



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana del
aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a
Staphylococcus aureus ATCC 25923 en carne de pollo**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

AUTOR

Lesly Melisa GRANDE VIDAL

ASESOR

Mg. Rosa Isabel GONZÁLEZ VÉLIZ

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Grande L. Evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en carne de pollo [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2021.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Lesly Melisa Grande Vidal
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	77024402
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Rosa Isabel González Véliz
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10300467
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-3091-0980
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Daphne Doris Ramos Delgado
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07607293
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Sofía López Guerra
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	40060409
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Siever Miguel Morales Cauti
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10685645
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.4.4. Calidad e inocuidad de alimentos
Grupo de investigación	SALUD PÚBLICA Y SALUD AMBIENTAL (INOCUVET)

<p>Agencia de financiamiento</p>	<p>Perú. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado – VRIP. Financiamiento para grupos de investigación (PCONFIGI). Código A18080561</p>
<p>Ubicación geográfica de la investigación</p>	<p>Edificio: Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental FMV-UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Avenida: Circunvalación 2800 Latitud: -12.081581299521972 Longitud: -76.98747252510863</p>
<p>Año o rango de años en que se realizó la investigación</p>	<p>2018-2019</p>
<p>URL de disciplinas OCDE</p>	<p>Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01 Bioteología agrícola, Bioteología alimentaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.04.01 Salud pública, Salud ambiental https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.03.05</p>



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS EN MODALIDAD VIRTUAL
PARA OPTAR EL TÍTULO DE MEDICO VETERINARIA
Autorizado por R.D N° 304-D-FMV-2020**

1. FECHA DE LA SUSTENTACIÓN 26/02/2021

HORA INICIO: 12:00 horas

HORA TÉRMINO: 13:05 horas

2. MIEMBROS DEL JURADO

PRESIDENTE: **MV. Dra. Daphne Doris Ramos Delgado**

MIEMBRO: **Blgo. Mg. López Guerra Sofía**

MIEMBRO: **MV. Mg. Siever Miguel Morales Cauti**

ASESORA: **Blgo. Mg. Rosa Isabel González Véliz**

3. DATOS DEL TESISTA

APELLIDOS Y NOMBRES: **GRANDE VIDAL, LESLY MELISA**

CÓDIGO: **12080028**

R.R. DE GRADO DE TESISTA NÚMERO: **N° 03089-R-18**

TÍTULO DE LA TESIS: **“EVALUACIÓN *in vitro* DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 EN CARNE DE POLLO”**

4. RECOMENDACIONES

Datos de la plataforma virtual institucional del acto de sustentación:

<https://meet.google.com/mco-xhgd-peh>

ID: mco-xhgd-peh

Grabación archivada en:


<https://drive.google.com/file/d/1Himx8GBP-859VBy7ASbTnpamHkLtvvUT/view?usp=sharing>




5. NOTA OBTENIDA: 18, Dieciocho

6. PÚBLICO ASISTENTE: (Nombre, apellido y DNI)

Apellidos y Nombres	DNI	Correo electrónico
Lesly Melisa Grande Vidal	77024402	leslygv.9@gmail.com
Daphne Ramos Delgado	07607293	dramosd@unmsm.edu.pe
Rosa Isabel González Véliz	10300467	rgonzalezv@unmsm.edu.pe
Sofía López Guerra	40060409	slopezg@unmsm.edu.pe
Siever Miguel Morales Cauti	10685645	smoralesc@unmsm.edu.pe
Faride Altamirano Zevallos	43695598	faltamiranoz@unmsm.edu.pe
Luis Hoyos Sifuentes	41175479	luis.hoyos@unmsm.edu.pe
Miryam Quevedo Urday	40064320	mquevedou@unmsm.edu.pe
Virginia Rivadeneira	48367422	vrivadeneira@unmsm.edu.pe
Juan Olazabal Loaiza	20050845	jolazaball@unmsm.edu.pe
Antonio Ampuero Bustillo	06645903	aampuerob@unmsm.edu.pe
Juan Siuce Moreno	10685645	jsiucem@unmsm.edu.pe
Andrea Carhuallanqui	47231862	andrea.carhuallanqui@unmsm.edu.pe
Miguel Espinoza	70437268	miguel.espinoza1@unmsm.edu.pe
Guadalupe Cristina Chuchon	74833781	guadalupe.chuchon@unmsm.edu.pe
Roger Layme	72706514	12080009@unmsm.edu.pe
Jhonathan Bazalar Gonzales	45165351	05080060@unmsm.edu.pe
Andrés Trujillo Peña		informatica.fmv@unmsm.edu.pe

7. FIRMAS DE LOS MIEMBROS DEL JURADO

Firma 
MV. Dra. Ramos Delgado Daphne Doris
Apellidos y Nombres
PRESIDENTE

Firma 	Firma 	Firma 
Blgo. Mg. González Véliz Rosa Isabel	Blgo. Mg. López Guerra Sofía	MV. Mg. Morales Cauti Siever Miguel
Apellidos y Nombres	Apellidos y Nombres	Apellidos y Nombres
ASESORA DE LA TESIS	MIEMBRO JURADO	MIEMBRO JURADO



INFORME DE EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD

Tesis para optar el título profesional de Médico Veterinario

1. Facultad: Medicina Veterinaria
2. Escuela: Medicina Veterinaria
3. Autoridad académica que emite el informe de originalidad: Escuela Profesional de Medicina Veterinaria.
4. Apellidos y Nombres de la Autoridad Académica: Santiani Acosta, Alexei
5. Operador del Programa Informático de similitudes: Hoyos Sifuentes, Luis.
6. Documento evaluado: "EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE ACEITE ESENCIAL DEL ORÉGANO (*Origanum vulgare*) FRENTE A *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 EN CARNE DE POLLO".
7. Autor del documento: Lesly Melisa Grande Vidal
8. Fecha de recepción del documento: 12 de Enero del 2021
9. Fecha de aplicación del programa informático: 13 de Enero del 2021
10. Software utilizado
 - Turnitin
11. Configuración del programa detector de similitudes:
 - Excluye textos entrecomillados
 - Excluye bibliografía
 - Excluye cadenas menores de 40 palabras
 - Exclusión de fuentes para buscar similitud
12. Porcentaje de similitudes según programa detector de similitudes: 9%
13. Fuentes originales de similitudes encontradas:
 - cybertesis.unmsm.edu.pe: 4%
 - sedici.unlp.edu.ar: 1%
 - www.scielo.org.pe: 1%
 - Submitted to Universidad Politecnica Salesiana del Ecuador: 1%
 - Submitted to Universidad Inca Garcilaso de la Vega: 1%
 - repositorio.ucv.edu.pe: <1%
 - repositorio.lamolina.edu.pe: <1%
 - Submitted to Universidad Autónoma de Nuevo León: <1%
 - repositorio.utp.edu.co: <1%
14. Observaciones: el mayor porcentaje de las similitudes halladas en la tesis evaluada se encuentran en las secciones de índice de contenido.
15. Calificación de originalidad:
DOCUMENTO CUMPLE CRITERIOS DE ORIGINALIDAD, SIN OBSERVACIONES
16. Fecha del informe: 14 De Enero del 2021



Firmado digitalmente por SANTIANI
ACOSTA Alexei Vicent FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 16.09.2022 11:25:56 -05:00

Dr. Alexei Vicent Santiani Acosta
Director EPMV

DEDICATORIA

A mis padres, por su amor, sus consejos y el constante apoyo para cumplir mis metas.

A Gonzalito, siempre te voy a llevar conmigo.

Para Pamela y Joaquín, quienes siempre llenan de una inmensa alegría mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Rosa González por darme la oportunidad de desarrollar este trabajo de investigación.

A la Dra. Daphne Ramos por el apoyo constante en el desarrollo de este trabajo.

Al Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la Facultad, gracias por las facilidades brindadas.

ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iii
LISTA DE CUADROS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE ANEXOS.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 El orégano.....	3
2.1.1 Generalidades.....	3
2.1.2 Taxonomía.....	5
2.1.3 Situación comercial Perú.....	5
2.2 Aceites esenciales.....	6
2.2.1 Métodos de extracción.....	6
2.2.1.1 Métodos clásicos convencionales.....	7
2.2.1.1.1 Destilación al vapor.....	7
2.2.1.1.2 Hidrodestilación.....	8
2.2.1.1.3 Extracción con solventes orgánicos.....	8
2.2.1.1.4 Prensado a frío.....	9

2.2.1.2 Técnicas innovadoras.....	9
2.2.1.2.1 Extracción por fluidos supercríticos.....	9
2.2.1.2.2 Extracción asistida por microondas	10
2.2.2 Composición química de los aceites esenciales.....	10
2.2.2.1 Terpenos.....	10
2.2.2.2 Compuestos aromáticos.....	11
2.2.3 Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales.....	13
2.3 Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i>	16
2.3.1 Composición del AE de orégano.....	16
2.3.2 Actividad antimicrobiana del AE de orégano.....	18
2.4 La carne de pollo.....	20
2.4.1 Aporte nutricional.....	20
2.4.2 Situación comercial.....	23
2.4.3 Enfermedades transmitidas por el consumo de carne de pollo.....	24
2.5 <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S. aureus</i>).....	25
2.5.1 Generalidades.....	25
2.5.2 Enfermedades de transmisión alimentaria asociada a <i>S.aureus</i>	25
2.6 Métodos para la evaluación antimicrobiana.....	26
2.6.1. Método de Difusión en disco.....	26
2.6.2. Método de difusión en gradiente.....	27

2.6.3. Método de Dilución.....	27
2.6.3.1. Método de dilución en agar.....	28
2.6.3.2. Método de Macrodilución en caldo.....	28
2.6.3.3 Método de Microdilución en caldo.....	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
3.1. Lugar y tiempo.....	30
3.2. Materiales y equipos.....	30
3.3. Metodología experimental.....	31
3.3.1. Obtención del aceite esencial de orégano.....	31
3.3.2. Composición del aceite esencial de orégano.....	31
3.3.3 Ensayo de Difusión en Disco.....	31
3.3.4 Determinación de la Concentración mínima inhibitoria.....	32
3.3.5 Determinación de la Concentración mínima bactericida.....	34
3.3.6. Estudio de la actividad antimicrobiana en la carne de pollo.....	34
3.3.6.1. Método de conteo en placa.....	35
IV. RESULTADOS	36
4.1 Ensayo de difusión en disco.....	36
4.2 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).....	36
4.3 Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB).....	37
4.4 Actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano en carne de pollo.....	38
V. DISCUSIÓN.....	40

VI. CONCLUSIONES.....	45
VII. RECOMENDACIONES.....	46
VIII.BIBLIOGRAFÍA.....	47
IX. ANEXOS.....	61

RESUMEN

El aumento de patógenos bacterianos resistentes a antibióticos es un problema grave para la salud pública, que a conllevando a la búsqueda de posibles compuestos naturales con propiedades antimicrobianas como son los aceites esenciales. Los cuales son una importante alternativa para el control del crecimiento bacteriano en los productos alimenticios. Por ello, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en carne de pollo. Para ello, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI), y la concentración mínima bactericida (CMB) del aceite esencial, mediante la evaluación de microdilución en pocillos. Posterior a ello, se evaluó la capacidad del aceite esencial de orégano de inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en carne de pollo empacados al vacío, mediante el recuento de UFC/g durante los días 01, 03, 06, 09 y 12 de almacenamiento. Los resultados obtenidos muestran una CMI de 0.5% y una CMB obtenida de 4 % mientras que en la carne refrigerada tiene un efecto antimicrobiano en la concentración de 32% el día 01 y 03 de almacenamiento y en la concentración de 16% el día 01. Los resultados demuestran que el aceite de orégano posee un efecto antibacteriano *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, y la concentración mayor empleada en la carne de pollo empacada al vacío reduce la carga bacteriana los primeros 3 días.

Palabras clave: aceite esencial, orégano, *Staphylococcus aureus*, carne de pollo

ABSTRACT

The increase of the antimicrobial resistance of bacterial pathogens has become a serious problem for public health leading to the searching for possible natural compounds with antimicrobial properties, such as essential oils. Which are an important alternative for the control of bacterial growth in food products. Therefore, the aim of this study was evaluate the effect of the antimicrobial activity from oregano essential oil (*Origanum vulgare*) against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in chicken meat. For this, the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of the essential oil were determined by microdilution in wells. Subsequently, the effect of oregano essential oil to inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vacuum packed chicken meat was evaluated by measuring CFU / g during days 01, 03, 06, 09 and 12 of storage. The results show a MIC of 0.5% and the MBC obtained was 4%, while in the refrigerated meat the antimicrobial effect at high concentrations of 32 and 16% of oregano essential oil, on days 1 and 3 days, and 1, respectively. The results show that oregano oil has an in vitro antibacterial effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and the higher concentration used in vacuum-packed chicken meat reduces the bacterial load in the first 3 days.

Key Words: oregano, essential oil, *Staphylococcus aureus*, chicken meat

LISTA DE ABREVIATURAS

° C	Grados centígrados
ATCC	American Type Culture Collection
BP	Agar Baird Parker
<i>et al.</i>	y colaboradores
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
g	Gramo
FDA	Administración de alimentos y medicamentos
TM	Tonelada
Has	Hectárea
AE	Aceite esencial
LPS	lipopolisacárido
ETA	Enfermedad de transmisión alimentaria
Kcal	kilocalorías
kg	Kilogramo
mm	Milímetro
TSB	Caldo Tripticasa de Soya
UFC	Unidades Formadoras de Colonias

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1 : Producción de orégano en el Perú	6
Cuadro 2 : Principales componentes de aceites esenciales de acuerdo a su grupo funcional	12
Cuadro 3 : Mecanismo de acción de aceites esenciales contra patógenos bacterianos	15
Cuadro 4 : Compuestos principales de aceites esenciales de diferentes especies de orégano	17
Cuadro 5 : Patógenos bacterianos susceptibles a la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano	19
Cuadro 6 : Valor nutritivo de la carne de pollo por 100 g de porción	22
Cuadro 7 : Comparación del valor nutritivo de la carne de ganado, porcino y pollo en 100 g de porción	23
Cuadro 8 : Halo de inhibición del crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en el ensayo de difusión en disco	37
Cuadro 9 : Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de orégano sobre el crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	38
Cuadro 10 : Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> (UFC/g) frente a las concentraciones de AE de orégano en carne de pollo empacadas al vacío y almacenadas en refrigeración	38

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 : Orégano (<i>Origanum vulgare</i>)	4
Figura 2 : Destilación al vapor	7
Figura 3 : Sistema de hidrodestilación	8
Figura 4 : Fórmula estructural de principales componentes de los aceites esenciales	13
Figura 5 : Colonias típicas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 en Agar BP	39

LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1:** Constancia
- Anexo 2:** Composición del aceite de orégano

I. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas el aumento de patógenos bacterianos resistentes a antibióticos se ha convertido en un problema grave para la salud pública en todo el mundo (Munita y Arias, 2017). Los patógenos transmitidos por alimentos también han desarrollado resistencia antimicrobiana y a través de la cadena alimentaria pueden transmitirse a los humanos (Walsh y Fanning, 2008; O'Bryan *et al.*, 2018). A lo largo de los años se ha controlado a estos patógenos con el uso de preservantes en los alimentos. Sin embargo, su uso está limitado por las consecuencias indeseables que puede generar en el consumidor (Faleiro, 2011). Llevando a la búsqueda de posibles compuestos naturales con propiedades antimicrobianas, antioxidantes y que puedan extender la vida útil del alimento (Fратиanni *et al.*, 2010). Siendo una posibilidad el uso de aceites esenciales como aditivos alimentarios (Burt, 2004).

Existe una gran variedad de plantas aromáticas empleadas por su aroma o sabor especial en diversas culturas y que al mismo tiempo poseen propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes (Nazzaro *et al.*, 2013). Los aceites esenciales obtenidos de estas plantas son de gran interés ya que se ha demostrado que poseen un efecto antimicrobiano frente a diversos microorganismos (Reyes-Jurado *et al.*, 2015). Los aceites esenciales son compuestos naturales complejos y volátiles producidos por plantas aromáticas (Bakkali *et al.*, 2008), obtenidos de diversas partes de las plantas: hojas, ramas, frutos, raíz y semillas (Burt, 2004).

Aproximadamente se conocen 3000 aceites esenciales, de los cuales 300 son empleados en la industria farmacológica, alimentaria o cosmética (Bakkali *et al.*, 2008). Se vienen investigando diversos aceites esenciales por sus propiedades antimicrobianas contra diversos microorganismos de interés en salud pública. Un agente causal importante de las enfermedades transmitidas por alimentos es el *Staphylococcus aureus*, se estima que

ocasiona aproximadamente 241,000 casos por año en Estados Unidos (Scallan *et al.*, 2011). Las carnes rojas, carne de aves y sus productos son alimentos relacionados con esta ETA (Kitai *et al.*, 2005).

El aceite esencial de orégano ha demostrado efectos antimicrobianos contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* (Boskovic *et al.*, 2015). Su efecto antibacteriano puede aplicarse contra bacterias de transmisión alimentaria al emplearse como un aditivo natural (Mith *et al.*, 2014).

Es por ello que el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en carne de pollo.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 El orégano (*Origanum vulgare* spp.)

2.1.1. Generalidades

El orégano es una planta procedente del Mediterráneo europeo, su utilización culinaria y medicinal son las primeras referencias encontradas en reseñas helénicas, pero es probable que se haya empleado en la prehistoria. El nombre *Origanum* proviene de dos palabras griegas: oros (montaña) y granos (ornamento), por lo que estos lo definirían como la belleza o el adorno de las montañas (Tellez, 2017).

El orégano es una planta aromática, perenne que presenta muchas formas, debido a la influencia del medio y de la época de desarrollo. Además, es considerado un cultivo marginal ya que posee la capacidad de desarrollarse en suelos pobres, con poca humedad e incluso con suelos de baja fertilidad (Klauer, 2009). La vida útil de la planta varía de 10 a 20 años de acuerdo al tipo de suelo y el manejo de cultivo (Villalobos, 2018).

Es una planta de tallo recto, que alcanza entre 30 y 80 centímetros de altura; posee hojas verdes ovaladas que disminuyen de tamaño según asciende el tallo (Figura 1). Es resistente al frío y puede crecer hasta los 3800 m.s.n.m. Sin embargo, su mejor producción se consigue entre los 2400 y 3000 m.s.n.m. (Klauer, 2009).

A gran altitud las hojas del orégano son más grandes y los tallos más cortos, a menor altitud las hojas son más pequeñas y los tallos más altos. Esto pudo deberse a las condiciones de temperatura y las limitaciones de nutrientes y agua que hay a gran altitud. La estructura morfológica, la fotosíntesis e incluso los componentes bioquímicos de la planta de orégano están influenciados por la altura y por la estación (Kofidis *et al.*, 2003).

Las hojas de orégano presentan pequeñas glándulas las cuales producen la esencia aromática característica de esta planta (Kofidis *et al.*, 2003). Esta esencia o aceite esencial es de color amarillo limón, compuesta principalmente por fenoles (Villalobos, 2018).



Figura 1. Orégano (*Origanum vulgare*)

El orégano pertenece al género *Origanum* y es originario de las regiones templadas de Europa central, meridional y Asia central. Sin embargo, se encuentra distribuido ampliamente en los 5 continentes (Arcila-Lozano *et al.*, 2004).

Una gran variedad de plantas son llamadas orégano por su olor y sabor particular. Estas plantas pertenecen a 6 familias botánicas diferentes, siendo Verbenaceae y Lamiaceae las más importantes, las otras son Rubiaceae, Apiaceae y Asteraceae. La familia Lamiaceae comprende a los géneros *Origanum* y *Hedeoma*, mientras que los géneros *Lippia* y *Lantana* pertenecen a Verbenaceae (Leyva-López *et al.*, 2017).

El género *Origanum* incluye diferentes especies, las más importantes son *O. vulgare* con la subespecie *O. vulgare* subsp. *L. vulgare*, *O. vulgare* subsp. *L. glandulosum*, *O. vulgare* subsp. *L. gracile*. Otras especies incluyen al *O. onites* (orégano turco), *O. bilgeri*, *O. majorana* (llamado mejorana), *O. syriacum* *O. acutidens*, *O. solymicum* (Sakkas y Papadopoulou, 2017).

Diversas especies de orégano son de importante valor económico y son empleados comúnmente con fines culinarios, tales como: el griego (*Origanum vulgare* spp.), el español (*Coridohymus capitatus*), el turco (*Origanum onites* L.) y el mexicano (*Lippia graveolens*, de la familia Verbenaceae) (Arcila-Lozano *et al.*, 2004; García-Pérez *et al.*, 2012).

Esta planta aromática posee un gran valor comercial debido a su uso como condimento y a sus propiedades medicinales. Sin embargo, no solo es usado en la industria culinaria sino también es empleado en la industria farmacéutica a través de aceites esenciales; además, se sabe que posee propiedades antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes

(Arcila-Lozano *et al.*, 2004; García-Pérez *et al.*, 2012). Siendo de particular interés el aceite esencial de orégano ya que diversos estudios han demostrado puede aportar diversos efectos contra patógenos bacterianos (Leyva-López *et al.*, 2017).

2.1.2. Taxonomía

Basándose en los criterios morfológicos, este género se ha clasificado en 3 grupos, 38 especies, 6 subespecies y 17 híbridos (Arcila-Lozano *et al.*, 2004). De acuerdo a Arcila-Lozano (2004) la clasificación taxonómica es:

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género:

Orégano (*Origanum vulgare*)

2.1.3. Situación comercial

En el Perú, la siembra de orégano (*Origanum vulgare*) es durante todo el año, alcanzando un rendimiento de 8 y 45 TM/Has al año (Alpaca *et al.*, 2018) y es cultivada principalmente en la zona sur del país, adaptándose bien a los valles interandinos (Tellez, 2017). Los principales productores en el Perú se encuentran en las regiones de Tacna, Arequipa y Moquegua. La región Tacna destaca por ser el mayor productor a nivel nacional, con más de 70% de la oferta. Otros departamentos con menor producción son Junín, Apurímac, Ayacucho, Puno y Lima (Chirinos *et al.*, 2009).

En Tacna las principales provincias de cultivo de orégano se encuentran en Candarave y Tacna, Jorge Basadre y Tarata. En el cuadro 1 se detalla la producción de orégano en el Perú.

Cuadro 1. Producción de orégano en el Perú

Año	Producción Nacional(T)	Producción de Tacna (T)
2010	11 421	5 534
2011	12 067	5 508
2012	11 552	5 443
2013	14 089	7 731
2014	15 701	10 898
2015	15 276	9 895

Fuente: (Alpaca *et al.*, 2018)

2.2. Aceites esenciales

Los aceites esenciales (AE) son metabolitos secundarios complejos, volátiles, naturales formados por plantas aromáticas. Conocidos desde la antigüedad por sus propiedades bactericidas, fúngicas y virucidas, usándose para la conservación de alimentos como antimicrobianos, analgésicos entre otros (Bakkali *et al.*, 2008).

Las propiedades únicas de fragancia, sabor y su actividad biológica otorgan a los AE un gran potencial comercial. Empleándose para el tratamiento de diversas enfermedades en humanos, tales como: enfermedades cardiovasculares, diabetes y cáncer (Swamy *et al.*, 2016). Además de esto, diversas investigaciones han reconocido el efecto antimicrobiano que poseen los componentes de los AE frente a diversos patógenos bacterianos (Nazzaro *et al.*, 2013).

Los AE son considerados como sustancias seguras para el consumo de acuerdo a la Administración de alimentos y medicamentos (FDA) desde el 2005, lo que permite que sus compuestos pueden emplearse como agentes antimicrobianos para la conservación de alimentos (Stefanakis *et al.*, 2013).

Los AE son obtenidos de más de 17,500 especies de plantas, las cuales en su mayoría pertenecen a la familia *Lamiaceae*, *Rutaceae*, *Myrtaceae* y *Asteraceae* (Wińska *et al.*,

2019). Diversas partes de las plantas (flores, hojas, ramas, semillas y raíces) son empleadas para obtener los AE. Existen múltiples métodos de extracción. Sin embargo, la destilación a vapor es el método más usado (Siddiqui *et al.*, 2016).

2.2.1. Métodos de extracción

Las hojas, flores, tallo, entre otras partes sirven como material vegetal para extraer aceite esencial y existen diversos métodos para obtenerlos y separar los diferentes componentes de la planta. Dichos métodos de extracción de aceite esencial pueden clasificarse en métodos clásicos convencionales y en técnicas innovadoras.

2.2.1.1 Métodos clásicos convencionales:

Estos métodos son los más antiguos, caracterizados por un gran consumo de energía (Stratakos y Koidis, 2015). La hidrodestilación, la destilación al vapor, la extracción con solventes y la expresión a frío son los métodos clásicos usados con más frecuencia.

2.2.1.1.1. Destilación al vapor

Es uno de los métodos más antiguos para obtener aceites esenciales de plantas. El material vegetal se coloca en un alambique y se somete al vapor sin emplear agua, el vapor fluye a través de todo el material vegetal como se muestra en la figura 2. El vapor genera que los poros de las plantas se rompan y liberen el AE, posteriormente el vapor se condensa y se recoge aceite esencial (Rassem *et al.*, 2016). Este método tiene una duración de extracción más corta, que reduce las alteraciones químicas y la pérdida de moléculas polares (Asbahani *et al.*, 2015).

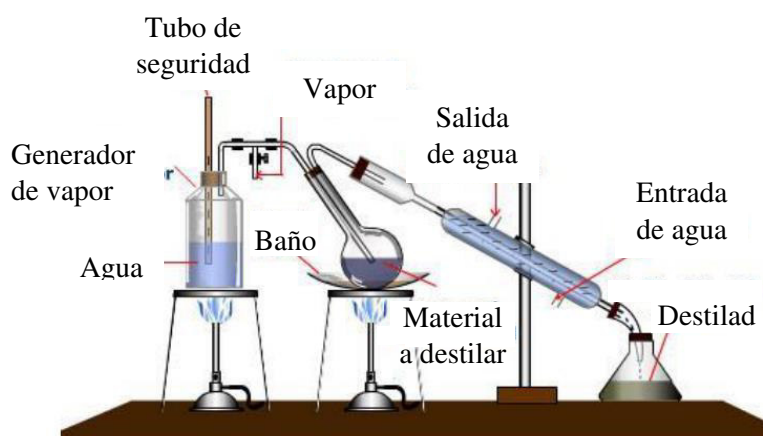


Figura 2. Destilación al vapor
Fuente: Rassem *et al.*, 2016

2.2.1.1.2 Hidrodestilación

La hidrodestilación es un método antiguo y fácil de emplear para la extracción de aceites esenciales (Asbahani *et al.*, 2015; Rassem *et al.*, 2016). El material vegetal se coloca en conjunto con agua dentro de un alambique y se somete a un calentamiento hasta alcanzar su punto de ebullición. El vapor resultante se condensa en aceite esencial y agua. Al ser el agua inmisible con el aceite esencial facilita la separación por decantación (figura 3). La hidrodestilación es una variante de la destilación a vapor, existiendo tres tipos de hidrodestilación: con inmersión en agua, con inyección directa de vapor y con inmersión de agua e inyección de vapor. La ventaja de esta técnica es que se puede trabajar con grandes o pequeñas cantidades de material vegetal (Rassem *et al.*, 2016). Sin embargo, posee diversas desventajas: tiempo de extracción prologando (para ciertos materiales vegetales), alteraciones químicas de moléculas terpénicas provocadas por el tiempo prologando con el agua hirviendo y pérdida de moléculas polares (Asbahani *et al.*, 2015).

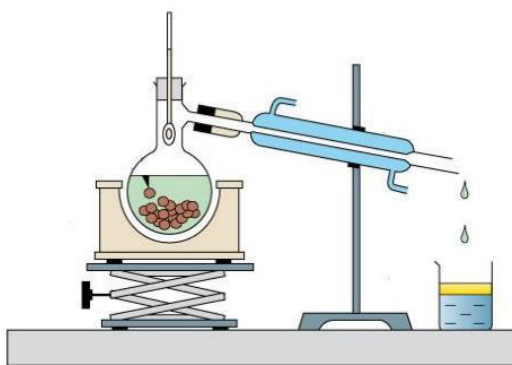


Figura 3. Sistema de hidrodestilación

Fuente: Rassem *et al.*, 2016

2.2.1.1.3 Extracción con solventes orgánicos

El material vegetal se pone en contacto con solventes que solubilizan la esencia y otros componentes. Para ello, se utilizan sustancias orgánicas como el alcohol, metanol, etanol, hexano y éter. Para obtener una muestra más pura, posteriormente se somete a una filtración y destilación (Stratakos y Koidis, 2015).

Es un método simple, económico y relativamente rápido. Sin embargo, el AE contendrá una pequeña parte de disolvente como residuo, por lo cual, no es recomendado para su uso en la industria alimentaria (Asbahani *et al.*, 2015; Stratakos y Koidis, 2015). Pero si se usa el alcohol, se considera seguro. Este método es mayormente utilizado en la industria del perfume a partir de flores (Stratakos y Koidis, 2015).

2.2.1.1.4 Prensado a frío

Es el método más antiguo de extracción, usado comúnmente para la extracción de AE cítricos (Asbahani *et al.*, 2015). Es un método de extracción mecánica donde se emplean temperaturas bajas para la obtención del aceite esencial (Rassem *et al.*, 2016). Las glándulas presentes en la cáscara y la cutícula se rompen y liberan una emulsión acuosa, la cual después se centrifuga para separar el aceite esencial (Bousbia *et al.*, 2009; Asbahani *et al.*, 2015).

2.2.1.2 Técnicas innovadoras

La desventaja de las técnicas convencionales está relacionada con la termolabilidad de los componentes de los aceites esenciales que sufren alteraciones agravándose cuando el tiempo de extracción es demasiado largo. Es por ello que se han buscado nuevas técnicas que puedan conservar la composición natural de los aceites esenciales, reducir el tiempo de extracción, el consumo de energía entre otros (Asbahani *et al.*, 2015; Rassem *et al.*, 2016). Entre estas tenemos a:

2.2.1.2.1 Extracción por fluidos supercríticos

Este procedimiento necesita el uso de fluidos supercríticos, que son solventes sometidos a temperatura y presión superior a su punto crítico, estando en una fase intermedia entre gas y líquido, lo que extrae aceites esenciales de manera más eficiente comparado con métodos convencionales. El dióxido de carbono es el fluido supercrítico más usado debido a su baja presión crítica y temperatura. Además, de ser relativamente no tóxico. Sin embargo, la extracción por fluidos supercríticos es costosa y requieren de equipos especiales (Stratakos y Koidis, 2015; Rassem *et al.*, 2016).

2.2.1.2.2 Extracción asistida por microondas

Las microondas son ondas electromagnéticas que comúnmente se emplean a una frecuencia de 2450Mhz con una longitud de onda de 12,2 cm. Esta técnica ha complementado a diversos métodos convencionales, evolucionando y mejorando la extracción y la reducción del gasto de energía. Teniendo como resultado: destilación por microondas de aire comprimido, hidrodestilación por microondas, destilación de vapor acelerada por microondas, entre otras (Asbahani *et al.*, 2015).

2.2.2 Composición química de los aceites esenciales

Los AE son mezclas naturales muy complejas, contienen aproximadamente 20 a 60 componentes. Sin embargo, se caracterizan por dos o tres compuestos principales, que poseen concentraciones altas de 20 a 70 % comparados con otros compuestos que están presentes en cantidades reducidas (Bakkali *et al.*, 2008). Están compuestos por hidrocarburos, principalmente por terpenos y también por compuestos aromáticos tales como fenoles, alcoholes aldehídos, cetonas etc. (Reyes-Jurado *et al.*, 2019).

2.2.2.1 Terpenos

Los terpenos están formados por diferentes bases de 5 carbonos (C5), llamadas isoprenos (Bakkali *et al.*, 2008; Nazzaro *et al.*, 2013). Son sintetizados dentro del citoplasma de la célula vegetal por medio de la vía del ácido mevalónico a partir del acetil coenzima a (Nazzaro *et al.*, 2013).

Los terpenos más comunes son los monoterpenos (C10) y sesquiterpenos (C15) pero también existen los hemiterpenos (C5) y los de cadenas más largas como los diterpenos (C20), triterpenos (C30) y tetraterpenos (40C). Los terpenos que contienen un oxígeno en su estructura se denominan terpenoides (Bakkali *et al.*, 2008; Nazzaro *et al.*, 2013).

Los monoterpenos se constituyen a partir de dos unidades de isoprenos. Se encuentran en la gran mayoría de AE y conforman aproximadamente el 90% de cada AE en el que están presentes. Los más frecuentes son el limoneno, α -terpineno, β - mirceno y canfeno. Encontrándose en diversas plantas, tales como limones, naranjas, menta, romero, eucalipto, orégano entre otros (Bakkali *et al.*, 2008; Reyes-Jurado *et al.*, 2019).

Una gran parte de los terpenos no poseen una alta actividad antimicrobiana propia, diversos estudios *in vitro* mostraron una nula o poca actividad antimicrobiana

cuando se emplean como compuestos únicos. Sin embargo, la mayoría de terpenoides si han demostrado actividad antimicrobiana y está relacionada con sus grupos funcionales, con el grupo hidroxilo de los terpenoides fenólicos y la presencia de electrones deslocalizados (Nazzaro *et al.*, 2013).

2.2.2.2 Compuestos aromáticos

Los compuestos aromáticos son derivados del fenilpropano. Son menos frecuentes que los terpenos y representan una porción relativamente baja dentro de los AE (Bakkali *et al.*, 2008; Nazzaro *et al.*, 2013)

Los compuestos aromáticos están conformados por aldehídos, alcoholes y fenoles (Bakkali *et al.*, 2008). Los fenoles presentes en los AE reportan una fuerte propiedad antimicrobiana, esta propiedad es conferida por los grupos hidroxilos libres de los fenoles (Nazzaro *et al.*, 2013). Los fenoles más conocidos son el carvacrol, timol y eugenol, presentes en AE de orégano, tomillo y canela (Reyes-Jurado *et al.*, 2019).

Los componentes químicos de los AE varían de acuerdo a la parte de la planta empleada para la extracción y de las condiciones geográficas y climáticas en que fue cultivada. El método de extracción, edad de la planta y tiempo de cosecha son otros factores que pueden influir también (Burt, 2004). En el cuadro 2 se detalla los principales componentes de los aceites esenciales y en la figura 4 la fórmula estructural de componentes con propiedades antibacterianas.

Cuadro 2. Principales componentes de aceites esenciales de acuerdo a su grupo funcional

Grupo químico funcional		Componentes
Monoterpenos	Carburos	mirreno, terpeno, p-cimeno, canfeno, pineno, limoneno
	Alcoholes	geraniol, linalol, mentol, borneol, α -terpineol
	Aldehídos	geranial, citronelal, citral, neral
	Cetonas	carvona, pulgona, canfor
	Esteres	acetato de isobornilo, acetato de linalilo
	Éteres	1,8- cineol, mentofurano
	Peróxidos	ascaridol
	Fenoles	timol, carvacrol
Compuestos aromáticos	Aldehídos	Cinamaldehído
	Alcoholes	alcohol de cinamilo
	Fenoles	chavicol, eugenol

Fuente: Reyes-Jurado *et al.*, 2019

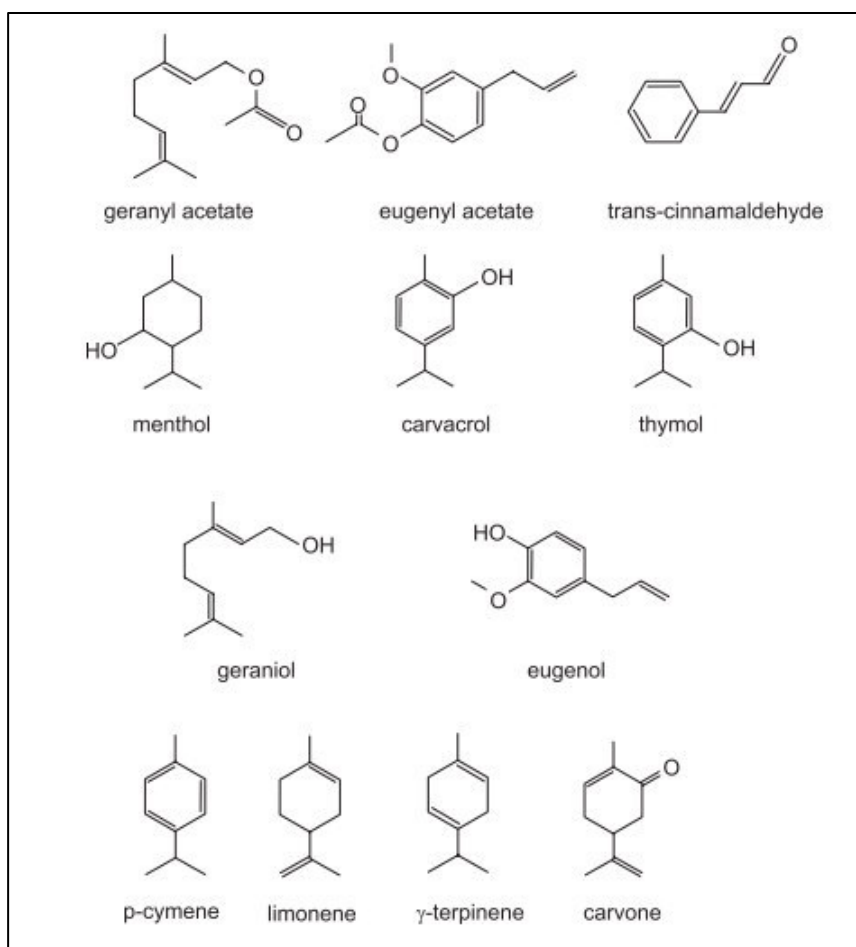


Figura 4. Fórmula estructural de principales componentes de los AE, (Burt, 2004)

2.2.3 Actividad antimicrobiana de los aceites esenciales

Actualmente el aumento de la resistencia a antimicrobianos ha llevado a la búsqueda de nuevas moléculas para tratar a diversos patógenos (Swamy *et al.*, 2016). Es por ello que los AE son una alternativa importante para disminuir el desarrollo de la resistencia antimicrobiana (Stefanakis *et al.*, 2013; Swamy *et al.*, 2016).

La actividad antimicrobiana depende de la composición química del AE y de su mecanismo de acción. Sin embargo, no es solo un mecanismo de acción sino que es una serie de reacciones que involucran a todas las estructuras bacterianas. Lo que confiere a los AE una gran versatilidad en su modo de acción (Nazzaro *et al.*, 2013). Es por ello, que se piensa que la actividad antimicrobiana de los AE depende de tres características principales: el carácter del aceite esencial (hidrofílico o hidrófobo), los componentes químicos y el tipo de microorganismo (Reyes-Jurado *et al.*, 2015).

Diversos estudios han señalado que las bacterias gram positivas son más susceptibles a los AE en comparación con las bacterias gram negativas (Chouhan *et al.*, 2017). Esto es debido a las estructuras presentes en la membrana de las bacterias gram positivas, como los extremos lipofílicos del ácido lipoteicoico, que permiten a los compuestos hidrófobos de los AE se infiltren en las bacterias y actúen sobre su pared y citoplasma (Nazzaro *et al.*, 2013; Chouhan *et al.*, 2017), tornando más permeable la membrana celular de la bacteria y como consecuencia, en algunas bacterias, inhibiendo su crecimiento (Calo *et al.*, 2015). La diferencia con las bacterias gram negativas es que estas poseen una delgada capa de peptidoglucano, la cual está fuertemente unida a una membrana externa rígida, compleja y rica en lipopolisacárido (LPS), lo que limita la infiltración de compuestos hidrófobos a través de ella, mientras que esta membrana está ausente en las bacterias gram positivas (Chouhan *et al.*, 2017). Es por ello, que las bacterias gram negativas son más resistentes a los AE y otros extractos naturales con actividad antimicrobiana, esto se atribuye al LPS, estructurado por el lípido A, el polisacárido central y la cadena del lado O (Nazzaro *et al.*, 2013).

Sin embargo, los diversos componentes químicos que poseen los AE pueden inhibir el crecimiento y la proliferación de una gran variedad de microorganismos patógenos (Reyes-Jurado *et al.*, 2019). Esto es debido a que la actividad antimicrobiana de los AE no es atribuible a un solo mecanismo. Se ha observado en compuestos fenólicos, los cuales ocasionan un efecto antimicrobiano contra bacterias patógenas transmitidas por los alimentos, ya sean gram negativas o gram positivas (Calo *et al.*, 2015). Estos compuestos interrumpen y alteran la permeabilidad de la membrana celular, lo que eventualmente genera una fuga de contenido celular, daño de la membrana citoplasmática y la interferencia en el sistema de producción de energía celular (ATP) (Nazzaro *et al.*, 2013). Esta interrupción en la permeabilidad de la membrana celular puede provocar la muerte celular (Calo *et al.*, 2015), debido a que la integridad de esta es vital para la supervivencia de las bacterias porque es clave en la regulación de las actividades biológicas que ocurren dentro de la célula bacteriana (Nazzaro *et al.*, 2013).

Los mecanismos de acción de los AE son la destrucción de la membrana celular, pérdida de integridad y aumento de permeabilidad. Sumándose a estos, los cambios en el citoplasma (Chouhan *et al.*, 2017). A continuación se detalla en el cuadro 3 los

mecanismos de acción de diversos aceites esenciales frente a algunos patógenos bacterianos.

Cuadro 3. Mecanismo de acción de aceites esenciales contra patógenos bacterianos

Aceite esencial de	Microorganismos	Mecanismos de acción
<i>Allium sativum</i>	<i>Escherichia coli</i>	Induce a fuga de contenido celular
<i>Litsea cubeba</i>	<i>Escherichia coli</i>	Destrucción de la membrana interna y externa
<i>Foeniculum vulgare</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	Pérdida de la integridad de la membrana
<i>Forzythia koreana</i>	Bacterias de transmisión alimentaria	Pérdida de la integridad de la membrana e incremento de la permeabilidad
<i>Piper nigrum</i>	<i>Escherichia coli</i>	Alteración en la morfología de la célula y con fuga de material intercelular
<i>Cuminum cyminum</i>	<i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Cambios en el citoplasma
<i>Canela</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Alteración de la membrana celular
<i>Dipterocarpus gracilis</i>	<i>Bacillus cereus</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Escherichia coli</i>	Alteración de la membrana celular
<i>Ocimum gratissimum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Membrana permeabilizada
<i>Coriaria nepalensis</i>	<i>Candida spp</i>	Interrupción de la integridad de la membrana e inhibición de la biosíntesis de ergosterol
<i>Curcuma longa</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Escherichia coli</i>	Inhibición de la biosíntesis de ergosterol
<i>Origanum vulgare</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Escherichia coli</i>	Membrana permeabilizada
<i>Mentha longifolia</i>	<i>Micrococcus luteus</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	Daño de pared celular

Fuente: (Chouhan *et al.*, 2017)

2.3 Aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*)

Diversas plantas son conocidas y valoradas por sus aceites esenciales. Sin embargo, el orégano y sus diversas especies son las más empleadas (Leyva-López *et al.*, 2017), siendo la especie más representativa el *Origanum vulgare* (Sakkas y Papadopoulou, 2017).

El aceite de orégano posee diversas propiedades antisépticas, se ha reportado que sus componentes tienen efectos acaricidas, antibacterianos y antifúngicos (Sakkas y Papadopoulou, 2017). La cantidad de aceite obtenido está influenciada por la etapa de desarrollo de la planta, obteniéndose la cantidad máxima de AE en plena floración (De Falco *et al.*, 2014).

2.3.1 Composición del AE de orégano

Está compuesto principalmente por terpenos y sesquiterpenos. Los terpenos que se encuentran en la mayoría de especies de orégano son carvacrol, timol, γ terpinene y p-cimeno (Cuadro 4). Existen otros compuestos que están en menor proporción como terpinen-4-ol, linalool, β -mirceno, hidrato de trans-sabineno y β -cariofileno (Leyva-López *et al.*, 2017). Los componentes principales del AE de *Origanum vulgare* son carvacrol y timol, otros componentes presentes son p-cimeno y γ terpinene pero se encuentran en menor cantidad (Sakkas y Papadopoulou, 2017). En el cuadro 4 se detalla la composición de aceites esenciales de diferentes especies de orégano

Cuadro 4. Compuestos principales de aceites esenciales de diferentes especies de orégano

Especies de orégano	Origen	Componentes
<i>Lippia graveolens</i>	México	Timol, carvacrol, β -mirceno, γ terpineno, cis-p-mentha-1 (7).
<i>O. majorana</i>	Brasil	1,8-cineol (20,9%), terpinen-4-ol (20,4%), γ -terpineno (8,5%), p-cimeno (7,0%)
<i>O. bilgeri</i>	Turquía	Carvacrol (84,30–90,20%), p-cimeno (3,40–5,85%), γ -terpineno (0,47–1,20%), timol (0,69–1,08%).
<i>O. onites</i>	Grecia	Carvacrol (62,6%), p-cimeno (8,87%), γ -terpineno (8,45%), β -mirceno (2,92%).
<i>O. vulgare L.</i>	Turquía	Carvacrol (83,97 a 88,65%), timol (0,80 a 7,48%), γ -terpineno (2,63 a 6,15%), p-cimeno (1,52 a 3,16%)
	Argentina	Carvacrol (26,70%), p-cimeno (15,20%), γ -terpineno (15,10%), terpineno (7,50%)
	Argentina	Carvacrol (81,92%), γ -terpineno (4,49%), timol (3,5%), p-cimeno (3,07%).
	Brasil	Carvacrol (73,9%), γ -terpineno (3,6%), timol (3,0%), β -cariofileno (2,8%).
	Grecia	Carvacrol (63,03%), timol (15,09%), p-cimeno (10,47%), γ -terpineno (3,43%)
	China	Carvacrol (30,73%), timol (18,81%), p-cimeno (10,88%), β cariofileno (8,21%)

Modificado de Leyva-López *et al.* (2017)

El timol y el carvacrol son compuestos fenólicos semejantes que varían solo en la posición del grupo hidroxilo dentro del anillo fenólico (Burt, 2004). El carvacrol puede llegar a tener una concentración del 80 % y el timol del 64% mientras que otros componentes solo el 52%, (Burt, 2004; Sakkas y Papadopoulou, 2017). Sin embargo, el contenido de carvacrol es variable en las diferentes especies de *Origanum*, llegando hasta el 95% en algunos (Sakkas y Papadopoulou, 2017).

2.3.2 Actividad antimicrobiana del AE de orégano

El carvacrol posee una gran variedad de propiedades tales como antimicrobiano, antioxidante y anticancerígeno. Siendo resaltante su actividad antimicrobiana ya que es mucho mayor que las de otros compuestos presentes en los aceites esenciales (Rad *et al.*, 2018).

El carvacrol y el timol son los principales componentes responsables de la propiedad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (Lambert *et al.*, 2001; Burt, 2004; Sakkas y Papadopoulou, 2017). Estos compuestos poseen la capacidad de alterar la permeabilidad de la membrana citoplasmática y desintegrar la membrana externa de las bacterias gram negativas (Helander *et al.*, 1998). El daño en la integridad de la membrana celular afecta la homeostasis de la célula bacteriana y pasaje de iones inorgánicos (Lambert *et al.*, 2001).

Otra propiedad antibacteriana se atribuye al p-cimeno, compuesto hidrofóbico, que ocasiona una mayor inflamación de la membrana celular en comparación con el carvacrol (Rodríguez-García *et al.*, 2016). Cabe resaltar que la actividad antimicrobiana del AE de orégano no es atribuible a un solo compuesto. Se ha observado que existe una sinergia antimicrobiana entre los componentes de este aceite. De acuerdo Ultee *et al.*, (2002) la actividad en conjunto del carvacrol y el p-cimeno ocasiona una mayor desestabilización de la membrana y disminución del potencial de membrana en comparación a la acción individual de cada componente.

En un estudio que incluyó 5 AE y 15 bacterias entre gram negativas y positivas, el AE de orégano mostró un mejor efecto bacteriostático y bactericida en comparación con los aceites de menta, salvia, hisopo y manzanilla; los cuales tenían un efecto más débil y solo bacteriostático (Marino *et al.*, 2001). De acuerdo al estudio de Santoyo *et al.*, (2006) el aceite de *Origanum vulgare* mostró actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Pseudomonas aeruginosa*. En otro estudio el AE de orégano fue efectivo para reducir el crecimiento de *E. coli* O157:H7 (Burt y Reinders, 2003). Valero y Salmerón, (2003) evaluaron la actividad antimicrobiana de 11 AE de diferentes plantas contra *Bacillus cereus* resultando el AE de orégano el segundo más efectivo. Soković *et al.*, (2010) empleó el método de microdilución

para comparar la actividad antimicrobiana de 10 AE de plantas comúnmente usadas contra 11 bacterias patógenas y reportó que el AE de orégano mostró uno de los mejores efectos antimicrobianos. Según el autor esto podría estar relacionado con el alto contenido de componente como carvacrol y timol. Lambert *et al.*,(2001) atribuye que estos compuestos poseen la capacidad de desintegrar la membrana externa de las bacterias, alterar la permeabilidad de la membrana citoplasmática y la fuga de iones fosfato y potasio.

Martino *et al.*,(2009) evaluó la actividad de 7 AE provenientes de la familia *Lamiaceae*, reportando que el efecto antibacteriano del AE de orégano fue uno de los más efectivos contra *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* 4384, *Bacillus cereus* 4313, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Según el estudio de Marques *et al.*,(2015) los aceites esenciales de *Origanum vulgare* L. y *Origanum majorana* L. inhibieron el crecimiento de *S. aureus* aislados de carne de ave de corral, por lo cual sugiere que pueden ser una opción como preservantes alimentarios contra este patógeno. El cuadro 5 detalla los patógenos bacterianos que son susceptibles a la actividad antimicrobiana del AE de orégano.

Cuadro 5. Patógenos bacterianos susceptibles a la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano

Aceite esencial	Patógenos bacterianos
Orégano (<i>Origanum vulgare</i>)	<i>Micrococcus flavus</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Salmonella enteritidis</i>
	<i>S. epidermidis</i>
	<i>S. typhimurium</i>
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Enterobacter cloacae</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>L. monocytogenes</i>

Fuente: Soković *et al.* (2010).

2.4 La carne de pollo

Hace más de 8000 años se domesticaron a los pollos en Asia y fue introducido al resto del mundo a través de marinos y comerciantes. Debido al aumento de la demanda mundial de alimentos de origen animal se han ido desarrollando razas comerciales de alto rendimiento, convirtiéndose en la especie avícola más importante del mundo (FAO, 2012).

En los años 1950, su consumo era considerado para ocasiones festivas o para la comida del día domingo. Probablemente se debía a que el precio era mayor en comparación con la carne de vacuno o cerdo. Esto fue cambiando con la creación de sistemas intensivos con bajo precio en la producción de pollo, tomando así una mejor posición en el mercado (Carbajal, 2005). En solo 20 años, desde 1987 a 2007, se registró que la producción de carne aumentó de 35.9 a 86.6 millones de toneladas métricas (Avendaño, 2011).

2.4.1 Aporte nutricional

La carne de pollo no solo aporta proteína animal a la nutrición humana sino que también es rica en fósforo entre otros minerales, así como de vitaminas del complejo B (FAO, 2013).

La carne de pollo es una buena fuente de proteína de alto valor biológico (20%-22%), además la baja concentración en proteínas estructurales aumenta su digestibilidad (Carbajal, 2005; Lofgren, 2012; Bordoni y Danesi, 2017).

El contenido de grasa es bajo en comparación con otras carnes. Las diferentes partes de la carne de pollo contienen cantidades diferentes de grasa, en la pechuga 2,8 g /100g, 10/100 g de cuerpo entero, 13/100g de muslo con piel, variando principalmente por la presencia de la piel (Barroeta, 2007; Bordoni y Danesi, 2017). A comparación de otras carnes, la carne de pollo posee menos ácidos grasos saturados que ácidos grasos insaturados, con una proporción de 1:3 respectivamente (Carbajal, 2005; Barroeta, 2007; Lofgren, 2012). Siendo recomendable para la alimentación, ya que se recomienda reducir el consumo de grasas saturadas (Barroeta, 2007).

El valor energético de la carne de pollo es similar al de otras carnes, variando por la presencia de la piel que aumenta entre 25% a 30% el valor calórico. El valor más alto se encuentra en los muslos 196 kcal/ 100 g y más bajo en la pechuga sin piel 100 kcal/100 g (Bordoni y Danesi, 2017).

Aporta hierro, en menor cantidad que la carne roja, pero mayor en comparación con alimentos de origen vegetal (Barroeta, 2007). La pechuga de pollo cruda contiene aproximadamente 0.4 mg / 100g de hierro (Bordoni y Danesi, 2017). Otro mineral importante es el zinc cuyas fuentes son las carnes rojas y carne de ave. La mayor concentración de zinc se encuentra en la carne de pavo (2,8 mg/ 100g) comparado con la pechuga de pollo (0,67 mg/ 100 g) (Bordoni y Danesi, 2017). Se menciona que una buena fuente de selenio es la carne de pollo (Marangoni *et al.*, 2015; Bordoni y Danesi, 2017), la concentración de selenio en la carne de pollo es alrededor de 10µg/ 100g (Bordoni y Danesi, 2017).

En la carne de pollo las concentraciones de sodio son bajas. Sin embargo, en los productos cárnicos la concentración es mucho mayor, esto se debe a que el sodio es empleado para la conservación del producto cárnico. La carne de pollo posee un contenido significativo de las vitaminas del grupo B, tales como B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina), B6 y B12 (Barroeta, 2007; Marangoni *et al.*, 2015). A pesar de que el contenido de B12 es mayor en carne roja (Carbajal, 2005; Bordoni y Danesi, 2017), la carne de pollo aporta una cantidad importante de niacina (Marangoni *et al.*, 2015). El contenido de vitaminas E y K presente en los músculos de la carne de pollo es menos abundante en comparación con los alimentos de origen vegetal (Marangoni *et al.*, 2015). La composición nutricional de la carne de pollo se detalla en el cuadro 6 y la comparación del valor nutritivo de la carne de ganado, porcino y pollo en 100 g de porción en el cuadro 6.

Cuadro 6. Valor nutritivo de la carne de pollo por 100 g de porción

	Entero	Pechuga
Energía (kcal)	167	112
Proteína (g)	20.0	21.8
Grasa total (g)	9.7	2.8
Calcio (mg)	13	14
Hierro (mg)	1.1	1.0
Yodo (µg)	0.4	0.4
Magnesio (mg)	22	23
Zinc (mg)	1	0.7
Selenio (µg)	6	7
Sodio (mg)	64	81
Potasio (mg)	248	320
Fósforo (mg)	147	173
Vitamina B1 (mg)	0.1	0.1
Vitamina B2 (mg)	0.15	0.15
Niacina eq. (mg)	10.4	14
Vitamina B6 (mg)	0.3	0.42
Vitamina B12 (µg)	0.4	0.4
Vitamina D (µg)	0.2	0.2
Vitamina E (mg)	0.2	0.29

Fuente: Barroeta, 2007

Cuadro 7. Comparación del valor nutritivo de la carne de ganado, porcino y pollo en 100 g de porción

	Carne de pollo	Carne de ganado	Carne porcina
Energía (kcal)	119	105	198
Proteína (g)	21,4	21,3	14,4
Grasa total (g)	3,1	1,6	15,1
Calcio (mg)	12	16	12
Fósforo (mg)	173	208	238
Zinc (mg)	1,54	4,32	1,74
Hierro (mg)	1,50	3,40	1,30
Vitamina B1 (mg)	0,07	0,03	0,90
Vitamina B2 (mg)	0,14	0,13	0,16
Vitamina B3 (mg)	8,24	6,82	5,10

Fuente: (Ministerio de Salud del Perú, 2017)

2.4.2 Situación comercial

En todo el mundo el consumo de carne de ave, está aumentando constantemente (Kearney, 2010; Rouger *et al.*, 2017). La carne de pollo representa aproximadamente el 75% del consumo total de carne de ave, seguido del pavo y finalmente el pato. Uno de los países de mayor consumo es Estados Unidos, con 49,8 kg /hab/año. Este crecimiento también se registra en países europeos, como Francia que en los últimos treinta años la carne de ave ha sido la segunda más consumida, después de la carne de cerdo (Rouger *et al.*, 2017).

El sector avícola, en el Perú, es una de las actividades más importantes del ámbito pecuario ya que representa el 57% del PBI. Además, proporciona alrededor del 70% de la proteína animal consumida por la población nacional a través de la carne y huevos (Mercado, 2015).

En Perú, en la década de los 40, el consumo per cápita de pollo era menor a 1 kg /hab/ año, básicamente era para el autoconsumo de los productores. Recién en los años 70 la industria avícola fue más especializada aumentando la producción y el consumo, llegándose a consumir 4.5 kg/hab/ año de pollo (MINAGRI, 2015). En el año 2013, el consumo per cápita de pollo en el Perú fue de 42 kg, siendo uno

de los mayores consumidores, junto con Brasil, de América Latina. Pero en el 2018 el consumo per cápita a nivel nacional fue de 49.5 kg /habitante/ año (MINAGRI, 2018).

2.4.3 Enfermedades transmitidas por carne de pollo

En todo el mundo, las enfermedades transmitidas por alimentos son un grave problema de salud pública (Kadariya *et al.*, 2014; Seow *et al.*, 2014; Chai *et al.*, 2017; Kim *et al.*, 2019). La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la enfermedad transmitida por los alimentos (ETA) como “enfermedad de naturaleza infecciosa o tóxica provocada por, o que se cree que es causada por, el consumo de alimentos o agua (Le Loir *et al.*, 2003).

El consumo de alimentos contaminados, causa en Estados Unidos aproximadamente 9,4 millones de enfermedades cada año (Kadariya *et al.*, 2014; Chai *et al.*, 2017). Los lácteos, carne roja, carne de ave y sus productos están estrechamente relacionados con los brotes de ETAs (Almeida, 2005). La carne de pollo es una fuente importante para las ETAs ya que se contamina frecuentemente con diversos patógenos bacterianos causantes de ETAs (Capita *et al.*, 2002; Chai *et al.*, 2017). En Estados Unidos se ha reportado que entre 1998 y 2012 la primera causa de los brotes de ETAs fueron ocasionados por el consumo de carne de pollo (Rouger *et al.*, 2017). De acuerdo a la vigilancia de brotes realizada entre 2009 y 2015 en Estados Unidos, el alimento responsable de la mayoría de brotes fue el pescado con 227 brotes (17%), seguido de productos lácteos 136 (11%) y el pollo con 123 (10%). Sin embargo, el pollo fue el alimento que más enfermedades causó 3,114 (12%) (Dewey-Mattia *et al.*, 2018).

Se debe tomar en cuenta que los músculos de aves sanas son estériles pero existen diversas microbiotas en el tracto digestivo, piel, plumas, etc. Además, las superficies del lugar de sacrificio, equipos, manos de trabajadores también albergan bacterias, por consecuencia la carne de pollo después de los diversos procedimientos al que es sometida puede contaminarse (Capita *et al.*, 2002; Rouger *et al.*, 2017).

Los principales agentes contaminantes son bacterias, tales como *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp. y *Campylobacter* spp. (Uddin *et al.*, 2019) y con menor frecuencia *Listeria monocytogenes* (Gonçalves-Tenório *et al.*, 2018).

Estos agentes bacterianos están presentes en el tracto gastrointestinal del pollo, algunos son parte de la microbiota como *E. coli* y otros son agentes patógenos intestinales como *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. (Uddin *et al.*, 2019).

2.5 *Staphylococcus aureus*

2.5.1 Generalidades

En 1883 Ogston nombró *Staphylococcus* a un grupo de micrococos que ocasionaban inflamación y supuración, diferenciándolo de otro grupo de cocos dispuestos en cadenas, los *Streptococcus* (Götz *et al.*, 2006). *Staphylococcus aureus* es una bacteria en forma de coco con 0.5 – 1.0 µm de diámetro, generalmente agrupadas en racimos. Es un Gram-positivo anaerobio facultativo, no móvil y no formador de esporas. Sus colonias son circulares amarillas o amarillas doradas, lisas, brillantes y translúcidas con un tamaño de 6 a 8 mm de diámetro, en medios no selectivos (Holban y Grumezescu, 2018).

El crecimiento de *S. aureus* se da en un amplio rango de temperatura que va de 7 a 48.5 °C pero su óptimo crecimiento es de 30° a 37° C y el pH entre 4.0 y 10.0, con un óptimo de 6.0 a 7.0 (Valero *et al.*, 2009).

Más de 50 especies y subespecies de estafilococos han sido descritas, de acuerdo a la capacidad de producir coagulasa. Clasificándose en cepas productoras de coagulasa (estafilococo coagulasa positivos) y cepas no productoras (estafilococo coagulasa negativos)(Hennekinne *et al.*, 2012).

S. aureus está presente en la piel y mucosas tanto de humanos como de una gran variedad de animales (Kluytmans y Wertheim, 2005). En humanos, coloniza diversas partes del cuerpo. Sin embargo, las fosas nasales son el reservorio más frecuente de *S. aureus*. Encontrándose también en zonas del perineo y faringe, con menos frecuencia en vagina y axilas (Wertheim *et al.*, 2005).

2.5.2 ETA asociada a *S. aureus*

Un agente causal importante de las ETAs es el *S. aureus*, se estima que ocasiona aproximadamente 241,000 casos por año en Estados Unidos (Scallan *et al.*, 2011). En diversos países, los alimentos causantes con más frecuencia de esta ETA son las carnes rojas, carne de aves y sus productos (Kitai *et al.*, 2005). De acuerdo a estudios de prevalencia *Staphylococcus aureus* es el patógeno más frecuente en las carnes de

aves en general y el segundo más frecuente en carne de pollo (Gonçalves-Tenório *et al.*, 2018).

Los estafilococos presentes en las fosas nasales muchas veces contaminan el dorso de la mano, dedos y rostro. Esto se ha observado en la evaluación de Lues y Van Tonder, (2007), los cuales reportaron que más del 80% de los manipuladores de alimentos muestreados tenían contaminadas sus manos con *S. aureus*.

S. aureus ha sido identificado en diversos alimentos, tales como carne roja, carne de ave, huevos, leche, productos lácteos y pescado, su presencia en carne cruda puede deberse a una contaminación en el sacrificio, procesamiento o almacenamiento (Kadariya *et al.*, 2014; Castro *et al.*, 2018). Lo que conlleva a considerar su presencia como un indicador de higiene deficiente en el procesamiento de alimentos, ya que *S. aureus* es un comensal habitual de piel y mucosas de humanos, tomando importancia en los manipuladores de alimentos que por contacto manual o a través de secreciones respiratorias contaminan los alimentos, causando gastroenteritis alimentaria en todo el mundo. (Soriano *et al.*, 2002; Argudín *et al.*, 2010).

Este microorganismo crece y produce enterotoxinas estafilocócicas (SE), el causante de la intoxicación alimentaria estafilocócica. La intoxicación se produce por la ingesta de alimentos contaminados durante la preparación o en el almacenamiento. Los síntomas aparecen rápidamente a las 2 a 8 horas de ingerido el alimento, incluyen náuseas, vómitos frecuentes, dolor abdominal, con o sin diarrea resolviéndose a las 24 a 48 horas posteriores al inicio. Eventualmente puede ser grave y requerir hospitalización en pacientes de la tercera edad, bebés o personas debilitadas (Le Loir *et al.*, 2003; Argudín *et al.*, 2010; Schelin *et al.*, 2011).

2.6 Métodos para el estudio de la actividad antimicrobiana

La evaluación de la resistencia a los antimicrobianos de las bacterias, es un problema de gran impacto en la Salud Pública y Animal. Por ello, se han elaborado protocolos y métodos para su correcta evaluación y determinación de microorganismos resistentes.

2.6.1 Ensayo de Difusión en disco

El ensayo de difusión en disco o antibiograma es empleado de manera rutinaria para patógenos bacterianos comunes y de rápido crecimiento para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los diversos agentes antimicrobianos

(Jenkins y Schuetz, 2012). Los discos de papel filtro se impregnan con concentraciones predeterminadas de antimicrobianos. Y son colocados en la superficie del agar, que previamente fue inoculado con el patógeno bacteriano a desafío. A partir del disco el antimicrobiano se difunde radialmente a través del espesor del agar, transcurridas las 18 a 24 horas de incubación podemos observar zonas con crecimiento bacteriano las cuales no han sido inhibidas por el antimicrobiano y otras alrededor del disco que no presentan crecimiento, lo que prueba que son inhibidos por el antibiótico (García *et al.*, 2000a; Jenkins y Schuetz, 2012).

2.6.2 Método de difusión de gradientes (E-test)

Este método es similar al método de difusión en disco (García *et al.*, 2000a; Jenkins y Schuetz, 2012). Este método emplea una gradiente de concentración del antibiótico por medio de tiras delgadas que están impregnadas con el antibiótico y que a su vez están marcadas en su superficie con una escala de concentración del antimicrobiano (García *et al.*, 2000a; Jorgensen y Ferraro, 2009; Jenkins y Schuetz, 2012). Una vez en contacto la tira con el agar se produce una difusión inmediata del antibiótico, formándose una gradiente exponencial del antibiótico (García *et al.*, 2000a). Transcurrido el tiempo de incubación se puede observar una zona de inhibición elipsoidal (García *et al.*, 2000a), la concentración mínima inhibitoria se determina por el punto de intersección entre la zona de inhibición del crecimiento con la tira (García *et al.*, 2000a; Jorgensen y Ferraro, 2009).

2.6.3 Método de Dilución

El método de dilución evalúa el crecimiento *in vitro* de un microorganismo en presencia de diferentes concentraciones de antibióticos, empleando como medio de cultivo un caldo o agar (García *et al.*, 2000a; Jenkins y Schuetz, 2012). Permitiendo determinar las concentraciones de antibióticos que se requiere para inhibir el crecimiento o matar a la bacteria (Jenkins y Schuetz, 2012).

Además de ser usado para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) también se emplea para determinar la concentración mínima bactericida (CMB) (García *et al.*, 2000a).

2.6.3.1 Método de dilución en agar

El método de dilución en agar empleado como prueba de susceptibilidad está bien estandarizado y es reproducible. Además, puede usarse como referencia en la evaluación de otros ensayos de dilución. El agar Müeller-Hinton (MH) es el medio recomendado para este método y para la mayoría de patógenos bacterianos aerobios y anaerobios facultativos de rápido crecimiento. Permite detectar más fácilmente la contaminación del inóculo en comparación con las pruebas que emplean caldo como medio. Sin embargo, los pasos de este método requieren mucho trabajo y mucho tiempo para preparar las placas de prueba. Por estas razones, no se emplea de manera rutinaria este método (Jenkins y Schuetz, 2012).

2.6.3.2 Método de dilución en caldo

Para el método de dilución de caldo se incluyen la macrodilución, en la que los volúmenes de caldo en los tubos de ensayo para cada dilución generalmente son iguales o mayores a 1 ml, y la microdilución de caldo, en la que las concentraciones de antimicrobianos son con mayor frecuencia de volúmenes más pequeños en placas de microtitulación de 96 pocillos (Jenkins y Schuetz, 2012).

2.6.3.2.1 Macrodilución

La macrodilución fue uno de los primeros métodos empleados para determinar la susceptibilidad antimicrobiana (Jorgensen y Ferraro, 2009; Jenkins y Schuetz, 2012). Sin embargo, hoy en día esta metodología es muy poco usada ya que demanda mucho tiempo y material (García *et al.*, 2000a).

Se emplean tubos a los cuales se les añaden diluciones dobles de antibióticos, caldo nutritivo y se inoculan con una suspensión bacteriana estandarizada (García *et al.*, 2000a; Jorgensen y Ferraro, 2009). Transcurrido el periodo de incubación, se evalúa el crecimiento bacteriano visible por medio de la turbidez (Jorgensen y Ferraro, 2009). De esta manera se determina la CIM como aquella concentración menor en la cual el inóculo no se ha desarrollado, evidenciándose por la ausencia de turbidez en el tubo (García *et al.*, 2000a).

2.6.3.2.2 Microdilución

La prueba de microdilución en caldo es práctica y muy usada debido a la mecanización y la miniaturización. Se emplean microplacas que contienen 96 pocillos que permite evaluar aproximadamente 12 antibióticos en un rango de 8 diluciones dobles (Jorgensen y Ferraro, 2009). Se añaden en cada pocillo el inóculo estandarizado usando micropipetas (Jenkins y Schuetz, 2012). Después de la incubación, se revisan los pocillos para ver el crecimiento bacteriano, el cual se evidencia por la turbidez. La CMI se determina usando un dispositivo de visualización manual o automatizada para la inspección de cada uno de los pozos del panel en busca de crecimiento y será la menor concentración que no permitió el crecimiento (Jorgensen y Ferraro, 2009). Para determinar la CMB se puede comprobar la viabilidad bacteriana tomando una alícuota de cada pocillo y sembrando en agares selectivos (García *et al.*, 2000b).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y tiempo

El presente estudio se realizó en la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en Lima-Perú, durante setiembre de 2018 a enero de 2019. Los ensayos de laboratorio se realizaron en el Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental.

3.2. Materiales y equipo

- Cepa estándar de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- Aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*)
- Agar tripticasa de soya (TSA)
- Agar Müeller Hilton (MH)
- Agar Baird Parker (BP)
- Agua Peptonada (0.1%)
- Autoclave
- Estufa
- Placas Petri
- Ansas
- Espátula de Drigalski
- Discos en blanco

- Hisopos estériles
- Jeringas
- Sellador al vacío
- Rollos de bolsas empacadoras

3.3. Metodología experimental

3.3.1. Obtención del aceite esencial de orégano

En esta investigación se empleó aceite esencial de orégano extraído previamente en otro trabajo del “Laboratorio de Salud Pública y Salud Animal”. Para ellos se adquirió aproximadamente 7.5 kg de orégano fresco proveniente del departamento de Junín. Fue deshojado y deshidratado por 9 horas a 35 °C en un deshidratador de alimentos. Se empleó el método de hidrodestilación para la obtención del aceite esencial de orégano. Obteniendo un rendimiento de 1.31% (Carhuallanqui Pérez *et al.*, 2020). El orégano fue caracterizado por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos para su clasificación taxonómica (Anexo 1).

3.3.2. Composición del aceite esencial de orégano

La composición química del AE de orégano se analizó por cromatografía de gases y por análisis de espectrometría de masas, 20 µl del AE se diluyeron en 1 ml de diclorometano, posteriormente se analizó en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C. Se utilizó una columna con un programa de temperatura de 40 °C que subió 5 °C/min hasta 180 °C; 2.5 °C/min hasta 200 °C por 5 min y finalmente 10 °C/min hasta 300 °C manteniéndose por 3 minutos. El perfil de los compuestos químicos presentes en el AE de orégano fue identificado al comparar los tiempos de retención y los patrones de fragmentación representados en los espectros de masas con los patrones existentes en la base de datos del equipo (Carhuallanqui Pérez *et al.*, 2020) (ANEXO 2).

3.3.3 Ensayo de Difusión en Disco

Preparación del inóculo:

Método de suspensión directa de colonias: A partir de una placa de cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con un ansa se recogió colonias y se ajustó el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de McFarland en suero fisiológico. Este inóculo se agitó en un vortex durante 15-20 segundos de acuerdo a García *et al.* (2000a).

Antes de que transcurran 15 minutos de haber ajustado el inóculo, se introdujo un hisopo estéril dentro de la suspensión y al retirarlo se rotó varias veces contra la pared del tubo por encima del nivel del líquido con la finalidad de eliminar el exceso de inóculo (García *et al.*, 2000). Luego el hisopo es sembrado en la superficie del agar Müeller-Hinton, sin dejar ninguna zona libre. Esto se consiguió deslizando el hisopo estéril por la superficie del agar tres veces, rotando la placa unos 60° cada vez y pasándolo por la periferia del agar para conseguir una siembra uniforme (García *et al.*, 2000a). Se dejó secar de 3 a 5 minutos antes de depositar los discos de papel embebidos con el AE de orégano.

Los discos fueron colocados manualmente con pinzas estériles con 20 µl de AE, se presionó ligeramente los discos para asegurar que contacten perfectamente con la superficie del agar y se esperó 15 minutos para que los discos se adhieran al agar, luego se incubaron las placas a 37°C en atmósfera aeróbica (García *et al.*, 2000a).

La actividad antimicrobiana se evaluó visualmente midiendo el halo de inhibición que rodea al disco, por triplicado (3 discos en la misma placa con la misma cantidad de AE). De acuerdo Espina *et al.* (2011) la actividad antimicrobiana del AE de orégano se clasificó como no inhibitoria cuando los halos eran menores a 10 mm.

3.3.4 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Empleando el método de la microdilución, la cepa de referencia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se desafió a diferentes concentraciones de aceite esencial de orégano. Se usaron microplacas de 96 pocillos para evaluar lo siguientes concentraciones:

Concentración 1: Aceite esencial orégano al 32% frente a *S. aureus*

Concentración 2: Aceite esencial de orégano al 16% frente a *S. aureus*

Concentración 3: Aceite esencial de orégano al 8% frente a *S. aureus*

Concentración 4: Aceite esencial de orégano al 4% frente a *S. aureus*

Concentración 5: Aceite esencial de orégano al 2% frente a *S. aureus*

Concentración 6: Aceite esencial de orégano al 1% frente a *S. aureus*

Concentración 7: Aceite esencial de orégano al 0.5% frente a *S. aureus*

Concentración 8: Aceite esencial de orégano al 0.25% frente a *S. aureus*

Concentración 9: Aceite esencial de orégano al 0.12% frente a *S. aureus*

Concentración 10: Aceite esencial de orégano al 0.06% frente a *S. aureus*

Concentración 11: Aceite esencial de orégano al 0.03% frente a *S. aureus*

Concentración 12: Aceite esencial de orégano al 0.01% frente a *S. aureus*

El inóculo bacteriano se preparó traspasando colonias de *S. aureus* cultivado previamente, a tubos con Caldo Trypticase Soya (TSB) hasta alcanzar una turbidez equivalente a 0.5 en la escala de McFarland (10^8 ufc /mL). Esta mezcla se diluyó para obtener la concentración final de 4×10^6 ufc/ml (García *et al.*, 2000a).

Se utilizaron microplacas de 96 pocillos estériles, las que fueron irradiadas con luz ultravioleta durante 20 minutos previos al inicio del ensayo. Se añadió 95 μ L de TSB a trece pocillos de una misma fila. Seguidamente, al primer pocillo de esa fila, se le agregó 100 μ L del AE de orégano y, a partir de éste se realizó diluciones seriadas hasta el doceavo pocillo, y se empleó el decimosegundo pocillo de la fila siguiente como control positivo sin AE. Finalmente, se añadió 5 μ L de inóculo bacteriano a los 13 pocillos, con una población microbiana final de aproximadamente 10^5 bacterias/ml (García *et al.*, 2000a). La operación descrita se realizará por duplicado para cada tratamiento.

Se determinó la CMI, después de 22 horas de incubación a 37°C, aquel pocillo donde no existió turbidez nos indicó que no hubo crecimiento microbiano; por lo tanto, el AE ha inhibido su crecimiento. Para determinar la turbidez se tomaron lecturas de densidad óptica utilizando un lector de ELISA a 450 nm a las 0 y 22 horas después de la inoculación (Sharafati Chaleshtori y Sharafati Chaleshtori, 2017).

3.3.5. Determinación de la Concentración Mínima Bactericida (CMB)

Se determinó la supervivencia de las bacterias expuestas a las diferentes concentraciones de AE, para ello se tomó una muestra de 10 µL del control y de cada dilución, finalmente se sembró en placas Petri con agar Baird Parker (Boskovic *et al.*, 2015).

Las placas se incubaron a 37 °C, para observar el crecimiento o ausencia de colonias con características de la cepa a las 48 horas. La menor concentración que no permitió el crecimiento bacteriano tras el tiempo de incubación se consideró como la CMB (García *et al.*, 2000a).

3.3.6. Estudio de la actividad antimicrobiana en la carne de pollo

El estudio de la actividad antimicrobiana del AE de orégano en la carne de pollo se evaluó con el método de conteo en placa. La carne de pollo fue comprada del mercado del distrito de San Luis - Lima, y fueron transportadas a temperatura de refrigeración (4°C) al laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la Facultad de Medicina Veterinaria.

La carne de pollo se lavó con agua corriente para disminuir la población bacteriana. Luego se realizaron cortes asépticos a la pechuga de pollo, obteniendo filetes de carne, posteriormente se seleccionó una muestra al azar para detectar la presencia de *S. aureus* por medio de la siembra en agar Baird Parker y se evaluó la presencia de residuos de antimicrobianos de acuerdo a Medina *et al.*, (2008). Los filetes de aproximadamente 25 gr fueron sometidos a radiación ultravioleta durante 20 minutos para eliminar la población bacteriana.

El AE de orégano fue diluido con Tween 80, de acuerdo a Sharafati Chaleshtori y Sharafati Chaleshtori (2017) para obtener las diferentes concentraciones. Se adicionó un mililitro de las diferentes concentraciones del AE de orégano (32, 16, 8, 4, 2, 1, 05, 0.25 y 0.12 %) a las muestras de carne colocadas ya en bolsas estériles de polietileno, con excepción de la muestra control. Todas las muestras fueron inoculadas con *S. aureus* ATCC 25923 a una concentración de 10⁴ ufc/g. Se masajeó manualmente los filetes para homogenizar la mezcla. Finalmente, las muestras fueron selladas con una selladora al vacío (FoodSaver V2240) y almacenadas a 4°C durante 12 días.

3.3.6.1. Método de conteo en placa

El conteo en placa se realizó los días 01, 03,06, 09 y 12 de almacenamientos. Se mezcló 25 gr de muestra con 225 ml de agua peptonada al 0.1%, esta mezcla se diluyó decimalmente para obtener concentraciones de 10^{-2} y 10^{-3} . Se inoculó 0.1 ml de cada dilución en placas con agar Baird Parker. Extendiendo el inóculo sobre la superficie del agar, empleando una espátula de Digrafsky estéril. Se mantuvo las placas en posición vertical hasta que el inóculo fue absorbido en su totalidad por el agar.

Las placas fueron incubadas a 35- 37°C por 45 horas, finalmente se verificó y contó la presencia de colonias típicas de *Staphylococcus aureus* (Silva *et al.*, 2013) que presenten halo.

IV. RESULTADOS

4.1 Ensayo de difusión en disco

Se empleó el ensayo de difusión en disco para detectar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (cuadro 8). El inóculo bacteriano se sembró en toda la superficie del agar, se colocaron discos en blanco embebidos con AE de orégano, transcurridas las 18 horas de incubación se midieron los halos.

Cuadro 8. Halo de inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* en el ensayo de difusión en disco

Concentraciones de AE de orégano (%)	Halo (mm)
100	26
32	12
16	10

4.2 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se realizó a través del método de microdilución en placas de 96 pocillos. La turbidez generada por el crecimiento bacteriano se midió a través de densidades ópticas a las 0 y 22 horas de incubación (Cuadro 8). Las densidades ópticas registradas tras el periodo de incubación fueron mayores que las de la hora 0 en las concentraciones de 0.25% hasta 0.01%, indicando que hubo turbidez por el crecimiento bacteriano de *S. aureus*. Las densidades ópticas para las concentraciones de 32% hasta 0.5% registradas a las 22 horas fueron similares a las tomadas a las 0 horas. Determinando una CMI de 0.5%

Cuadro 9. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de orégano sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Concentraciones de AE de orégano (%)	Densidad Óptica	$\bar{X} \pm DE$	Densidad Óptica
	(0 h)		(22 h)
	\bar{X}		\bar{X}
32	0.21		0.20
16	0.21		0.19
8	0.20		0.17
4	0.17		0.16
2	0.17	0.16 ± 0.05	0.16
1	0.17		0.16
0.5	0.16		0.16
0.25	0.15		0.26
0.12	0.16		0.33
0.06	0.14		0.32
0.03	0.16		0.41
0.01	0.15		0.39
CONTROL	0.14		0.40

4.3 Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)

Para determinar la CMB se sembró de cada pocillo una alícuota en el agar específico Baird Parker (Figura 5) tomando en cuenta el crecimiento o ausencia de colonias típicas de *Staphylococcus aureus* transcurridas las 48 horas de incubación. El aceite esencial de orégano demostró poseer un efecto bactericida en las 4 concentraciones mayores, ya que no hubo crecimiento de *Staphylococcus aureus*, determinando una CMB de 4%.



Figura 5. Colonias típicas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en Agar BP

4.4 Actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano en carne de pollo

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite de orégano en carne de pollo contra *Staphylococcus aureus* se empleó el método del conteo en placa, realizándose el conteo en los días de almacenamiento (1, 3, 6, 9 y 12) de las muestras tratadas con aceite esencial de orégano y las muestras control se obtuvieron las unidades formadoras de colonias (ufc/g). Utilizando las concentraciones del 32 a 0.125 % de aceite esencial de orégano. Ver cuadro 10.

Cuadro 10. Recuento de *Staphylococcus aureus* (UFC/g) frente a las concentraciones de AE de orégano en carne de pollo empacadas al vacío y almacenadas en refrigeración durante los días 01,03,06,09 y 12 de almacenamiento.

Días de almacenamiento	CONTROL	Concentración de AE de orégano (%)								
		32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0.125
1	3×10^4	0	0	1.5×10^4	2×10^4	1.5×10^4	1×10^4	2.6×10^4	2.6×10^4	3×10^4
3	1.2×10^5	0	5×10^3	4.4×10^3	2×10^4	1.8×10^4	2.4×10^4	3×10^4	3.1×10^4	4×10^4
6	1.9×10^6	1×10^3	2.5×10^4	2.6×10^4	1×10^5	3.2×10^5	1×10^6	2×10^6	1.5×10^6	1.5×10^6
9	1.4×10^7	1×10^4	1×10^5	2×10^5	3×10^6	5×10^6	3×10^6	5×10^6	1.1×10^7	1×10^6
12	4×10^7	3×10^5	8×10^5	1.6×10^6	5×10^6	1.3×10^7	1×10^7	5×10^7	3×10^7	1.5×10^7

Como se indica en el cuadro, en el día 1 no se observó crecimiento de *S. aureus* para las concentraciones de 32 y 16 %, las demás tuvieron un conteo similar pero menor al control. En el día 3, se sigue observando la ausencia de crecimiento de *S. aureus* para la concentración de 32% de AE de orégano, los recuentos fueron similares en las concentraciones 16 y 8 % (5×10^3 y 4.4×10^3 ufc/g respectivamente) e inferiores al control

(1.2×10^5 ufc/g). Las concentraciones restantes también fueron similares entre sí y menores al control.

En el día 6 el recuento de *S. aureus* fue 1×10^3 ufc/g para el 32% de AE de orégano, para la concentración de 16 y 8 % los conteos fueron iguales, mayores a los del día 3 pero inferiores al control (1.9×10^5 ufc/g). Conforme transcurre el tiempo de almacenamiento los valores de los recuentos van en aumento, siendo solo el conteo de los tratamientos 1% (1×10^6 ufc/g), 0.5% (2×10^6 log ufc/g) y 0.25% (1.5×10^6 ufc/g) semejantes al control (1.9×10^6 ufc/g).

El conteo del tratamiento de 32% en el día 9 fue de 1×10^4 ufc/g, a pesar de aumentar al transcurrir los días de almacenamiento sigue siendo el menor recuento de todos. Las concentraciones de 16 y 8 % se mantienen con recuentos similares (1×10^5 y 2×10^5 ufc/g respectivamente) pero menores al control (1.4×10^7 ufc/g).

En el día 12 de almacenamiento se puede observar que los recuentos de las concentraciones 32, 16 y 8 % son semejantes (3×10^5 , 8×10^5 , 1.6×10^6 ufc/g respectivamente) pero inferiores al control (4×10^7 ufc/g). Los recuentos de las concentraciones restantes fueron similares entre sí.

V. DISCUSIÓN

La resistencia antimicrobiana de patógenos importantes ha ido en aumento rápidamente en las últimas décadas, convirtiéndose en un grave problema para la salud pública en todo el mundo (Munita y Arias, 2017). Se ha reportado resistencia a los antibióticos en bacterias presentes en los alimentos, los cuales pueden transmitirse a los humanos por medio de la cadena alimentaria (Walsh y Fanning, 2008).

Los aditivos alimentarios son preservantes o conservantes alimentarios, cuyo propósito es reducir el proceso de degradación del alimento y el control de microorganismos patógenos (Davidson, 2006; Pandey *et al.*, 2017). Los preservantes alimentarios por lo general son sustancias químicas que se agregan a los alimentos para inhibir o inactivar microorganismo de descomposición y patógenos (Davidson, 2006). Sin embargo, los preservantes sintéticos pueden causar problemas de salud por lo cual se ha buscado reemplazarlos con preservantes naturales y que sean inocuos para la salud (Faleiro, 2011).

Se ha investigado la utilidad de las plantas aromáticas y sus aceites esenciales para la preservación e inocuidad alimentaria (Burt, 2004; Fisher y Phillips, 2008). Los aceites esenciales han demostrado ser efectivos contra patógenos bacterianos transmitidos por alimentos y poseen un potencial como preservante de alimentos (Burt, 2004; Pandey *et al.*, 2017).

El orégano y sus diversas especies son una de las plantas más empleadas para la extracción de aceites esenciales (Leyva-López *et al.*, 2017). Los aceites esenciales de orégano poseen compuestos bioactivos que tienen efectos antibacterianos contra bacterias transmitidas por alimentos y que descomponen los alimentos (Leyva-López *et al.*, 2017).

Como paso previo al estudio de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano frente a *S. aureus* ATCC 25923 se realizó el ensayo de difusión en disco. Obteniendo una

zona de medición de 26 mm, que de acuerdo a la escala de medición descrita por Espina *et al.*, (2011) el AE orégano posee una fuerte inhibición contra *S. aureus*.

El estudio de la actividad antimicrobiana continuó con la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Para determinar la CMI se empleó el método de microdilución en placas de 96 pocillos, obteniendo como resultado una CMI de 0.5%. Posterior a esto se retiraron alícuotas de los pocillos donde se evidencio inhibición para sembrarlos en el agar específico Baird Parker y observar si hubo o no crecimiento bacteriano, obteniendo una CMB de 4%. En el desarrollo de la primera, la turbidez o densidad óptica de cada pocillo después de la incubación debería ser superior o igual a la registrada al inicio; lo que indicaría desarrollo microbiano o ausencia de éste, respectivamente, y permitiría la detección de la CMI (García *et al.*, 2000a).

Respecto a la determinación de la CMI, las densidades ópticas finales fueron similares a las iniciales en las concentraciones comprendidas entre 32 y 0.5 %, y mayores en las concentraciones de 0.25 a 0.01%, por lo cual se determinó una CMI de 0.5%. El cual es un valor mayor al obtenido por Ortega (2018), que evaluó la actividad antimicrobiana del AE de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *S. aureus*, obteniendo una CMI de 0.12%. Además en el mismo estudio se realizó la prueba de difusión en disco obteniendo una zona de inhibición de 32.5 mm el cual fue superior también al del presente estudio (26 mm). Cabe resaltar que la composición del AE de orégano usado por Ortega poseía una alta concentración de carvacrol (73.3 %) en comparación al usado en este trabajo (1.7%). Resultado similar al obtenido por Nostro *et al.*, (2007), que evaluaron seis aislados *S. aureus*, obtenidos de infecciones oculares, reportando una CMI entre 0.06 y 0.12%. Lofa *et al.* (2019) evaluó la susceptibilidad de *S. aureus* aislados de piel, carne y también cepas estándares ATCC y determinó una CMI de 0.04%, también menor a la del presente estudio.

Nostro *et al.*, (2007), emplearon un AE de orégano como 14% de carvacrol y 24.7 % de timol y Lofa *et al.*, (2019) empleo un aceite cuyo principal componente fue el carvacrol. De acuerdo a Lambert *et al.*, (2001), la mayor parte de la actividad antimicrobiana se atribuye a estos dos componentes, ya que causan un daño estructural y funcional de la membrana al alterar su permeabilidad.

Man *et al.*, (2019) que evaluó 6 AE contra bacterias gram negativas y gram positivas, concluyó que el AE de orégano (*Origanum vulgare*) mostró el mejor efecto antimicrobiano y reportó una CMI de 0.4% contra *S. aureus* sensible a la meticilina (SASM), similar al obtenido en este estudio (0.5%). El AE empleado por Man *et al.*, (2019) estuvo compuesto principalmente por carvacrol (80.5%) que difiere mucho al empleado en este estudio. Posiblemente esto se deba que la actividad antimicrobiana no es atribuible a un solo componente, sino que también depende de otros componentes (Ultee *et al.*, 2002).

Otros estudios como el de Boskovic *et al.*, (2015) que evaluó la actividad antimicrobiana del AE de orégano (*Origanum vulgare*) contra *S. aureus* empleando el método de microdilución determinaron una CMI de 640 µg/ml, en cambio Soković *et al.*, (2010) empleando el mismo método reportó que de los 10 AE que analizó el de orégano (*Origanum vulgare*) fue el que mostró una fuerte actividad y que además inhibe el crecimiento bacteriano de *S. aureus* en concentraciones pequeñas (0.05 a 0.5 µg/ml). Marques *et al.*, (2015) evaluó la actividad antimicrobiana del AE de *Origanum vulgare* L. y de *Origanum majorana* L. contra *S. aureus* aislados de carne de ave, siendo todos los aislados sensibles a los aceites esenciales. Sin embargo, el AE de *Origanum vulgare* reportó una mejor actividad, inhibiendo el crecimiento de los aislados con concentraciones menores a la del AE de *Origanum majorana*. De acuerdo a Marques *et al.*, (2015) la CMI obtenida para los AE de *Origanum vulgare* L. varió entre las concentraciones de 6.25 a 25 µl/ml. A diferencia de lo obtenido por de Souza *et al.*, (2009), quienes reportaron una CMI menor (0.6 µl/ml) para el AE de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *S. aureus*.

Para la evaluación de CMB se tomaron alícuotas de todos los pocillos y se sembraron en el agar Baird Parker. Transcurrido el tiempo de incubación se observó la ausencia o presencia de colonias negras rodeadas de un halo transparente. La CMB obtenida fue de 4 %, resultado similar al obtenido por Oyarzabal *et al.*, (2011), quienes evaluaron la acción antimicrobiana del AE de orégano (*Origanum vulgare* L.) frente a bacterias aisladas de la leche bovina y cepas estándares ATCC, reportando una CMB de 3,17% para *S. aureus*. Cabe mencionar que el AE empleado por Oyarzabal *et al.*, (2011) también presentó una baja concentración de carvacrol y timol como el presente estudio. Por el contrario a los resultados mencionados, Lofa *et al.*, (2019) evaluaron concentraciones

menores, reportando una CMB de 0.04 % de AE de orégano contra *S. aureus* similar al reportado por Melo *et al.*, (2015) cuya CMB fue de 0.06% contra *S. aureus* ATCC 29213.

Por otro lado, Nostro *et al.*, (2007) reportó una CMB entre 0.12 a 0.25% para los seis aislados de *S. aureus*, pero menor al del presente estudio (4%). El AE de orégano (*Origanum vulgare*) empleado por Nostro *et al.*, (2007) estuvo compuesto principalmente por carvacrol y timol (14 y 24.7%, respectivamente), concentraciones superiores al del presente trabajo (carvacrol, 1.7% y timol 11.9%). Los altos valores de CMI y CMB se pueden relacionar con los bajos niveles de carvacrol y timol del AE empleado.

Los compuestos fenólicos como el carvacrol y el timol son los principales responsables de la actividad antimicrobiana del AE de orégano (Burt, 2004; Govaris *et al.*, 2010). Sin embargo, la cantidad y calidad de sus componentes se pueden ver afectados por las condiciones medioambientales del crecimiento (clima, altitud), el tiempo de floración e incluso el método de extracción del AE (Arcila-Lozano *et al.*, 2004; Reyes-Jurado *et al.*, 2015). El carvacrol puede constituir el AE de orégano del 12.6 al 88.7% (Simirgiotis *et al.*, 2020) y el timol hasta 64% (Sakkas y Papadopoulou, 2017). Sin embargo, Tellez (2017), que analizó 6 ecotipos de AE de orégano (*Origanum vulgare*) provenientes del Valle Urubamaba (Cuzco) determinó una concentración de carvacrol entre 0.20 a 2.04 % y timol entre 2.3 a 18.3, valores similares al encontrado en el presente estudio. Tellez y Nolazco, (2017) determinaron la composición química del AE de orégano proveniente de la ciudad de Tacna (Perú), reportando también concentraciones bajas de carvacrol (2,24%) y timol (18,8 %). De acuerdo Tellez, (2017), estas bajas concentraciones están asociadas al bajo estrés hídrico que se presenta cuando la planta se desarrolla a baja altitud (3092 - 3260 msnm). El orégano empleado era proveniente de Concepción- Junín, lugar con similar altitud a la zona de estudio de Tellez, (2017), razón por la cual las concentraciones de carvacrol y timol son similares a los reportados por Tellez, (2017).

Hay otros estudios que señalan también bajos niveles de carvacrol y timol en Chile, Simirgiotis *et al.*, (2020) reportaron concentraciones bajas de carvacrol (3.1%) y timol (15.9%). Similares concentraciones reportaron Asensio *et al.*, (2015), quienes evaluaron la composición de AE de orégano proveniente de la provincia de Córdoba, Argentina cuya concentración de carvacrol varió entre 0.1 a 0.35% y del timol, 12.1 a 17.4%.

La actividad antimicrobiana del AE de orégano en carne de pollo, se evaluó los días 01, 03, 06, 09 y 12 de almacenamiento en refrigeración. Solo en las concentraciones de 32 y

16 % en el primer día no reportaron la presencia de *S. aureus*. Para el día 3, la concentración de 32% no reportó crecimiento. Sin embargo para el mismo día, se obtuvo un conteo de 5×10^3 ufc/g en la concentración de 16 %. Para el día 6 de almacenamiento, la concentración de 32% tuvo un conteo de 1×10^3 ufc/g y para el día 9 1×10^5 ufc/g, límite máximo establecido por la Norma Sanitaria de criterios microbiológico de la Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano NTS N° 071-Minsa/Digesa-V-01. Estos resultados se contradicen con los reportados por Pesavento *et al.*, (2015), quienes evaluaron 3 concentraciones de AE de orégano (0,5%, 1% y 2%) y redujeron la carga bacteriana de *S. aureus* en la carne de ternera conservada a 4°C, siendo el principal componente de su AE el carvacrol (71.8%). Estos resultados muestran una reducida capacidad del aceite de orégano en carne de pollo empacada al vacío. Sin embargo, se sugiere emplear un AE con mayor concentración de carvacrol y timol para poder obtener un mejor efecto antimicrobiano frente *S. aureus*.

VI. CONCLUSIONES

- El aceite esencial de orégano presentó un efecto bacteriostático y bactericida *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).
- El aceite esencial de orégano al 32% mostró un efecto inhibitorio sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en carne de pollo empacada al vacío y almacenada en refrigeración hasta el tercer día de almacenamiento.

VII. RECOMENDACIONES

- Es necesario evaluar las concentraciones de AE de orégano frente a aislados de campo que sean provenientes de carne de ave.
- Para obtener AE con mayor concentración de compuestos antimicrobianos se recomienda recolectar el orégano en época de floración.
- Evaluar la composición del AE de orégano de diferentes regiones del Perú para determinar cual posee mayor compuestos antimicrobianos.
- Evaluar el efecto de las diferentes concentraciones de AE de orégano sobre las características organolépticas de la carne de pollo.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Almeida C. 2005. Enfermedades Transmitidas por Alimentos en América Latina. *Inppaz/Fao* Disponible en: https://watermark.silverchair.com/55-1-49.pdf?token=AQECAHi208BE49Ooan9kkhW_Ercy7Dm3ZL_9Cf3qfKAc485ysgAAAncwggJzBgkqhkiG9w0BBwagggJkMIICYAIBADCCAlkGCSqGSIB3DQEHATAeBglghkgBZQMEAS4wEQQMv2uEsMHhcN6u5ChIAgEQgIICKpeDir1PoG0MfOQX9w386gIDAAatTqjcqelRm4b1QoEHqL7 [Accedido 7 de abril de 2020]
- Alpaca DA, Berrios EP, De Córdova López Del Solar DJ, Ocola FW. 2018. Planeamiento Estratégico para la Industria Arequipeña del Orégano
- Arcila-Lozano CC, Loarca-Piña G, Lecona-Uribe S, González De Mejía E. 2004. El orégano: Propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion* **54**: 100–111 Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000100015 [Accedido 20 de noviembre de 2019]
- Argudín MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR. 2010. Food Poisoning and Staphylococcus aureus Enterotoxins. *Toxins* **2**: 1751–1773 DOI: 10.3390/toxins2071751
- Asbahani A El, Miladi K, Badri W, Sala M, Addi EHA, Casabianca H, Mousadik A El, Hartmann D, Jilale A, Renaud FNR, et al. 2015. Essential oils: From extraction to

- encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics* **483**: 220–243 DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.12.069
- Avendaño S. 2011. Incorporación tecnológica en mejoramiento genético de pollos de engorde, pasado, presente y futuro. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal* **19**: 1–7 Disponible en: www.alpa.org.ve/ojs/index/php
 - Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils - A review. *Food and Chemical Toxicology* **46**: 446–475 DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.106
 - Barroeta AC. 2007. Nutritive value of poultry meat: Relationship between vitamin e and PUFA. *World's Poultry Science Journal* **63**: 277–284 DOI: 10.1017/S0043933907001468
 - Bordoni A, Danesi F. 2017. Poultry meat nutritive value and human health. In *Poultry Quality Evaluation: Quality Attributes and Consumer Values* Elsevier; 279–290. DOI: 10.1016/B978-0-08-100763-1.00011-8
 - Boskovic M, Zdravkovic N, Ivanovic J, Janjic J, Djordjevic J, Starcevic M, Baltic MZ. 2015. Antimicrobial Activity of Thyme (*Tymus vulgaris*) and Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oils against Some Food-borne Microorganisms. *Procedia Food Science* **5**: 18–21 DOI: 10.1016/j.profoo.2015.09.005
 - Bousbia N, Vian MA, Ferhat MA, Meklati BY, Chemat F. 2009. A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering* **90**: 409–413 DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2008.06.034
 - Burt S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. *International Journal of Food Microbiology* **94**: 223–253 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
 - Burt SA, Reinders RD. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology* **36**: 162–167 DOI:

10.1046/j.1472-765X.2003.01285.x

- Calo JR, Crandall PG, O'Bryan CA, Ricke SC. 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. *Food Control* **54**: 111–119 DOI: 10.1016/j.foodcont.2014.12.040
- Capita R, Alonso-Calleja C, García-Fernández MC, Moreno B. 2002. Review: Trisodium Phosphate (TSP) Treatment for Decontamination of Poultry. *Food Science and Technology International* **8**: 11–24 DOI: 10.1106/108201302023118
- Carbajal Á. 2005. HÁBITOS DE CONSUMO DE CARNE DE POLLO Y HUEVOS. CALIDAD NUTRICIONAL Y RELACIÓN CON LA SALUD. **5**: 51–72 Disponible en: <https://www.ucm.es/data/cont/docs/458-2013-07-24-carbajalAECAXLII2005T-1.pdf> [Accedido 28 de marzo de 2020]
- Carhuallanqui Pérez A, Salazar Salvatierra ME, Ramos Delgado D. 2020. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research* **22**: 23–33 DOI: 10.18271/ria.2020.530
- Castro A, Silva J, Teixeira P. 2018. *a Food Pathogen : Virulence Factors and Antibiotic Resistance*. Elsevier Inc. DOI: 10.1016/B978-0-12-811444-5/00008-7
- Chai SJ, Cole D, Nisler A, Mahon BE. 2017. Poultry: The most common food in outbreaks with known pathogens, United States, 1998-2012. *Epidemiology and Infection* **145**: 316–325 DOI: 10.1017/S0950268816002375
- Chirinos O, Mc E, Abarca J, Coaquira J, Garcia L, Leon D. 2009. Exportación de orégano de Tacna al mercado de Brasil. *ESAN* **12**: 211 Disponible en: <https://www.mendeley.com/viewer/?fileId=4310a29e-b310-0f7b-0282-2a58cbb5e2ab&documentId=e7547dd2-2b78-3782-b396-23f1645c4cf9> [Accedido 8 de enero de 2020]

- Chouhan S, Sharma K, Guleria S. 2017. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils— Present Status and Future Perspectives. *Medicines* **4**: 58 DOI: 10.3390/medicines4030058
- Davidson PM. 2006. Food antimicrobials: Back to nature. *Acta Horticulturae* **709**: 29–33
- Dewey-Mattia D, Manikonda K, Hall AJ, Wise ME, Crowe SJ. 2018. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks - United States, 2009-2015. *MMWR Surveillance Summaries* **67** DOI: 10.15585/MMWR.SS6710A1
- Espina L, Somolinos M, Lorán S, Conchello P, García D, Pagán R. 2011. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control* **22**: 896–902 DOI: 10.1016/j.foodcont.2010.11.021
- De Falco E, Roscigno G, Landolfi S, Scandolera E, Senatore F. 2014. Growth, essential oil characterization, and antimicrobial activity of three wild biotypes of oregano under cultivation condition in Southern Italy. *Industrial Crops and Products* **62**: 242–249 DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.08.037
- Faleiro ML. 2011. The mode of antibacterial action of essential oils. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*: 1143–1156
- FAO. 2012. Pollos | Producción y productos avícolas Disponible en: <http://www.fao.org/poultry-production-products/production/poultry-species/chickens/es/> [Accedido 28 de marzo de 2020]
- FAO. 2013. *Revisión del Desarrollo Avícola*. Disponible en: www.fao.org/publications [Accedido 28 de marzo de 2020]
- Fisher K, Phillips C. 2008. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends in Food Science and Technology* **19**: 156–164 DOI:

10.1016/j.tifs.2007.11.006

- García-Pérez E, Castro-álvarez FF, Alejandra J, Silverio G. 2012. Revisión de la producción , composición fitoquímica y propiedades nutraceuticas del orégano mexicano * Revision of the production , phytochemical composition , and nutraceutical properties of Mexican oregano Resumen Introducción. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* **3**: 339–353
- García JA, Cantón R, Elías J, M^a S, Gomez-Lus L, Martínez Martínez L, Rodríguez-Avial C, Vila J. 2000a. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)* Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
- García JA, Cantón R, Elías J, M^a S, Gomez-Lus L, Martínez Martínez L, Rodríguez-Avial C, Vila J. 2000b. Métodos especiales para el estudio de la sensibilidad a antimicrobianos. *Procedimientos en Microbiología Clínica. 1St Ed.* Disponible en: http://coesant-seimc.org/documents/MétodosEspeciales_Sensibilidad.pdf
- Gonçalves-Tenório A, Nunes Silva B, Rodrigues V, Cadavez V, Gonzales-Barron U. 2018. Prevalence of pathogens in poultry meat: A meta-analysis of European published surveys. *Foods* **7** DOI: 10.3390/foods7050069
- Götz F, Bannerman T, Schleifer K-H. 2006. *The Genera Staphylococcus and Micrococcus*. DOI: 10.1007/0-387-30744-3_1
- Govaris A, Solomakos N, Pexara A, Chatzopoulou PS. 2010. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against Salmonella Enteritidis in minced sheep meat during refrigerated storage. *International Journal of Food Microbiology* **137**: 175–180 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.017

- Helander IM, Alakomi HL, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid EJ, Gorris LGM, Von Wright A. 1998. Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**: 3590–3595 DOI: 10.1021/jf980154m
- Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S. 2012. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: Characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiology Reviews* **36**: 815–836 DOI: 10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x
- Holban AM, Grumezescu AM. 2018. *Foodborne Diseases*. DOI: 10.3201/eid1407.080346
- Jenkins SG, Schuetz AN. 2012. Current concepts in laboratory testing to guide antimicrobial therapy. In *Mayo Clinic Proceedings* Elsevier Ltd; 290–308. DOI: 10.1016/j.mayocp.2012.01.007
- Jorgensen JH, Ferraro MJ. 2009. Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Diseases* **49**: 1749–1755 DOI: 10.1086/647952
- Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. 2014. Staphylococcus aureus and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health. *BioMed Research International* **2014** DOI: 10.1155/2014/827965
- Kearney J. 2010. Food consumption trends and drivers. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **365**: 2793–2807 DOI: 10.1098/rstb.2010.0149
- Kim HE, Lee JJ, Lee MJ, Kim BS. 2019. Analysis of microbiome in raw chicken meat from butcher shops and packaged products in South Korea to detect the potential risk of foodborne illness. *Food Research International* **122**: 517–527 DOI: 10.1016/j.foodres.2019.05.032
- Kitai S, Shimizu A, Kawano J, Sato E, Nakano C, Kitagawa H, Fujio K, Matsumura K,

- Yasuda R, Inamoto T. 2005. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* and enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in retail raw chicken meat throughout Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* **67**: 269–274 DOI: 10.1292/jvms.67.269
- Klauer D. 2009. Manual técnico de cultivo ecológico de orégano (*Origanum sp L.*). *Journal of Chemical Information and Modeling* **53**: 1689–1699 DOI: 10.1017/CBO9781107415324.004
 - Kluytmans JAJW, Wertheim HFL. 2005. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and prevention of nosocomial infections. *Infection* **33**: 3–8 DOI: 10.1007/s15010-005-4012-9
 - Kofidis G, Bosabalidis AM, Moustakas M. 2003. Contemporary seasonal and altitudinal variations of leaf structural features in oregano (*Origanum vulgare L.*). *Annals of Botany* **92**: 635–645 DOI: 10.1093/aob/mcg180
 - Lambert RJ, Skandamis PN, Coote PJ., Nychas GJ. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* **33**: 453–462 DOI: 10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x
 - Leyva-López N, Gutiérrez-Grijalva EP, Vazquez-Olivo G, Heredia JB. 2017. Essential oils of oregano: Biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules* **22** DOI: 10.3390/molecules22060989
 - Lofa A, Velasco V, Gerding M, López MD, Vallejos D, Bonilla AM, Logue CM. 2019. Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains of swine origin: molecular typing and susceptibility to oregano (*Origanum vulgare L.*) essential oil and maqui (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz) extract. *Journal of Applied Microbiology* **127**: 1048–1056 DOI: 10.1111/jam.14393
 - Lofgren PA. 2012. Meat, Poultry, and Meat Products: Nutritional Value. In *Encyclopedia*

- of Human Nutrition* Elsevier Inc.; 160–167. DOI: 10.1016/B978-0-12-375083-9.00184-7
- Le Loir Y, Baron F, Gautier M. 2003. Staphylococcus aureus and food poisoning. In *Genetics and Molecular Research* 63–76. Disponible en: www.funpecrp.com.br [Accedido 2 de abril de 2020]
 - Lues JFR, Van Tonder I. 2007. The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. *Food Control* **18**: 326–332 DOI: 10.1016/j.foodcont.2005.10.010
 - Man A, Santacroce L, Jacob R, Mare A, Man L. 2019. Antimicrobial activity of six essential oils against a group of human pathogens: A comparative study. *Pathogens* **8**: 1–11 DOI: 10.3390/pathogens8010015
 - Marangoni F, Corsello G, Cricelli C, Ferrara N, Ghiselli A, Lucchin L, Poli A. 2015. Role of poultry meat in a balanced diet aimed at maintaining health and wellbeing: An Italian consensus document. *Food and Nutrition Research* **59**: 1–11 DOI: 10.3402/fnr.v59.27606
 - Marino M, Bersani C, Comi G. 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *International Journal of Food Microbiology* **67**: 187–195 DOI: 10.1016/S0168-1605(01)00447-0
 - Marques J de L, Volcão LM, Funck GD, Kroning IS, da Silva WP, Fiorentini ÂM, Ribeiro GA. 2015. Antimicrobial activity of essential oils of *Origanum vulgare* L. and *Origanum majorana* L. against *Staphylococcus aureus* isolated from poultry meat. *Industrial Crops and Products* **77**: 444–450 DOI: 10.1016/j.indcrop.2015.09.013
 - De Martino L, De Feo V, Nazzaro F. 2009. Chemical composition and in vitro antimicrobial and mutagenic activities of seven lamiaceae essential oils. *Molecules* **14**: 4213–4230 DOI: 10.3390/molecules14104213
 - Medina MS, Guillermina González D, Ramírez A. 2008. DETECCIÓN DE RESIDUOS

ANTIMICROBIANOS EN TEJIDOS COMESTIBLES Y TETRACICLINAS EN HUESO DE CERDO. *Rev. Salud Anim* **30**: 110–115 Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2008000200007

[Accedido 20 de septiembre de 2020]

- Melo ADB, Amaral AF, Schaefer G, Luciano FB, de Andrade C, Costa LB, Rostagno MH. 2015. Antimicrobial effect against different bacterial strains and bacterial adaptation to essential oils used as feed additives. *Canadian Journal of Veterinary Research* **79**: 285–289 Disponible en: [/pmc/articles/PMC4581672/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC4581672/?report=abstract) [Accedido 1 de noviembre de 2020]
- Mercado AL. 2015. Influencia de la edad de la reproductora sobre el rendimiento productivo de dos lotes de pollos de engorde
- MINAGRI. 2015. Aves Disponible en: <http://minagri.gob.pe/portal/40-sector-agrario/situacion-de-las-actividades-de-crianza-y-produccion/297-aves?start=1> [Accedido 30 de marzo de 2020]
- MINAGRI. 2018. BOLETIN ESTADISTICO MENSUAL DE LA PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE PRODUCTOS AVÍCOLAS: 1–27
- Ministerio de Salud del Perú. 2017. *Tablas Peruanas de Composición de Alimentos*. Lima. DOI: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>
- Mith H, Duré R, Delcenserie V, Zhiri A, Daube G, Clinquart A. 2014. Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Science & Nutrition* **2**: 403–416 DOI: 10.1002/fsn3.116
- Munita J, Arias C. 2017. Antibiotic Resistance Mechanisms. *Journeys in Medicine and Research on Three Continents Over 50 Years*: 95–99 DOI: 10.1142/9789813209558_0015

- Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* **6**: 1451–1474 DOI: 10.3390/ph6121451
- Nostro A, Roccaro AS, Bisignano G, Marino A, Cannatelli MA, Pizzimenti FC, Cioni PL, Procopio F, Blanco AR. 2007. Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Journal of Medical Microbiology* **56**: 519–523 DOI: 10.1099/jmm.0.46804-0
- O’Byrne CA, Crandall PG, Ricke SC. 2018. Antimicrobial Resistance in Foodborne Pathogens. *Food and Feed Safety Systems and Analysis* **4**: 99–115 DOI: 10.1016/B978-0-12-811835-1.00006-3
- Ortega A. 2018. DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE TOMILLO (*Thymus vulgaris*) Y ORÉGANO (*Origanum vulgare*) FRENTE A LA BACTERIA *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600. IEEE. DOI: 10.1109/ISQED.2015.7085477
- Oyarzabal MEB, Schuch LFD, Prestes LS, Schiavon DBA, Rodrigues MRA, de Mello JRB. 2011. Antimicrobial action of *Origanum vulgare* L. essential oil against bacteria isolated from bovine milk | Actividad antimicrobiana de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. ante bacterias aisladas en leche de bovino. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* **16**: 260–266
- Pandey AK, Kumar P, Singh P, Tripathi NN, Bajpai VK. 2017. Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. *Frontiers in Microbiology* **7**: 1–14 DOI: 10.3389/fmicb.2016.02161
- Pesavento G, Calónico C, Bilia AR, Barnabei M, Calesini F, Addona R, Mencarelli L, Carmagnini L, Di Martino MC, Lo Nostro A. 2015. Antibacterial activity of Oregano, *Rosmarinus* and *Thymus* essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control* **54**: 188–199 DOI:

10.1016/j.foodcont.2015.01.045

- Rad MS, Setzer WN, Iriti M, Martorell M, Varoni EM, Salehi B. 2018. Carvacrol and human health : A comprehensive review: 1–13 DOI: 10.1002/ptr.6103
- Rassem H, Nour A, R. M. Y. 2016. Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: A Review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* **10**: 117–127
- Reyes-Jurado F, Franco-Vega A, Ramírez-Corona N, Palou E, López-Malo A. 2015. Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. *Food Engineering Reviews* **7**: 275–297 DOI: 10.1007/s12393-014-9099-2
- Reyes-Jurado F, Navarro-Cruz AR, Ochoa-Velasco CE, Palou E, López-Malo A, Ávila-Sosa R. 2019. Essential oils in vapor phase as alternative antimicrobials: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **0**: 1–10 DOI: 10.1080/10408398.2019.1586641
- Rodriguez-Garcia I, Silva-Espinoza BA, Ortega-Ramirez LA, Leyva JM, Siddiqui MW, Cruz-Valenzuela MR, Gonzalez-Aguilar GA, Ayala-Zavala JF. 2016. Oregano Essential Oil as an Antimicrobial and Antioxidant Additive in Food Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **56**: 1717–1727 DOI: 10.1080/10408398.2013.800832
- Rouger A, Tresse O, Zagorec M. 2017. Bacterial Contaminants of Poultry Meat: Sources, Species, and Dynamics. *Microorganisms* **5**: 50 DOI: 10.3390/microorganisms5030050
- Sakkas H, Papadopoulou C. 2017. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **27**: 429–438 DOI: 10.4014/jmb.1608.08024
- Santoyo S, Cavero S, Jaime L, Ibañez E, Señoráns FJ, Reglero G. 2006. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with antimicrobial activity from *Origanum vulgare* L.: Determination of optimal extraction parameters. *Journal of Food Protection* **69**: 369–375 DOI: 10.4315/0362-028X-69.2.369

- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe R V., Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. 2011. Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens. *Emerging Infectious Diseases* **17**: 7–15 DOI: 10.3201/eid1701.P11101
- Schelin J, Wallin-Carlquist N, Cohn MT, Lindqvist R, Barker GC, Rådström P. 2011. The formation of Staphylococcus aureus enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence* **2**: 580–592 DOI: 10.4161/viru.2.6.18122
- Seow YX, Yeo CR, Chung HL, Yuk HG. 2014. Plant Essential Oils as Active Antimicrobial Agents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **54**: 625–644 DOI: 10.1080/10408398.2011.599504
- Sharafati Chaleshtori F, Sharafati Chaleshtori R. 2017. Antimicrobial activity of chitosan incorporated with lemon and oregano essential oils on broiler breast meat during refrigerated storage. *Nutrition and Food Science* **47**: 306–317 DOI: 10.1108/NFS-08-2016-0123
- Siddiqui MW, Ayala-Zavala JF, Hwang CAA. 2016. Preface. *Postharvest Management Approaches for Maintaining Quality of Fresh Produce*: vii–viii DOI: 10.1007/978-3-319-23582-0
- Silva N Da, Taniwaki MH, Christina V, Junqueira A, Ferraz N, Silveira DA, Da M, Do S, Abeilar R, Gomes R. 2013. *Examination Methods of Food and Water*. DOI: 10.1016/j.biopsych.2004.10.028
- Simirgiotis MJ, Burton D, Parra F, López J, Muñoz P, Escobar H, Parra C. 2020. Antioxidant and antibacterial capacities of origanum vulgare l. Essential oil from the arid andean region of chile and its chemical characterization by gc-ms. *Metabolites* **10**: 1–12 DOI: 10.3390/metabo10100414
- Soković M, Glamočlija J, Marin PD, Brkić D, Van Griensven LJLD. 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro

- model. *Molecules* **15**: 7532–7546 DOI: 10.3390/molecules15117532
- Soriano JM, Font G, Moltó JC, Mañes J. 2002. Enterotoxigenic staphylococci and their toxins in restaurant foods. *Trends in Food Science and Technology* **13**: 60–67 DOI: 10.1016/S0924-2244(02)00030-4
 - de Souza EL, de Barros JC, da Conceição ML, Neto NJG, da Costa ACV. 2009. Combined application of *Origanum vulgare* l. essential oil and acetic acid for controlling the growth of *Staphylococcus aureus* in foods. *Brazilian Journal of Microbiology* **40**: 387–393 DOI: 10.1590/s1517-83822009000200032
 - Stefanakis MK, Touloupakis E, Anastasopoulos E, Ghanotakis D, Katerinopoulos HE, Makridis P. 2013. Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum*. *Food Control* **34**: 539–546 DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.05.024
 - Stratakos AC, Koidis A. 2015. *Methods for extracting essential oils*. Elsevier Inc. DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3
 - Swamy MK, Akhtar MS, Sinniah UR. 2016. Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM* **2016** DOI: 10.1155/2016/3012462
 - Tellez L. 2017. Caracterización de los aceites esenciales de seis ecotipos de orégano (*Origanum vulgare* spp.) procedentes del valle de urubamba - CUSCO; PERÚ
 - Tellez LA, Nolzco DM. 2017. Study on chemical composition of the oregano essential oil (*Origanum vulgare* spp.) from Tacna. *Ingeniería Industrial* **35**: 195–205
 - Uddin J, Hossain K, Hossain S, Saha K, Jubya FT, Haque R, Billah B, Talukder AA, Parvez AK, Dey SK. 2019. Bacteriological assessments of foodborne pathogens in poultry meat at different super shops in dhaka, bangladesh. *Italian Journal of Food Safety* **8**: 15–20 DOI: 10.4081/ijfs.2019.6720

- Ultee A, Bennik MHJ, Moezelaar R. 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology* **68**: 1561–1568 DOI: 10.1128/AEM.68.4.1561-1568.2002
- Valero A, Pérez-Rodríguez F, Carrasco E, Fuentes-Alventosa JM, García-Gimeno RM, Zurera G. 2009. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. *International Journal of Food Microbiology* **133**: 186–194 DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.05.023
- Valero M, Salmerón MC. 2003. Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth. *International Journal of Food Microbiology* **85**: 73–81 DOI: 10.1016/S0168-1605(02)00484-1
- Villalobos K. 2018. “CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LOS PRINCIPALES ECOTIPOS DE ‘OREGANO’ (*Origanum* sp.) EN LA REGIÓN TACNA”. UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA FACULTAD.
- Walsh C, Fanning S. 2008. Antimicrobial Resistance in Foodborne Pathogens - A Cause for Concern? *Current Drug Targets* **9**: 808–815 DOI: 10.2174/138945008785747761
- Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, Van Leeuwen W, Van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL. 2005. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infectious Diseases* **5**: 751–762 DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70295-4
- Wińska K, Mączka W, Łyczko J, Grabarczyk M, Czubaszek A, Szumny A. 2019. Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative? *Molecules* **24**: 1–21 DOI: 10.3390/molecules24112130

VIII. ANEXOS

Anexo 1



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 44-USM-2018

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

La muestra vegetal (rama con hojas), recibida por **Juan Antonio ARELANO LEANDRO**; de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Origanum vulgare* L.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

GENERO: *Origanum*


ESPECIE: *Origanum vulgare* L.

Nombre vulgar: "Orégano"

Determinado por: Bigo. Severo Matías Baldeón Malpartida

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

Lima, 12 de febrero de 2018


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



ACE/yhr.

Av. Amado 1256, Jesús María
Apdo. 14-0034, Lima 14, Perú

Teléfono:
619-7000 áreas 5701, 5702, 5704

E-mail: manh@unmsm.edu.pe
<http://manh.unmsm.edu.pe>

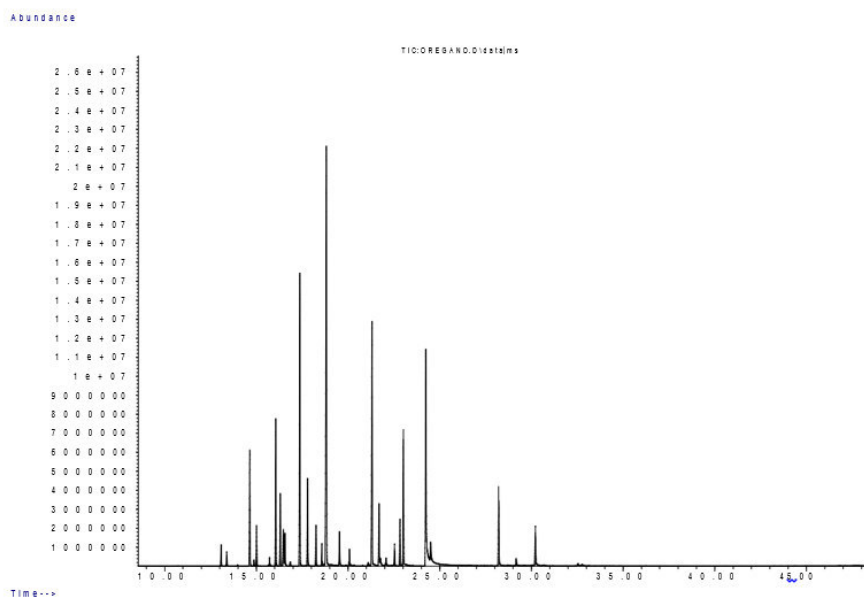
Anexo 2

Composición del aceite de orégano

La composición se analizó previamente en otro estudio, por medio de la técnica de cromatografía de gases y se identificó 31 compuestos que comprenden el 100 % de la composición total del aceite esencial.

Número	Nombre del compuesto	% en la muestra	Tiempo retención (min)
1	α -Tujeno	0.77	13.08
2	α -Pineno	0.52	13.38
3	Sabineno	4.44	14.64
4	β -Pineno	0.23	14.87
5	β -Mirceno	1.44	15.01
6	α -Felandreno	0.32	15.72
7	α -Terpineno	5.57	16.06
8	<i>o</i> -Cimeno	2.73	16.3
9	1-metil-5-(1-metiletenil)-Ciclohexeno	1.98	16.47
10	β -Felandreno	1.27	16.56
11	β - <i>cis</i> -Ocimeno	0.16	16.85
12	γ -Terpineno	11.8	17.37
13	Desconocido (C ₁₀ H ₁₈ O)	3.46	17.79
14	1-metil-4-(1-metiletiliden)-Ciclohexeno	1.57	18.25
15	β -Linalool	0.81	18.57
16	<i>Cis</i> - β -Terpineol	20.68	18.82
17	<i>Trans</i> -1-metil-4-(1-metiletil)-2-Ciclohexen-1-ol	1.39	19.53
18	<i>Cis</i> -1-metil-4-(1-metiletil)-2-Ciclohexen-1-ol	0.65	20.07
19	Borneol	0.16	21.1
20	L-4-terpineol	10.09	21.3
21	α -Terpineol	2.5	21.69
22	<i>trans</i> -Piperitol	0.37	21.76
23	<i>cis</i> -Piperitol	0.35	22.07
24	Timol metil éter	0.85	22.53
25	1-metoxi-4-metil-1-(1-metiletil)-Benceno	1.77	22.83
26	3,7-dimetil-2-aminobenzoate 1,6-Octadien-3-ol	5.05	23.02
27	Timol	11.9	24.24
28	Carvacrol	1.7	24.51
29	β -Cariofileno	3.31	28.21
30	α -Cariofileno	0.3	29.17
31	γ -Elemeno	1.86	30.22

Cromatograma GC-MS del aceite esencial de Orégano



Condiciones cromatográficas para el aceite esencial de orégano:

Equipo: Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.

Columna: J&W 122-1545.67659 DB-5ms, 325 °C: 60 m x 250 µm x 0.25 µm

Rampa de temperatura: Empieza en 40 °C y sube a 5 °C/min hasta 180 °C; 2.5 °C/min hasta 200 °C por 5 min y finalmente 10 °C/min hasta 300 °C manteniéndose por 3 minutos.

Tiempo de corrida: 54 min Volumen de Inyección: 1 µL Split: 80:1

Gas portador: He, 1 mL/min

Muestra: Se diluyó 20 µL de muestra en 1 mL de diclorometano