>

*Escherichia coli*, es una bacteria que forma parte de la población bacteriana normal de intestino; pero cuando, esta coloniza a otro lugar se vuelve patógena. Es responsable de la mayoría de infecciones urinarias (cistitis, pielonefritis, etc), que afecta en su mayoría a mujeres, por la corta longitud de la uretra (25 a 50 mm, o bien 1 a 2 pulgadas) en comparación con los hombres (unos 20 cm, o unas 8 pulgadas). Asimismo, las mujeres embarazadas también son blanco de infecciones urinarias, así como en los ancianos, estas tienden a ser de la misma proporción entre hombres y mujeres.<sup>34,35</sup>

#### **2.2.4.4. Enfermedades clínicas que produce *Escherichia coli***

**Infección del tracto urinario (ITU).** Más del 90% de los casos de cistitis y pielonefritis que se da en cada año, *Escherichia coli* es el microorganismo responsable. Las infecciones urinarias, son más frecuentes en mujeres que en hombres, de ellas el 40% han sufrido una

infección a lo largo de su vida, por lo común cuando tiene una vida sexual activa. Se sabe que este tipo de bacteria tiene como reservorio al intestino, que es comúnmente natural, pero cuando migra por la zona perianal y uretra, colonizan y se vuelve patógena, llegando de inmediato a la vejiga, después del coito, generando cistitis. Pese a la lucha del organismo para eliminar la bacteria, mediante la micción, en muchos casos se vuelve complicada, dando origen a otras infecciones urinarias como la hipertrofia prostática y pielonefritis.<sup>34,35</sup>

**Septicemia:** De hecho, la mayoría de septicemias provienen de infecciones del tracto urinario y digestivo (por ej., perforación gastrointestinal que provoca una infección intraabdominal). La mortalidad que se asocia a la septicemia por dicha bacteria es elevada en pacientes cuya inmunidad está alterada, o en los que la infección primaria se localiza en el abdomen o en el sistema nervioso central (SNC).<sup>34,35</sup>

**Meningitis neonatal:** la *Escherichia coli* y el *Streptococcus* de grupo B, son las que ocasionan la mayoría de infecciones del sistema nervioso central, en niños menores de un mes. Más o menos el 75% de las cepas de *Escherichia coli* poseen un antígeno K, serogrupo que está presente en el aparato digestivo de las mujeres embarazadas y de los recién nacidos; sin embargo, no se precisa cual es el mecanismo que predilecto para este serogrupo, que genera la enfermedad en los neonatos.<sup>34,35</sup>

**Gastroenteritis:** Existen diferentes serotipos de *Escherichia coli* que generan gastroenteritis de las cuales, *Escherichia coli* enterotoxigénica, enteropatógena y enteroagregativa, son las que

ocasionan generalmente una infección diarreica secretora que involucra al intestino delgado; mientras que los serotipos de *Escherichia coli* enterohemorrágica y enteroinvasiva, causan o infectan al intestino grueso.<sup>34,35</sup>

#### 2.2.4.5. Tratamiento

Para elegir el medicamento ideal, se debe primeramente realizar un análisis correspondiente de sensibilidad antibiótica o antibiograma, que ayuda a elegir el medicamento más efectivo contra el tipo de microorganismo que está generando la infección. Los medicamentos que mayormente son utilizados para la infección contra *Escheerichia coli*, son: el trimetoprim + sulfametoxazol (efectivo en problemas de colitis), las quinolonas (ciprofloxacino, levofloxacino, etc), para el tratamiento de las infecciones del tracto urinario, las cefalosporinas (ceftriaxona), el cloranfenicol. etc.<sup>36,37</sup>

### 2.3. Definición de términos básicos

- **Antibiograma:** Es una prueba microbiológica que se utiliza para determinar la susceptibilidad de una bacteria a un grupo de antibióticos y es medida mediante por medio del halo de inhibición que genera.<sup>1</sup>
- **Antibacteriano:** Cualquier sustancia que tiene efecto o es capaz de retardar, inhibir o interferir en la replicación bacteriana.<sup>2</sup>
- **Bacteriostático:** Sustancia o medicamento que no produce la muerte de una o más bacterias, solo impide su reproducción, de tal manera que la bacteria muere sin alcanzar la replicación.<sup>39</sup>
- **Bactericida:** Sustancia capaz de producir la muerte a una o más bacterias, en su mayoría produce lisis de la membrana celular o del material citoplasmático de la bacteria.<sup>38</sup>

- **Halo de inhibición:** Es un método microbiológico que consiste en verificar si existe crecimiento o no de bacterias alrededor de un disco de sensibilidad antibiótica, realizado durante un antibiograma.<sup>38</sup>
- **Microdilución:** Es la dilución en Agar o caldo (medio de cultivo), motivo para realizar un ensayo in vitro la sensibilidad de bacterias.<sup>39</sup>
- **Escala de MacFarland:** Los estándares de McFarland son patrones de turbidez basados en suspensiones de sulfato de bario. La escala consta de 11 patrones (desde 0,5 hasta 10), cada uno de los cuales tiene una turbidez comparable a la de una suspensión bacteriana con una densidad determinada.<sup>38</sup>
- **Dimetilsulfoxido:** Es un líquido orgánico incoloro, que se utiliza como disolvente orgánico.<sup>9</sup>
- **Cepas ATCC:** Es un tipo de colonias bacterias de referencia, utilizados en diferentes disciplinas, para de control de calidad en microbiología.<sup>1</sup>
- **Colonia:** Crecimiento visible de un solo tipo de bacterias en una placa Petri con un medio de cultivo adecuado.<sup>1,2</sup>
- **Infeción:** Es un proceso donde existe la invasión y multiplicación de microorganismos patógenos en los tejidos de un organismo.<sup>39</sup>
- **Concentración inhibitoria mínima (CIM):** Es la medida de la sensibilidad de una bacteria frente a un antibiótico, representa la mínima concentración de un antimicrobiano que es capaz de impedir el crecimiento de un microorganismo (bacteria) en condiciones adecuadas de temperatura, tras la incubación de placas de 18 a 24 horas.<sup>39</sup>
- **Concentración mínima bactericida (CMB):** Es la mínima cantidad de antibiótico capaz de destruir el 99,9% de una de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas.<sup>38</sup>
- **Inóculo:** Alícuota de un cultivo bacteriano transferida a un medio de cultivo.

- **Unidad formadora de colonia (UFC):** Célula viva y aislada que se encuentra en un substrato y en condiciones ambientales adecuadas y produce una colonia en un breve lapso de tiempo.<sup>38,39</sup>

## CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 3.1. Formulación de la hipótesis

#### 3.1.1. Hipótesis general

**H<sub>i</sub>:** La mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

#### 3.1.2. Hipótesis específicas

**H<sub>1</sub>:** La mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*.

**H<sub>2</sub>:** La mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli*.

### 3.2. Identificación de variables

#### 3.2.1. Variable independiente

Mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero”

#### 3.2.2. Variable dependiente

Efecto antibacteriano.

### 3.3. Operacionalización de variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" y <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero"	El aceite esencial es un principio activo, que tienen algunas plantas aromáticas (orégano y romero) que se obtienen a partir de las hojas.	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" y <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero" (grupo problema).	-50% -75% - 100%	%

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
<u>Dependiente:</u> Efecto antibacteriano	Capacidad que tiene una sustancia de inhibir o producir lisis a una o más bacterias.	Halo de inhibición	Diámetro del halo de inhibición	Mm

## CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

### 4.1. Tipo y nivel de investigación

#### 4.1.1. Tipo de investigación

**Prospectivo:** Porque empieza antes que los hechos estudiados (exposición al factor y efecto). Los resultados se observaron en un determinado periodo de tiempo.<sup>40</sup>

**Longitudinal:** Estudio en el que se recopilaban datos de la misma muestra repetidamente durante un periodo de tiempo con el fin de evaluar los cambios que se produjeron.<sup>40</sup>

#### 4.1.2. Nivel de investigación

La investigación fue de nivel explicativa, pues tuvo como fin explicar el comportamiento de una variable en función de la otra(s), por ser una investigación de causa efecto in vitro.<sup>40</sup>

### 4.2. Método y diseño de investigación

#### 4.2.1. Método de investigación

**Método experimental.** Porque establece la causa y el efecto de un fenómeno, lo que significa que debe ser claro que los efectos observados en el experimento, que se deben a la causa. Asimismo, se considera experimental porque el investigador asigna un factor de estudio y lo controla de forma deliberada para fines de su investigación y según su plan preestablecido.<sup>40</sup>

**Cuantitativa:** Porque comparó datos en distintas muestras, sacando un promedio numérico (medida del halo de inhibición) en un determinado periodo de tiempo. El rigor científico de esta investigación se fundamentó en la fiabilidad y la validez de los datos.<sup>40</sup>

#### **4.2.2. Diseño de investigación**

Experimental, porque estuvo guiado y diseñada por una metodología estandarizada donde hubo manipulación de la variable experimental (independiente) no comprobada, en condiciones necesariamente controladas, a fin de describir de qué modo o porque causa se produce una situación o acontecimiento particular. Del mismo modo trató de medir el efecto de la variable independiente sobre la dependiente y validó internamente la situación experimental.<sup>40</sup>

#### **4.3. Población y muestra de la investigación**

##### **4.3.1. Población**

Hojas de *Origanum vulgare* “orégano”.

Hojas de *Rosmarinus officinalis* “romero”.

##### **4.3.2. Muestra**

- Mezcla de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” con aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero”.

##### **Criterios de inclusión**

- Se incluyó el aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano”, con buenas características organolépticas (olor, color, sabor, consistencia, etc), el mismo que estuvo libre de alguna contaminación microbiológica (bacterias y hongos). Además, se verificó que las hojas de esta especie para la extracción del aceite esencial mantuvieran también, buenas características organolépticas y no presentaran alguna contaminación microbiológica.
- Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero”, en condiciones adecuadas de almacenamiento (temperatura y humedad), con buenas características organolépticas (color,

olor, sabor, etc). Las hojas de esta especie que se utilizaron para extraer el aceite esencial, se incluyeron también, a las que mostraron buenas características organolépticas y no presentar indicios de contaminación microbiana.

#### **Criterios de exclusión**

- Se excluyó el aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano”, con malas características organolépticas (color, sabor, olor, etc) y el que presentó indicios de contaminación microbiana (bacteria u hongo). Asimismo, las hojas de esta especie, en las mismas condiciones.
  
- Aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero”, con indicios de contaminación microbiana (hongo u bacteria) y con malas características organolépticas. Las hojas de esta especie que no cumplieron con los criterios de inclusión, también fueron desechadas.

#### **4.4. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos**

##### **4.4.1. Técnicas**

**Técnica de Kirby Bauer.** Antibiograma disco en placa, se utiliza para determinación de la sensibilidad antibiótica de algunas sustancias o de antimicrobianos. El microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre el cual se colocan discos impregnados con una concentración conocida del antibiótico. Las placas se incuban por 16 a 24 horas a 35 - 37°C, tiempo durante el cual se leerán los resultados.<sup>38,39</sup>

**Observatoria:** Se observó y se tomaron fotografías de los halos de inhibición que se formaron al alrededor de los discos, tanto de la mezcla del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis*

“romero” con *Origanum vulgare* “orégano” y de los discos del alcohol etílico y ciprofloxacino.<sup>38,39</sup>

**Medición:** Consistió en medir con una regla milimetrada el halo de inhibición (mm) de las placas Petri, tanto del grupo control, blanco y problema.<sup>39</sup>

#### **4.4.2. Instrumentos**

- Ficha e registro de datos (Anexo N° 03)

#### **4.4.3. Procedimientos**

##### **4.4.3.1. Certificación taxonómica**

Certificación taxonómica, realizado en la Universidad Nacional de Cajamarca, por el Botánico Isidro Sánchez Vega y aprobado por el Director: M.Sc. Gustavo Ibérico Vela (Anexo N° 02).

##### **4.4.3.2. Obtención de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero”**

Las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” se obtuvieron del distrito de Cutervo, Provincia de Cutervo y Región Cajamarca. Para ello se viajó a dicho lugar y se entrevistó a algunos habitantes de la zona, con la finalidad de dar a conocer el motivo de la visita, dejando en claro el trabajo de investigación con los objetivos propuestos. Luego, en compañía con ellos de identificarán y recolectarán 8 kg de hojas de cada especie vegetal (orégano y romero), utilizando guantes y tijera, para posteriormente empacarlas y de inmediato trasladarlas a la ciudad de Cajamarca y luego al Laboratorio de Biología de la Universidad Nacional de

Cajamarca, en donde se lavaron con agua potable y se enjuagarán con agua destilada, llevando a secar por un periodo corto de tiempo a fin de que se elimine el agua impregnada y proceder a la extracción del aceite esencial.

#### **4.4.3.3. Obtención del aceite esencial a partir de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero”**

##### **Método de arrastre de vapor de caldera de acero inoxidable**

La obtención del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y de *Rosmarinus officinalis* “romero”, se realizó por separado, pero el procedimiento fue en mismo, realizándose de la siguiente manera:<sup>41</sup>

- Se pesó 7 kg de hojas de la especie vegetal y se colocó en el recipiente para la muestra.
- Posteriormente se agregó agua destilada (cantidad necesaria) en el tanque generador de vapor.
- Luego se acoplaron los tres componentes del equipo, dejando correr el agua por el refrigerante y un beaker donde se recibió el destilado.
- Se extrajo el aceite esencial por un tiempo de 4 horas. Transcurrido este tiempo de extracción, se separó el agua del aceite con la ayuda de una pera de decantación.
- En seguida se procedió a envasar el aceite esencial, en un frasco de color ámbar con tapa rosca y luego se almacenó en condiciones adecuadas de humedad y temperatura, hasta su posible utilización.

#### 4.4.3.4. Mezcla y dilución del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero”

Se mezcló la misma cantidad de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” (10 mL de aceite esencial de orégano + 10mL de aceite esencial de romero = 20 mL mezcla total) y luego se diluyó con alcohol etílico de 70° a concentraciones de 50%, 75% y 100%; tal y como se muestra, en el siguiente cuadro:

Volumen de la mezcla del aceite esencial de orégano y romero (mL)	Volumen del alcohol de 70° (mL)	Volumen total (mL)	Concentración (%)
5	5	10	50
7,5	2,5	10	75
10	0	10	100

#### 4.4.3.5. Obtención de las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922

Las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922 se obtuvieron del Laboratorio Clínico del Hospital Regional Docente de Cajamarca. Para esto, se envió una solicitud al jefe de esta área, mencionando el trabajo de investigación a desarrollar y los objetivos planteados.

#### **4.4.3.6. Obtención de discos de sensibilidad antibiótica de ciprofloxacino**

Los discos de sensibilidad antibiótica de ciprofloxacino de 5 µg fueron comprados de un Laboratorio Clínico Privado de la ciudad de Cajamarca. Según el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI), este tipo de antibiótico se usa en antibiograma mediante la técnica de Kirby- Bauer, efectivo frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 que puede alcanzar un halo de inhibición de 30 a 40 mm de diámetro; frente a *Staphylococcus aureus* ATCCC 25923 un halo de inhibición de 22 a 30 mm de diámetro; y frente a *Pseudomonas auruginosa* ATCC 27853, un halo de inhibición de 25 a 33 mm de diámetro.

#### **4.4.3.7. Preparación del Agar Müller Hinton**

La preparación de este medio de cultivo se realizó de la siguiente manera:<sup>38,39</sup>

- Primero se homogenizó el medio de cultivo en polvo, dando varias agitaciones al frasco.
- Se pesó 35 g de medio de cultivo deshidratado (Agar Müller Hinton) y se suspendió en un litro de agua destilada en un balón de fondo plano, colocando en seguida un tapón de algodón en la boca del balón.
- Con la ayuda de una cocina eléctrica, se calentó agitando frecuentemente hasta su ebullición y completa disolución.
- Se llevó a esterilizar en autoclave a 121 °C (15 lb de presión) durante 15 minutos.
- Transcurrido este tiempo se retiró del autoclave y se dejó enfriar hasta una temperatura de 45 °C aproximadamente.

- Una vez obtenida la temperatura adecuada se encendió el mechero (barrera protección y esterilización) y se procedió a servir en placas Petri de 100 mm de diámetro, un volumen de 25 mL por placa Petri.
- Se dejó enfriar hasta su solidificación.
- Finalmente se llevó a incubar a 37 °C por 24 horas.

#### **4.4.3.8. Preparación del inóculo bacteriano de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli***

Este procedimiento se realizó por separado para cada cepa bacteriana (*Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*), pero la metodología fue la misma, preparándose de la siguiente manera:<sup>38,39</sup>

- De las colonias puras de las placas Petri con las cepas bacterianas (*Staphylococcus aureus* o *Escherichia coli*), se tomaron una cierta cantidad de colonias (3 ó 4) con un asa de siembra y se diluyeron en un tubo de ensayo con 10 mL de suero fisiológico al 0,9%, de tal manera que esta solución llegó a la turbidez muy similar a la escala de Mac Farland el cual corresponde a una concentración de  $3 \times 10^8$  UFC/mL (tubo N° 1).
- Posteriormente, de esta última dilución (tubo N° 1), se hizo otra dilución de 1 en 3. Para ello, de esta solución preparada, se tomó 3 mL y se diluyó en un volumen total de 9 mL con suero fisiológico en un tubo con tapa rosca, todos los materiales usados fueron estériles y también el área de trabajo. La solución resultante tendrá una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/mL.
- En seguida y bajo las mismas condiciones, se realizó una nueva dilución de 1 en 100, para lo cual se añadió

0,1 mL de la solución anterior ( $1 \times 10^8$  UFC/mL) a un tubo de ensayo con 9,9 mL de suero fisiológico; por lo que, la solución resultante, estuvo a una concentración de  $1 \times 10^6$  UFC/mL similar al estándar de la escala de Mac Farland. Así que, se tuvo un tubo de ensayo con una solución de  $1 \times 10^6$  UFC/mL de *Staphylococcus aureus* y otra de *Escherichia coli*, que sirvieron para inocular a las placas Petri con Agar Müller Hinton y realizar el antibiograma.

#### **4.4.3.9. Diseño de contrastación experimental:**

**Grupo blanco:** Conformado por discos de sensibilidad de 6 mm de diámetro, embebidos con alcohol etílico de 70°.

**Grupo control positivo:** Conformado por discos de sensibilidad antibiótica de ciprofloxacino de 5 µg.

**Grupo problema I:** Conformado por discos de sensibilidad de 6 mm de diámetro embebidos con la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%.

**Grupo problema II:** Conformado por discos de sensibilidad de 6 mm de diámetro embebidos con la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 75%.

**Grupo problema III:** Conformado por discos de sensibilidad de 6 mm de diámetro embebidos con la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 100%.

#### 4.4.3.10. Procedimiento para el antibiograma: Método de Kirby Bauer

Se usaron un total de 20 placas con Agar Müller Hinton inoculadas con las respectivas cepas bacterianas: 10 para *Staphylococcus aureus* y 10 para *Escherichia coli*, cuyo procedimiento fue el mismo para ambas:<sup>38,39</sup>

- Del inóculo bacteriano (*Staphylococcus aureus* o *Escherichia coli*), se tomó una alícuota de 100 µL y se colocaron en las placas estériles con Agar Müller Hinton.
- Para la distribución uniforme del inóculo, se utilizó la técnica de escobillado, efectuando con un hisopo estéril, un barrido en tres direcciones, girando la placa a 90 grados.
- Luego, haciendo uso de una pinza estéril y ejerciendo una ligera presión sobre la superficie del medio de cultivo, se aplicó a cada placa, un disco de sensibilidad embebido con alcohol etílico de 70° (grupo blanco), un disco de sensibilidad antibiótica de ciprofloxacino de 5 µg (grupo control positivo), un disco de sensibilidad embebido con la mezcla de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50% (grupo problema I), un disco de sensibilidad embebido con la mezcla de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 75% (grupo problema II) y un disco de sensibilidad embebido con la mezcla de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 100% (grupo problema III), guardando una misma distancia entre disco y disco.

- Después de 10 minutos transcurridos, se llevó a incubar a 37 °C por 24 horas en posición invertida.
- Finalmente se retirarán de la incubadora y se leyeran los resultados; que consistirá en medir el halo de inhibición, con una regla milimetrada.

#### **4.4.3.11. Escala de Duraffourd**

Esta escala fue utilizada para determinar cualitativamente el efecto inhibitorio in vitro, según el diámetro de inhibición de cada concentración del extracto estudiado:<sup>39</sup>

- Nula (-): Diámetro inferior a 8 mm
- Sensibilidad límite (+): Diámetro comprendido entre 8 mm a 14 mm
- Muy sensible (++) : Diámetro comprendido entre 14 mm y 20 mm
- Sumamente sensible (+++): diámetro superior a 20 mm.

#### **4.5. Técnicas estadísticas para el procesamiento de la información**

Los resultados se presentan en cuadros y gráficos. La diferencia significativa que existe entre los grupos de experimentación fue evaluada a través del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística menor a 0,05 y un índice de confianza del 95%. Tomando como parámetros de: significativo, si  $p < 0,05$  y no significativo, si  $p > 0,05$ .

#### **4.6. Aspectos éticos**

El presente trabajo de investigación se realizó empleando dos especies vegetales, por lo que se tuvo en cuenta el cuidado de la biodiversidad; ya que, de acuerdo a la Ley General del Ambiente (Ley N° 28611) y según el artículo 85°: Los recursos naturales son Patrimonio de Estado,

solo por derecho otorgado de acuerdo a la ley y a los correctos procedimientos, se pueden aprovechar los frutos, raíces, cortezas, tallos, hojas y demás productos de los mismos, salvo algunas excepciones que la ley no lo permite.<sup>42</sup>

Asimismo, las cepas bacterianas de *Saphylococcus aureus* y *Escherichia coli* se obtuvieron del Laboratorio Clínico del Hospital Regional Docente de Cajamarca, razón por la que se consideró y conservó el derecho a confidencialidad del Profesional de la Salud. Pues, de acuerdo a la Ley General de Salud (Ley N° 26842), tal como lo dice el artículo 25°: Toda información relativa al acto médico que se realiza, tiene carácter reservado y se exceptúa de la reserva de la información relativa al acto médico, cuando fuere utilizada con fines académicos o de investigación científica, siempre que la información obtenida de la historia clínica se consigne en forma anónima.<sup>43</sup>

**CAPÍTULO V:  
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

**5.1. Resultados de la investigación**

**Tabla N° 01: Diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus*.**

<b>Grupos de experimentación</b>	<b>Sustancias ensayadas</b>	<b>Diámetro promedio del halo de inhibición (mm) frente a <i>Staphylococcus aureus</i></b>
<b>Grupo blanco</b>	Alcohol etílico de 70°	<b>6</b>
<b>Grupo control positivo</b>	Ciprofloxacino de 5 µg	<b>28,6</b>
<b>Grupo problema I</b>	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%	<b>16</b>
<b>Grupo problema II</b>	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 75%	<b>20,1</b>
<b>Grupo problema III</b>	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 100%	<b>25</b>

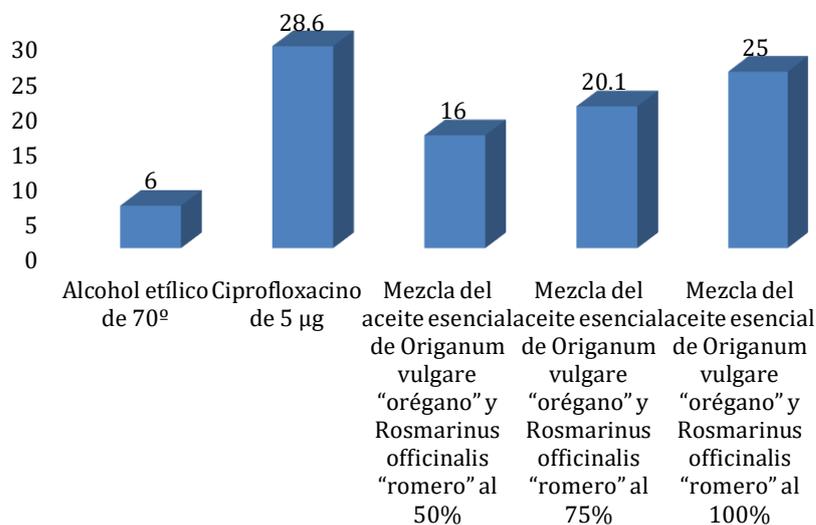
**Fuente:** Elaboración propia de la tesista.

**Tabla N° 02: Análisis de varianza ANOVA del diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus*.**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig. (p-value)*
Entre grupos	3072,7	4	768,18	1179,8	0,000
Dentro de los grupos	29,3	45	0,65		
Total	3102,02	49			

Fuente: Elaboración en base a análisis de varianza ANOVA.

\*:  $p < 0,01$ : La diferencia es muy significativa



**Figura N° 05: Diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% frente a *Staphylococcus aureus*.**

**Interpretación:** En la tabla N° 01 y figura N° 05 se puede observar que el grupo problema I, II y III, perteneciente a la mezcla de aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% obtuvieron un halo promedio de inhibición de 16; 20,1; y 25 mm de diámetro respectivamente frente a *Staphylococcus aureus* a diferencia del grupo control positivo (ciprofloxacino) que logró un halo promedio de 28,6 mm de diámetro y el alcohol etílico un halo de inhibición promedio de 6 mm de diámetro. Asimismo, la tabla N° 02 indica que existe diferencias muy significativas de  $p < 0,01$  entre los grupos de experimentación (blanco, control positivo y problemas I, II y III) de acuerdo al análisis de varianza

**Tabla N° 03: Diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% frente a *Escherichia coli*.**

<b>Grupos de experimentación</b>	<b>Sustancias ensayadas</b>	<b>Diámetro promedio del halo de inhibición (mm) frente a <i>Escherichia coli</i></b>
<b>Grupo blanco</b>	Alcohol etílico de 70°	<b>6</b>
<b>Grupo control positivo</b>	Ciprofloxacino de 5 µg	<b>37</b>
<b>Grupo problema I</b>	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%.	<b>11,1</b>
<b>Grupo problema II</b>	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 75%.	<b>16,2</b>
<b>Grupo problema III</b>	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 100%.	<b>21,9</b>

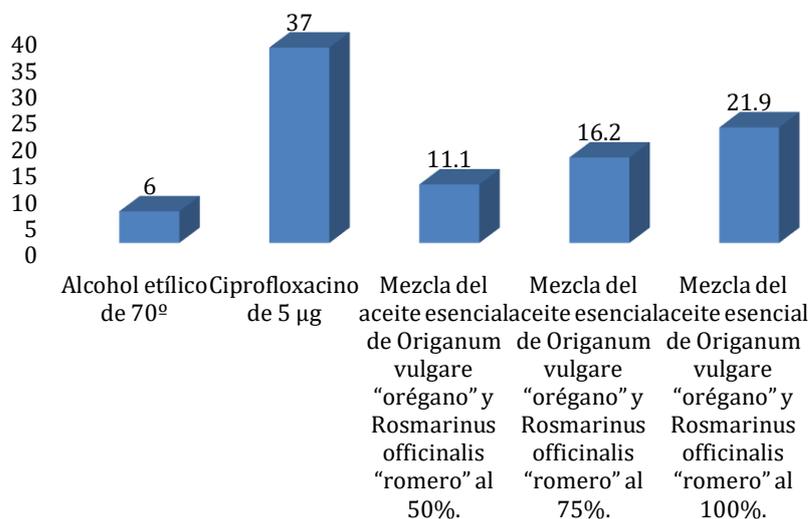
**Fuente:** Elaboración propi de la tesista.

**Tabla N° 04: Análisis de varianza ANOVA del diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% frente a *Escherichia coli*.**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Sig. (p-value) *
Entre grupos	5700,9	4	1425,23	2340,71	0,000
Dentro de los grupos	27,4	45	0,61		
Total	5728,32	49			

Fuente: Elaboración en base a análisis de varianza ANOVA.

\*:  $p < 0,05$ : La diferencia es muy significativa



**Figura N° 06: Diámetro promedio del halo de inhibición del alcohol etílico, ciprofloxacino y de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% frente a *Escherichia coli*.**

**Interpretación:** La tabla N° 03 la figura N° 06 muestran que la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% alcanzaron halos de inhibición de 11,1; 16,2; y 21,9 mm de diámetro respectivamente frente a *Escherichia coli*; mientras que, el ciprofloxacino logró un halo promedio de inhibición de 37 mm de diámetro y el alcohol etílico un halo promedio de inhibición de 6 mm de diámetro, que representa al disco de sensibilidad en blanco. De la misma manera, la tabla N° 04 y según el análisis de varianza ANOVA refiere que existe diferencias muy significativas de  $p < 0,01$  entre los grupos de experimentación blanco (alcohol etílico), control positivo (ciprofloxacino) y problemas I, II y III (mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100%).

## CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

### 6.1. Discusión de la investigación

*Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram positiva patógena para el ser humano, que coloniza e infecta principalmente a pacientes hospitalizados e inmunodeprimidos, responsable de diversas patologías, como infección de la piel y tejidos blandos (absceso de la piel), en algunos casos neumonía y hasta septicemias. Es también responsables de algunas intoxicaciones por alimentos, la cual ocurre por la ingestión de la enterotoxina B, producto de la cepa toxigénica de *Staphylococcus aureus* que crece en los alimentos. Por otra parte *Escherichia coli*, es un bacteria Gram negativa que pertenece al género de la familia de las enterobacterias, responsables de producir infecciones gastrointestinales y del tracto genitourinario. Frente a estos tipos de bacterias existen diferentes antibióticos selectivos capaces producir lisis y curar las patologías; pero el problema, está en la resistencia bacteriana que producen algunas bacterias como el *Staphylococcus aureus*, que se caracteriza por crear resistencia a diferentes antibióticos como la meticilina, penicilina, algunos macrólidos, lincomicinas y otros; por lo que, también existe alterativas de tratamiento no farmacológico, tal es el caso del uso de especies medicinales, que gracias a sus componentes, como flavonoides, alcaloides, taninos y otros, son capaces ejercer diferentes propiedades terapéuticas. De ahí, nace la idea de esta investigación que trazó como objetivo principal determinar el efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Para ello, se hizo un antibiograma mediante la técnica de Kirby – Bauer, determinándose el efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite

esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% (grupos problemas I, II y III) frente a *Staphylococcus aureus*, obteniendo halos de inhibición promedio de 16 mm de diámetro para la concentración del 50%, 20,1 mm para la concentración del 75% y 25 mm para la concentración del 100%; pero, el halo promedio de mayor inhibición (28,6 mm de diámetro) se logró con el ciprofloxacino (grupo control positivo); mientras que, el alcohol etílico de 70° (grupo blanco) hizo un halo de inhibición promedio de 6 mm de diámetro, que no es más que el diámetro del disco de sensibilidad en blanco, lo que significa que no existió ningún efecto antibacteriano; que de acuerdo al análisis de varianza ANOVA, refiere que existió diferencias muy significativas de  $p < 0,01$  entre los grupos de experimentación (blanco, control positivo y problemas I, II y III). Tomando como referencia a la escala de Duraffourd, en la que menciona que cuando una sustancia alcanza un halo de inhibición de 8 a 14 mm de diámetro se dice que existe una sensibilidad límite; pero, cuando el halo de inhibición es de 14 a 20 mm, se dice que el microorganismo es muy sensible a esa sustancia; o si, el diámetro es superior a los 20 mm de diámetro, el microorganismo es sumamente sensible a la sustancia ensayada.<sup>39</sup> En base a esta información, la cepa de *Staphylococcus aureus* es sumamente sensible al ciprofloxacino, el mismo que logró el mayor halo de inhibición in vitro (28,6 mm de diámetro), antibiótico perteneciente a las quinolonas, con actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* comprobada, cuyo mecanismo de acción estaría relacionado la inhibición de la de síntesis bacteriana del ADN, siendo su blanco la topoisomerasa II, esta inhibición enzimática produce el efecto bactericida de las quinolonas; además, se ha determinado que también inhiben a la topoisomerasa IV bacteriana, encargada de separar la parte replicada del DNA, aunque el bloqueo de esta última tiene mayor importancia en las bacterias Gram positivas y no tanto en las Gram negativas. De igual manera, la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y

*Rosmarinus officinalis* “romero” logró un halo de inhibición promedio de 25 mm de diámetro al 100%; por lo que se puede decir, que el *Staphylococcus aureus* es sumamente sensible a esta sustancia ensayada tanto como lo es al ciprofloxacino. Dicho de otra manera, la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” mostró tener efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus*, esto se debería exclusivamente a sus principios activos, como el carvacrol y timol en el *Origanum vulgare* “orégano” y a los compuestos fenólicos, taninos y demás componentes en el *Rosmarinus officinalis* “romero”; pero, según **García R, Palou E**, en base al aporte de **Lambert et al**, mencionó que el carvacrol daña la membrana celular del *Staphylococcus aureus*, provocando la disipación de dos componentes de la fuerza motriz del protón: el gradiente de pH y el potencial eléctrico, pudiendo ser mayor el daño de la membrana celular bacteriana en presencia de otros principios activos.<sup>44</sup> Retomando los resultados de este estudio y comparándolo con los de otros autores, podemos observar similitud con el de **Choque M**; ya que, obtuvo halos de inhibición promedio de 20,46 mm al 100%, 17,54 mm al 75%, 14,31 mm al 50% y 12 mm de diámetro al 25% al determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*.<sup>7</sup> Claro que en este estudio, el mayor halo de inhibición fue de 25 mm de diámetro a la concentración del 100%, esto se debería exclusivamente al sinergismo de los principios activos que contiene el aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero”. Vale recalcar que la combinación de dos especies medicinales, tienden a incrementar sus propiedades terapéuticas, en este caso, el efecto antibacteriano; porque, **Figuroa B**, logró obtener el mayor halo de inhibición promedio a la concentración de 100% (8,20 mm de diámetro), seguido de 7,4 mm al de 75%, en su ensayo de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Rosmainus officinalis* “romero” frente a *Staphylococcus aureus*.<sup>11</sup> Quedando comprobado

que, la combinación del aceite esencial de estas dos especies medicinales, tienen mayor efecto antibacteriano juntas, que por separado. Pero, resultados mucho más contrastables e incluso mayores encontró **Garay H**, al determinar halos de inhibición promedio de 10 mm al 10%, 17 mm al 50% y 30 mm de diámetro al 100% del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” frente a *Escherichia coli* y halos de inhibición promedio de 7 mm al 10%, 36 mm al 50% y 41 mm de diámetro al 100% frente a *Staphylococcus aureus*.<sup>13</sup>

Por otro lado, se determinó el efecto antibacteriano de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% (grupo problema I, II y III) frente a *Escherichia coli* alcanzando un halo de inhibición promedio in vitro de 11,1 mm de diámetro a la concentración del 50%, 16,2 mm al 75% y 21,9 mm de diámetro al 100%; asimismo, el ciprofloxacino (grupo control positivo) logró un halo de inhibición promedio de 37 mm de diámetro; y el, alcohol etílico (grupo blanco), 6 mm de diámetro; datos que, según el análisis de varianza ANOVA refiere que existió diferencias muy significativas de  $p < 0,01$  entre los grupos de experimentación. No cabe duda que la combinación del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” fue una combinación ideal, pues aparte de tener efecto antibacteriano frente al *Staphylococcus aureus*, mostró también tener efecto antibacteriano contra *Escherichia coli*, alcanzando un halo de inhibición promedio de 21,9 mm de diámetro a la concentración del 100%, que según la escala de Duraffourd, *Escherichia coli* sería muy sensible a esta combinación de aceite esencial, porque superó una inhibición de 20 mm de diámetro, gracias a los principios activos, como el carvacrol, timol, taninos, compuestos fenólicos, entre otros, los mismos que le otorgarían dicha propiedad terapéutica. Resultados contrastables y casi iguales obtuvo **Alegre L**, al demostrar, que el aceite esencial de

*Origanum vulgare* “orégano” logró un halo de inhibición de 21,93 mm de diámetro a la concentración de 100% frente a *Escherichia coli*, seguido de 15,64 mm al 75% y 10,43 mm al 50%; asimismo, el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero” alcanzó halos de inhibición promedio de 9,64 mm al 75%, 14,64 mm al 100% frente a la misma cepa bacteriana.<sup>9</sup> Otra investigación que tiene similitud es el de **Carrillo J**, al determinar halos de inhibición in vitro de 8,06; 10,94; 10,25 y 18,38 mm de diámetro en sus concentraciones de 5, 10, 25 y 100% respectivamente, del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a *Escherichia coli*.<sup>10</sup> De igual manera, **López E**, también demostró que *Origanum vulgare* “orégano” tiene actividad antibacteriana frente a la cepas de *Escherichia coli*, al determinar halos de inhibición de 13,01 mm al 30%, 17,62 mm al 60% y 16,05 mm de diámetro al 90%; mientras que, frente a *Staphylococcus aureus*, los halos de inhibición fueron de 13,25 mm al 30%, 16,35 mm al 60% y 25 mm de diámetro al 90%.<sup>15</sup> Con la información de los estudios antes mencionados y con los resultados que arrojó esta investigación, queda demostrado científicamente que la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; pero, el mayor efecto se vio reflejado frente a *Staphylococcus aureus*.

## CONCLUSIONES

- Se determinó que la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” tiene efecto antibacteriano in vitro frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.
- La mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% alcanzaron halos de inhibición promedio de 16; 20,1; y 25 mm de diámetro respectivamente frente a *Staphylococcus aureus*, mostrando efecto antibacteriano in vitro en todas sus concentraciones ensayadas.
- La mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” al 50%, 75% y 100% alcanzaron halos de inhibición promedio de 11,1; 16,2; y 21,9 mm de diámetro respectivamente frente a *Escherichia coli*, mostrando efecto antibacteriano in vitro en todas sus concentraciones ensayadas.

## RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar algunos estudios relacionados al efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y oro tipo de cepas bacterianas.
- La mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” mostró tener efecto antibacteriano in viro frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*; por lo que, es importante realizar otros estudios que demuestren otras propiedades terapéuticas.
- *Origanum vulgare* “orégano” tiene como principios activos principales al carvacrol y timol; mientras que, flavonoides, taninos y otros, *Rosmarinus officinalis* “romero”, especies de interés farmacéutico, que se recomienda realizar estudios adicionales para formular alguna forma farmacéutica con actividad antibacteriana.

## FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Divo A. Microbiología médica. 4ª ed. México: McGraw Hill Interamericana; 1990. p. 158 - 179.
2. Abarca K, García P, Vial P. Microbiología Clínica. Chile: Universidad Católica de Chile; 2001. p. 79 – 115.
3. Brunton L, Laso J, Parker K. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11ª ed. México: McGraw Hill Interamericana; 2007. p. 1052 – 1165.
4. Acevedo D, Navarro M, Monroy L. Composición química del aceite esencial de hojas de orégano (*Origanum vulgare*). Rev Información tecnológica. [Revista virtual]. 2013; 24 (4): 43 - 48 [Fecha de acceso 22 de mayo del 2020]. Disponible en:  
[https://www.cielo.conicyt.cl/cielo.php?scrit=sci\\_arttext&pid=so18-07642013](https://www.cielo.conicyt.cl/cielo.php?scrit=sci_arttext&pid=so18-07642013)
5. Rocha R. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. [Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Estomatología; 2016. Disponible en:  
<https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7525/PROTEJIDO%20%20TESIS%20RAQUEL%20ROCHA%20MORALES.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
6. Carhuallanqui A, Salazar M, Ramos D. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. Revista de Investigaciones Altoandinas. [Revista virtual]. 2020; 22 (1): 25 – 33. [Fecha de acceso 20 de mayo del 2020]. Disponible en:

<http://www.scielo.org.pe/pdf/ria/v22n1/2313-2957-ria-22-01-25.pdf>

7. Choque M. efecto antibacteriano del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano) comparado con oxacilina, sobre *Staphylococcus aureus* ATCC29213. [Tesis para optar el Título Profesional de Médico Cirujano]. Perú: Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas; 2018. Disponible en:  
[https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25871/choque\\_ym.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25871/choque_ym.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
8. Sandoval A, Contreras R. Efecto de las concentraciones del aceite esencial y del extracto hidroalcohólico de *Oreganum vulgare* “orégano” en el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Rev UCV – Scientia. [Revista virtual]. 2018; 10 (2): 160 – 165. [Fecha de acceso 18 de mayo del 2020]. Disponible en:  
<http://revistas.ucv.edu.pe/index.php/UCV-SCIENTIA/article/view/1780>
9. Alegre L. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial del *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* sobre *Escherichia coli* ATCC 11229 comparado con gentamicina. [Tesis para optar el Título Profesional de Médico Cirujano]. Perú: Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas; 2018. Disponible en:  
[https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25357/allegre\\_pl.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25357/allegre_pl.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
10. Carrillo J. Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de las hojas de *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Rosmarinus officinalis* (romero) frente a cepas de *Escherichia coli*. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico]. Perú: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de la Salud; 2018. Disponible en:

[http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5259/A  
CEITES ESENCIALES CARRILLO %20SANTISTEBAN JAVIER.pdf  
?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/5259/A_CEITES_ESENCIALES_CARRILLO_%20SANTISTEBAN_JAVIER.pdf?sequence=3&isAllowed=y)

11. Figueroa B. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Staphylococcus aureus* comparado con oxacilina. [Tesis para optar el Título Profesional de Médico Cirujano]. Perú: Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas; 2018. Disponible en:  
[https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25402/figueroa\\_db.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25402/figueroa_db.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
12. Rodenas D, Rodríguez A. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de tallos de *Rosmarinus officinalis* L. (romero) en cultivos de *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro. [Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y bioquímica; 2018. Disponible en:  
[http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2632/TE  
SIS DIANA%20CAROLINA %26 AIDELY%20RODRIGUEZ.pdf?seq  
uence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2632/TE_SIS_DIANA%20CAROLINA_%26_AIDELY%20RODRIGUEZ.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
13. Garay H. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. "orégano" sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, in vitro. Cajamarca – 2015. [Tesis de Maestría]. Perú: Universidad Nacional de Cajamarca, Escuela de Posgrado; 2015. Disponible en:  
[http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1643/Efecto%20an  
tibacteriano%20del%20aceite%20esencial%20de%20Origanum%20v  
ulgare%20L..pdf?sequen](http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1643/Efecto%20antibacteriano%20del%20aceite%20esencial%20de%20Origanum%20vulgare%20L..pdf?sequen)
14. Ortega A. Determinación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano (*Origanum vulgare*)

frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600. [Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales]. Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana, Facultad de Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales; 2018. Disponible en:

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16043/1/UPS-CT007779.pdf>

15. López E. Efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre cepas certificadas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnista]. Ecuador: Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias; 2018. Disponible en:

<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27546/1/Tesis%20130%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20568.pdf>

16. Montero M, Martínez J, Avilés F, Valle Edgar, Pazmiño N. Efecto antimicrobiano del extracto crudo oleoso de *Rosmarinus officinalis* sobre cepa de *Escherichia coli*. Ecuador: Universidad Técnica De Ambato, Facultad De Ciencias Agropecuarias. En: Journal of the Selva Andina Biosph. 2017; 5 (2):168 - 175. Disponible en:

[http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v5n2/v5n2\\_a12.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/jsab/v5n2/v5n2_a12.pdf)

17. Estrada S. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de romero (*Rosmarinus officinalis*) y tomillo (*Thymus vulgaris*). [Tesis para optar el Título Profesional de Bioquímico Farmacéutico]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Bioquímica y Farmacia; 2010. Disponible en:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/699/1/56T00229.pdf>

18. Moromi H, Ramos D, Villavicencio J, Martínez E, Mendoza A, Chávez E, et al. Estudio in vitro del efecto antibacteriano de la oleorresina de *Copaifera reticulata* y el aceite esencial de *Origanum majoricum* frente a *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis* bacterias de importancia en Patología Clínica. Rev Int. J. Odontostomat. [Revista virtual]. 2018; 12 (4): 355 – 361. [Fecha de acceso 20 de mayo del 2020]. Disponible en:  
<https://www.scielo.conicyt.cl/pdf/ijodontos/v12n4/0718-381X-ijodontos-12-04-00355.pdf>
19. Arcila C, Loarca G, Lecona S, González E. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. Rev ALAN. [Revista virtual]. 2004; 44 (1): 3 – 6. [Fecha de acceso 20 de mayo del 2020]. Disponible en:  
[http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-0622200400](http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-0622200400)
20. García M, Palou E. Mecanismos de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos. Rev sobre temas selectos de Ingeniería y Alimentos. [Revista virtual]. 2008; 2 (2): 41 -51. [Fecha de acceso 26 de mayo del 2020]. Disponible en:  
[http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No5-Vol-1/TSIA-5\(1\)-Rosas-Gallo-et-al](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No5-Vol-1/TSIA-5(1)-Rosas-Gallo-et-al)
21. Albado E, Sáez G, Grabiél S. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). Rev Med Hered. [Revista virtual]. 2001; 12 (1): 16 – 19. [Fecha de acceso 23 de mayo del 2020]. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X200](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X200)

22. Solís P. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L. “orégano” y *Thymus vulgaris* L. “tomillo” como potenciales bioconservadores en carne de pollo. [Tesis para obtener el Título Profesional de Bioquímico Farmacéutico]. Ecuador: Escuela superior politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias; 2011. Disponible en:  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1992/1/56T00300.pdf>
23. Salirrosas W. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. [Tesis para optar el Título profesional de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad nacional de Trujillo, Facultad de Estomatología; 2016. Disponible en:  
<https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7520/PROTEJIDO%20%20TESIS%20-%20WILLIAM%20EDUARDO%20SALIRROSAS%20TELLO.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
24. San Román I. Actividad antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre cultivos de bacterias anaerobias frecuentes en pacientes con bolsa periodontal. [Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología; 2013. Disponible en:  
<https://core.ac.uk/download/pdf/323347029.pdf>
25. Purca T. Efectividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* (romero) sobre flora salival. [Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Nacional mayor de San Marcos, Facultad de Odontología; 2013. Disponible en:

[https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880127/efectividad-antibacteriana-in-vitro-del-extracto-etanolico-de-r\\_mnp4pV.pdf](https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880127/efectividad-antibacteriana-in-vitro-del-extracto-etanolico-de-r_mnp4pV.pdf)

26. Sosa J. Efecto antibacteriano in vitro del extracto alcohólico de *Rosmarinus Officinalis* (romero) y del agua ozonizada sobre *Streptococcus mutans* y *Enterococcus faecalis*. [Tesis para optar el Título Profesional de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Señor de Sipán, Facultad de Ciencias de la Salud; 2015. Disponible en: <http://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/129/tesis%20final%20josue%2025-11-2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  
27. Ávila R, Navarro A, Vera O, Dávila R, Melgoza N, Meza R. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): una revisión de sus usos no culinarios. Rev Ciencia y Mar. [Revista virtual]. 2011; 15 (43): 23 – 36. [Fecha de acceso 27 de mayo del 2020]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Addi\\_Navarro/publication/273319161\\_Romero\\_una\\_revision\\_de\\_sus\\_usos\\_no\\_culinarios/links/54fe05b80cf2672e223e9db4/Romero-una-revision-de-sus-usos-no-culinarios.p](https://www.researchgate.net/profile/Addi_Navarro/publication/273319161_Romero_una_revision_de_sus_usos_no_culinarios/links/54fe05b80cf2672e223e9db4/Romero-una-revision-de-sus-usos-no-culinarios.p)
  
28. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. [Revista virtual]. 2014; 61 (1): 28 – 40. [Fecha de acceso 27 de mayo del 2020]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
  
29. Zendejas G, Avalos H, Soto M. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Rev Biomed. [Revista virtual]. 2014; 25 (3):129 – 143. [Fecha de acceso 28 de mayo del 2020]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>

30. Gil M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infect. [Revista virtual]. 2000; 17 (2): 145 – 152. [Fecha de acceso 26 de mayo del 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v17n2/art10.pdf>
31. Mensa J, Soriano A, Llinares P, Barberán J, Montejo M, Salavert M, et al. Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. Rev Esp Quimioter. [Revista virtual]. 2013; 26 (1): 1 – 84. [Fecha de acceso 27 de mayo del 2020]. Disponible en: <https://seq.es/seq/0214-3429/26/sup/guia.pdf>
32. Lorenzo P, Moreno A. Farmacología Básica y Clínica. 18ª ed. Argentina: Médica Panamericana; 2009. Vol 10. p. 513 - 537.
33. Farfán A, Ariza S, Vargas F, Vargas L. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Rev chilena Infectol. [Revista virtual]. 2016; 33 (4): 438 – 450. [Fecha de acceso 27 de mayo del 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v33n4/art09.pdf>
34. Rodríguez G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Rev salud pública de México. [Revista virtual]. 2002; 44 (5): 464 – 475. [Fecha de acceso 25 de mayo del 2020]. Disponible en: <https://scielosp.org/pdf/spm/2002.v44n5/464-475>
35. Rodríguez G, Rincón M, Cortés L, Moreno A. *Escherichia coli* causante de diarrea en México, identificada por hibridación en fase sólida colony blot. Rev Enfermedades Infecciosas y Microbiología. [Revista virtual]. 2001; 2 (1): 116 - 131. [Fecha de acceso 28 de mayo del 2020]. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036...](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036...)

36. Giono S, Rodríguez G, Rodríguez M, Valdespino J. Identificación de enterotoxinas y citotoxinas de *E. coli* por cultivo de células epiteliales e hibridación en fase sólida (Colony blot). Rev Latinoam Microbiol: [Revista virtual].1994; 3 (6): 231 - 241. [Fecha de acceso 26 de mayo del 2020]. Disponible en:  
[http://www.adiveter.com/ftp\\_public/E.coli.pdf](http://www.adiveter.com/ftp_public/E.coli.pdf)
37. Katzung B. Farmacología Básica y clínica. México: El manual Moderno; 2007. p. 55 – 85.
38. Picazo J. Procedimientos en Microbiología Clínica, Métodos Básicos para el Estudio de la Sensibilidad a los Antimicrobianos. 11° Ed. España: Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica; 2000. p. 4 - 26. Disponible en:  
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
39. Clavell L, Pedrique M. Microbiología. Manual de Métodos Generales. 2ª ed. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Farmacia; 1992.
40. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. 5ª ed. México: McGraw Hill Interamericana; 2010. p. 1 - 23.
41. Luna P, García P, López M. Aceites esenciales: Métodos de extracción. México: Universidad de las Américas Puebla, Facultad de Ingeniería Química y Alimentos; 2009.
42. Ministerio del Ambiente. Ley General del Ambiente N° 28611. [En línea]. Perú: Ministerio del Ambiente; 2015. [Fecha de acceso 20 de mayo del 2020]. Disponible en:

<http://www.cdam.minam.gob.pe/novedades/leygeneralambiente2.pdf>

43. Ley General de Salud N° 26842. [En línea]. Perú: Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas; 1997. [Fecha de acceso 20 de mayo del 2020]. Disponible en:

<http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/LEYN26842.pdf>

44. García R, Palou E, Mecanismo de acción antimicrobiana del timol y carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos. Rev de Ingeniería de Alimentos. [Revista virtual]. 2008; 2 (2): 41 – 51. [Fecha de acceso 05 de octubre del 2021]. Disponible en:

[https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2\(2\)-Garc%C3%ADa-Garcia-et-al-2008a.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2(2)-Garc%C3%ADa-Garcia-et-al-2008a.pdf)

# **ANEXOS**

ANEXO N° 01

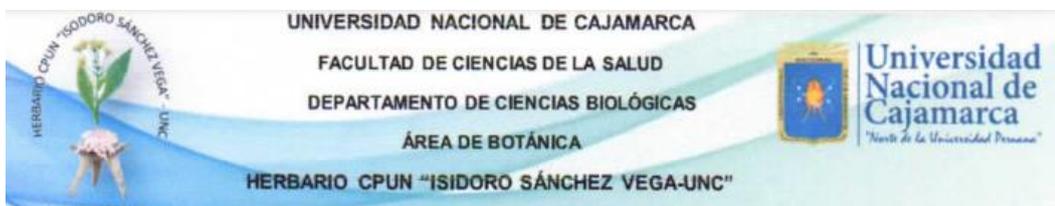
MATRIZ DE CONSISTENCIA

**Título:** Efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de *Origanum vulgare* “orégano” y *Rosmarinus officinalis* “romero” frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	OBJETIVOS DE INVESTIGACIÓN	HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	MÉTODO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	VARIABLES	POBLACIÓN Y MUESTRA
<p><b>Problema general:</b> ¿Tendrá efecto antibacteriano in vitro la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>?</p> <p><b>Problemas específicos:</b> -¿Tendrá efecto antibacteriano in vitro la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i>? -¿Tendrá efecto antibacteriano in vitro la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% frente a <i>Escherichia coli</i>?</p>	<p>Objetivo general: Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>.</p> <p><b>Objetivos específicos:</b> - Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% frente a <i>Staphylococcus aureus</i>. -Determinar el efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% frente a <i>Escherichia coli</i>.</p>	<p><b>Hipótesis general:</b> La mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” tiene efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>.</p> <p><b>Hipótesis específicas:</b> -La mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% tiene efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Staphylococcus aureus</i>. -La mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero” al 50%, 75% y 100% tiene efecto antibacteriano in vitro frente a <i>Escherichia coli</i>.</p>	<p><b>Tipo de investigación:</b> Propeetivo, longitudinal</p> <p><b>Nivel de investigación:</b> Explicativa</p>	<p><b>Método de investigación:</b> cuantitativo</p> <p><b>Diseño de investigación</b> Experimental</p>	<p><b>Variable independiente (x)</b> X: Mezcla de aceite esencial de orégano y romero</p> <p><b>Indicadores:</b> <b>X1:</b> Concentracion al 50% <b>X2:</b> Concentracion al 75% <b>X3:</b> Concentracion al 100%</p> <p><b>Variables dependientes (y)</b> Y: Efecto antibacteriano</p> <p><b>Indicadores:</b> <b>Y1:</b> Halo de inhiación</p>	<p><b>Población:</b> <i>Origanum vulgare</i> “orégano” y <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero”.</p> <p><b>Muestra:</b> -Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> “orégano”. -Aceite esencial de <i>Rosmarinus officinalis</i> “romero”.</p>

## ANEXO N° 02

### CERTIFICACIÓN TAXONÓMICA



### CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El que suscribe:

Director del Herbario CPUN "Isidoro Sánchez Vega-UNC", de la Universidad Nacional de Cajamarca, CERTIFICA, haber identificado dos plantas colectadas en el distrito de Cutervo, provincia Cutervo y departamento de Cajamarca, a una altitud de 2809msnm, en las coordenadas UTM: E:741658.00m y N:9294918.00m, a una altitud de 2664 msnm, la especie "A" y E:741222.00 y N:92944672, a una altitud de 2686 msnm, la especie "B" por **Raquel Vela Llanos**, bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, de la Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud de la Universidad Privada Alas Peruanas, Filial Cajamarca; las mismas que presentan la siguiente ubicación taxonómica:

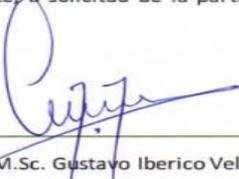
Categoría Taxonómica	Especie "A"	Especie "B"
Reino:	Plantae	Plantae
División:	Magnoliophyta	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida	Magnoliopsida
Orden:	Lamiales	Lamiales
Familia:	Lamiaceae	Lamiaceae
Sub Familia:	Nepetoideae	Nepetoideae
Tribu:	Mentheae	Mentheae
Género:	Rosmarinus	Origanum
Especie:	<b><i>Rosmarinus officinalis</i> L.</b>	<b><i>Origanum vulgare</i> L.</b>
Sinonimia:	<i>Salvia rosmarinus</i> (L.) Schleid	

Las plantas son conocidas tradicionalmente, la especie "A" como: "romero", y la segunda "B", como "orégano".

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

Cajamarca, 25 de junio de 2021



  
M.Sc. Gustavo Iberico Vela  
DIRECTOR

**ANEXO N° 03**

**FICHA DE REGISTRO DE DATOS**

**UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS  
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DE LA MEZCLA DEL ACEITE  
ESENCIAL DE *Origanum vulgare* “ORÉGANO” Y *Rosmarinus  
officinalis* “ROMERO” FRENTE A *Staphylococcus aureus* Y  
*Escherichia coli***

**Tesista: Bach. Raquel Vela Llanos**

**Tabla Nº 01: Recolección de datos de los halos de inhibición de las diferentes sustancias ensayadas frente a las cepas de *Staphylococcus aureus***

Nº placa	Halos de inhibición (mm) frente a <i>Staphylococcus aureus</i>				
	Grupo blanco	Grupo control positivo	Grupo problema I	Grupo problema II	Grupo problema III
	Alcohol etílico de 70°	Ciprofloxacino de 5 µg	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" y <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero" al 50%.	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" y <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero" al 75%.	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" y <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero" al 100%.
<b>1</b>	6	30	16	20	26
<b>2</b>	6	27	16	21	26
<b>3</b>	6	28	17	21	26
<b>4</b>	6	27	16	20	23
<b>5</b>	6	29	17	20	24
<b>6</b>	6	28	15	19	25
<b>7</b>	6	30	16	20	25
<b>8</b>	6	29	16	20	25
<b>9</b>	6	28	15	19	25
<b>10</b>	6	30	16	21	25
<b>Promedio</b>	<b>6</b>	<b>28,6</b>	<b>16</b>	<b>20,1</b>	<b>25</b>

**Fuente:** Elaboración propia de la tesista.

**Tabla Nº 02: Recolección de datos de los halos de inhibición de las diferentes sustancias ensayadas frente a las cepas de *Escherichia coli***

Nº placa	Halos de inhibición (mm) frente a <i>Escherichia coli</i>				
	Grupo blanco	Grupo control positivo	Grupo problema I	Grupo problema II	Grupo problema III
	Alcohol etílico de 70°	Ciprofloxacino de 5 µg	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" y <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero" al 50%	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" y <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero" al 75%.	Mezcla del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> "orégano" y <i>Rosmarinus officinalis</i> "romero" al 100%.
<b>1</b>	6	38	12	17	22
<b>2</b>	6	36	12	16	22
<b>3</b>	6	36	10	15	23
<b>4</b>	6	36	11	16	22
<b>5</b>	6	38	12	17	22
<b>6</b>	6	38	11	15	22
<b>7</b>	6	36	10	16	22
<b>8</b>	6	39	12	16	21
<b>9</b>	6	37	10	17	21
<b>10</b>	6	36	11	17	22
<b>promedio</b>	<b>6</b>	<b>37</b>	<b>11,1</b>	<b>16,2</b>	<b>21,9</b>

Fuente: Elaboración propia de la tesista.

## ANEXO Nº 04

### GALERÍA FOTOGRÁFICA



Fotografía Nº 01: Placas para el antibiograma.



Fotografía Nº 02: Placas listas para ser incubadas.



**Fotografía N° 03:** Incubación de las placas.



