

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro*  
DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*)  
Y LA AMOXICILINA DE 500 MG FRENTE AL *Streptococcus*  
*pyogenes* ATCC 19615, TACNA 2016

TESIS

Presentada por:

Bach. Manyela Esther Mamani Choque

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

TACNA - PERÚ  
2017

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencia de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

“COMPARACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL  
ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) Y LA  
AMOXICILINA DE 500 MG FRENTE AL *Streptococcus*  
*pyogenes* ATCC 19615, TACNA 2016”

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. MANYELA ESTHER MAMANI CHOQUE

Para optar el Título Profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

Aprobado por:....., ante el siguiente jurado:



Q.F. Edgard Guido Calderón Copa

Presidente



Q.F. Orlando Agustín Rivera Benavente

Miembro



Dr. Juan José Evaristo Changllo Roas

Miembro



Mgr. Yemile del Carmen Berrios Espejo

Asesora

## DEDICATORIA

*A mis padres, Adolfo y Lucila, que siempre me apoyaron, con sus consejos, su comprensión. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi empeño, mi perseverancia para seguir adelante en los momentos más difíciles.*

*A mi hermano, Kennerth por estar a mi lado haciéndome reír en los momentos que más lo necesitaba.*

*A mis abuelitos; Tiburcio, Victoria, Francisco y Juana, gracias por brindarme sus consejos.*

## AGRADECIMIENTO

- *A Dios, por brindarme la vida, por guiarme por el buen camino, y darme fuerzas para no desmayar cuando se presentaban los problemas.*
  
- *A mi asesora, Mgr. Yemile del Carmen Berríos Espejo, por su apoyo, valiosa asesoría y consejos brindados en la realización del presente trabajo.*
  
- *Al Prof. Alfredo Gualberto Quispe Rivera, por brindarme su apoyo y paciencia, en la extracción del aceite esencial.*
  
- *A la Dra. Rosario Zegarra Vda. de Chávez, por tiempo brindado en la identificación de mi planta en estudio.*

## ÍNDICE

PÁGINA DEL JURADO .....	i
DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTOS .....	iii
CONTENIDO .....	iv
ÍNDICE DE TABLAS .....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
RESUMEN .....	xiii
ABSTRACT .....	xv
INTRODUCCIÓN .....	01
<b>CAPÍTULO I : PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN</b>	
1.1. Descripción del Problema .....	04
1.2. Formulación del Problema .....	06
1.2.1. Problema Principal .....	06
1.2.2. Problemas Específicos .....	06
1.3. Justificación del problema .....	07
1.4. Alcances y Limitaciones .....	09
1.5. Objetivos .....	10
1.5.1. Objetivo General .....	10
1.5.2. Objetivos Específico .....	10
1.6. Hipótesis .....	11
1.6.1. Hipótesis General.....	11

1.6.2. Hipótesis Específicas .....	12
1.7. Variables .....	12
1.7.1. Variable 01 .....	12
1.7.2. Variable 02 .....	13
1.7.3. Variable Interviniente .....	13
1.7.4. Operacionalización de las Variables .....	14

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del Estudio .....	16
2.2. Bases Teóricas .....	23
2.2.1. Orégano .....	23
2.2.1.1. Hábitat y distribución geográfica .....	23
2.2.1.2. Descripción general .....	24
2.2.1.3. Clasificación Taxonómica .....	25
2.2.1.4. Composición Química .....	26
2.2.1.5. Propiedades terapéuticas .....	27
2.2.1.6. Toxicología del Orégano .....	31
2.2.2. Aceite esencial .....	32
2.2.2.1. Definición .....	32
2.2.2.2. Características físicas del Aceite esencial de Orégano .....	33
2.2.2.3. Características Químicas del Aceite Esencial de Orégano .....	34
2.2.2.4. Métodos de extracción de Aceites esenciales .....	36
2.2.2.5. Aplicaciones de los Aceites esenciales .....	40
2.2.3. Fármaco patrón: Amoxicilina .....	42
2.2.3.1. Mecanismo de acción .....	43

2.2.3.2. Farmacocinética .....	44
2.2.3.3. Indicaciones Terapéuticas .....	45
2.2.3.4. Reacciones Adversas .....	46
2.2.3.5. Interacciones .....	47
2.2.4. <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	48
2.2.4.1. Definición .....	48
2.2.4.2. Descripción Taxonómica.....	48
2.2.4.3. Estructura y fisiología .....	49
2.2.4.4. Factores de Virulencia .....	50
2.2.4.5. Epidemiología .....	55
2.2.4.6. Formas Clínicas .....	56
2.2.4.7. Tratamiento .....	64
2.3. Definición de Términos .....	65

### CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

3.1. Tipo y diseño de la Investigación .....	66
3.1.1. Tipo de Investigación .....	66
3.1.2. Diseño de Investigación .....	67
3.1.3. Nivel de Investigación .....	67
3.2. Muestra .....	67
3.3. Técnicas e Instrumentos para la Recolección de Datos .....	68
3.3.1. Materia prima .....	68
3.3.1.1. Recolección .....	68
3.3.1.2. Secado.....	69
3.3.2. Extracción por arrastre de vapor y rendimiento del aceite esencial <i>Origanum vulgare</i> .....	70
3.3.2.1. Determinación de la densidad.....	73

3.3.2.2. Rendimiento de aceite esencial .....	74
3.3.3. Obtención y preparación de cepas bacterianas .....	75
3.3.3.1. Recolección .....	75
3.3.3.2. Activación.....	75
3.3.3.3. <i>Preparación del inóculo</i> .....	76
3.3.4. Determinación de Sensibilidad antibacteriana por el método de disco difusión .....	77
3.3.4.1. Preparación del medio para la prueba de sensibilidad .....	77
3.3.4.2. Inoculación de la bacteria para disco difusión.....	77
3.3.4.3. Aplicación de los discos en placas inoculadas.....	78
3.3.4.4. Incubación .....	83
3.3.4.5. Lectura .....	83
3.4. Materiales y/o Instrumentos .....	84
3.4.1. Materiales .....	84
3.4.2. Instrumentos .....	75
3.4.3. Medios y Reactivos .....	86
3.5. Procesamiento de Datos .....	86
 CAPÍTULO IV: RESULTADOS	
4.1. Resultados .....	88
DISCUSIÓN .....	123
CONCLUSIONES .....	133
RECOMENDACIONES.....	135
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	136
ANEXOS.....	147

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1.- Operacionalización de Variables .....	14
Tabla N° 2.- Composición química del aceite esencial de Orégano .....	26
Tabla N° 3.- Grupos funcionales de cada categoría .....	35
Tabla N° 4.- Características organolépticas del Aceite esencial de Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) .....	73
Tabla N° 5.- Concentraciones del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> en los discos.....	80
Tabla N° 6.- Concentraciones del fármaco patrón Amoxicilina 150 mg en los discos .....	82
Tabla N° 7.- Prueba de la actividad antibacteriana del aceite esencial de Orégano frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 por el método de difusión del disco (Kirby Bauer) .....	89
Tabla N°8.- Prueba de la actividad antibacteriana del Fármaco patrón amoxicilina frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 por el método de difusión del disco (Kirby Bauer).....	92
Tabla N°9.- Determinación del grado de sensibilidad de <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 a diferentes concentraciones del aceite esencial de Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ).....	94

Tabla N°10.- Determinación del grado de sensibilidad del <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 frente al fármaco patrón Amoxicilina 500 mg .....	97
Tabla N°11.- Análisis de varianza (ANOVA) para comparar la actividad antibacteriana del aceite esencial de Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 .	98
Tabla N°12.- Prueba de Significación de Tukey para la actividad antibacteriana del aceite esencial de Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 .	100
Tabla N°13.- Análisis de varianza (ANOVA) para comparar la actividad antibacteriana de la amoxicilina a través de la variación de promedios de halos de inhibición sobre <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 entre las diferentes concentraciones empleadas.....	102
Tabla N°14.- Prueba de Significación de Tukey para la actividad antibacteriana de la amoxicilina frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.....	104
Tabla N°15.- Análisis de varianza de la Comparación del Efecto antibacteriano del Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) y de la Amoxicilina de 500mg a distintas concentraciones frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 .....	105

Tabla N°16.- Prueba de Significación de Tukey en Comparación del Efecto antibacteriano del Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) y de la Amoxicilina de 500mg a distintas concentraciones frente al <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615 .....	107
Tabla N°17.- Comparaciones múltiples del Efecto antibacteriano del Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) y de la Amoxicilina de 500mg a distintas concentraciones frente al <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615 .....	109

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1.- <i>Origanum vulgare</i> L. ....	23
Figura N°2.- Estructura de los derivados Fenólicos del aceite esencial <i>Origanum vulgare</i> L.....	27
Figura N°3.- Estructura química de la Amoxicilina .....	43
Figura N°4.- Distribución del promedio de halos de inhibición en base a las concentraciones del aceite esencial de Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) frente al <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615 ....	91
Figura N°5.- Distribución del promedio de halos de inhibición en base a las concentraciones de la amoxicilina frente al <i>S.</i> <i>pyogenes</i> ATCC 19615.....	93
Figura N°6.- Inhibición del aceite esencial orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) en base a las concentraciones dadas frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 .....	96
Figura N°7.- Comparación a la inhibición del aceite esencial Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> ) y la amoxicilina de 500mg en base a las concentraciones dadas frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 .....	122

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1 .....	148
Anexo N° 2 .....	149
Anexo N° 3 .....	150
Anexo N° 4 .....	151
Anexo N° 5 .....	151
Anexo N° 6 .....	152
Anexo N° 7 .....	154
Anexo N° 8 .....	157
Anexo N° 9 .....	160
Anexo N°10 .....	161
Anexo N°11 .....	162
Anexo N°12 .....	164

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación es comparar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) y la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Se obtuvo el aceite esencial de la hojas de Orégano (*Origanum vulgare*) mediante la destilación por arrastre de vapor. La actividad antimicrobiana del aceite esencial de Orégano y la Amoxicilina de 500 mg se realizó por el Método Difusión en disco (Kirby bauer), donde se conoció el grado de sensibilidad en función al tamaño del halo de inhibición.

Se evidenció que el aceite esencial de Orégano presenta actividad antibacteriana frente *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 con concentraciones de 3,6428 mg/mL (13,69 mm) hasta 17,3033 mg/mL (33,13 mm), además se comprobó la actividad antibacteriana de la amoxicilina frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 con concentraciones de 4,5 mg/mL (9,2 mm) hasta 11,5 mg/mL (12 mm); en comparación presentan diferencia significativa entre las medias de los tratamientos, debido a que su significancia es menor que 0,05. En conclusión el aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) presenta una mayor actividad antibacteriana en comparación con la amoxicilina de 500mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

**Palabras clave:** Aceite esencial, *Origanum vulgare*, *Streptococcus pyogenes*, halo de inhibición.

## Abstract

The objective of the present investigation is to compare the *in vitro* antibacterial activity of Oregano essential oil (*Origanum vulgare*) and Amoxicillin 500 mg against *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. The essential oil of the leaves of Oregano (*Origanum vulgare*) was obtained by steam distillation. The antimicrobial activity of Oregano essential oil and amoxicillin 500 mg was performed by the Disk diffusion method (*Kirby bauer*), where the degree of sensitivity in function to the size of inhibition halo was known.

It was evidenced that the essential oil of Oregano presents antibacterial activity against *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 with concentrations of 3,6428 mg / mL (13,69 mm) up to 17,3033 mg / mL (33,13 mm), in addition it was verified the Antibacterial activity of amoxicillin against *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 with concentrations from 4,5 mg / mL (9.2 mm) to 11,5 mg / mL (12 mm); in comparison, there is a significant difference between the means of the treatments, since their Statistical significance is less than 0,05. In conclusion the essential oil of Oregano (*Origanum vulgare*) presents a greater antibacterial activity compared to amoxicillin of 500mg against *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

**Key words:** Essential oil, *Origanum vulgare*, *Streptococcus pyogenes*, inhibition halo.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales son ampliamente conocidas en la utilización empírica como agentes de la salud en múltiples culturas del mundo transmitidas a través de generaciones <sup>(1)</sup> ; debido a esto la Organización Mundial de la Salud (OMS) crea una estrategia de la medicina tradicional y complementaria reconociendo su utilización en casi todos los países <sup>(2)</sup>.

La flora peruana comprende alrededor de 25,000 especies, que se distribuyen en los distintos pisos ecológicos. Una parte importante de la flora se desarrolla en los valles interandinos del Perú, en los que pueden habitar hasta los 4,500 msnm. En estas zonas, debido a la alta radiación solar y bajas temperaturas a las que están expuestas, las plantas han desarrollado defensas químicas específicas que les otorgan ventajas para la adaptación a su hábitat, por eso ciertas plantas poseen acción terapéutica <sup>(3)</sup>.

En Tacna, una de las plantas que más se cultiva es el orégano siendo así distribuidos a los mercados nacionales y extranjeros. Es producido a gran escala, cosechado, desecado y distribuido, se utiliza en

la preparación de alimentos como aromatizante. Las hojas y sumidades floridas se aplican en el campo farmacéutico debido a las propiedades tónicas, amargo-excitantes, antisépticas, diuréticas y antiespasmódicas <sup>(4)</sup>.

La resistencia a los fármacos antibacterianos tiene particular importancia en América Latina. Aun cuando la penicilina es el antibiótico de elección para el tratamiento de las infecciones, la eritromicina o alguno de los nuevos macrólidos es la elección de segunda línea y de preferencia en pacientes con hipersensibilidad a la penicilina <sup>(5)</sup>. Últimamente se ha visto la utilización de antibióticos de amplio espectro, es decir aquellos que son activos a la vez contra múltiples bacterias, puede favorecer también la aparición de resistencias a múltiples familias de antibiótico a esta conclusión han llegado investigadores del Laboratorio de Antibióticos del Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) <sup>(6)</sup>.

Una de las principales causas de morbilidad en el Perú se debe a las enfermedades infecto-contagiosas, teniendo como grupo de morbilidad más frecuente a las “Infecciones Respiratorias Agudas” (IRAs), en segundo lugar a Infecciones del aparato gastrointestinal. Las IRAs más frecuentes son aquellas que afectan las vías respiratorias altas (Faringitis aguda, amigdalitis aguda y otras infecciones agudas), seguida de aquellas que

afectan las vías respiratorias bajas (Bronquitis aguda y Bronquiolitis aguda) <sup>(7)</sup>.

Es por eso que se reconoce al *Streptococcus pyogenes* (Streptococcus beta hemolítico grupo A ) como el principal agente etiológico bacteriano de la faringitis bacteriana, pudiendo ocasionar en la población infantil una infección aguda sin complicación, una epidemia o desencadenar una complicación tardía <sup>(8)</sup>.

La finalidad en la presente investigación como profesionales de la salud, es encontrar una alternativa natural para la población que ayude a prevenir la diferentes patologías que produce esta bacteria conociendo el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) y comparándolo con la amoxicilina de 500 mg frente a la bacteria patógena *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, contribuyendo a que se tenga referencia para proyectos en el campo farmacéutico para el uso adecuado de plantas medicinales. El presente trabajo fue dividido en capítulos, el primero trata del planteamiento de la investigación, el segundo desarrolla el marco teórico, el tercero comprende la metodología empleada y el cuarto describe resultados y discusión. Finalmente se muestran las conclusiones y recomendaciones.

## **CAPÍTULO I**

### **PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA**

En la actualidad las infecciones respiratorias agudas constituyen la primera causa de consultas médicas y de morbilidad, tanto en los países desarrollados como en los países en vías de desarrollo. A pesar que las infecciones respiratorias agudas bajas concentran habitualmente la atención por su mayor complejidad, costo del tratamiento y complicaciones, son las altas las que se presentan en mayor número en la consulta ambulatoria <sup>(9)</sup> .

En el Perú, el grupo de morbilidad más frecuente, según el registro de las atenciones realizadas en los establecimientos del Ministerio de Salud (MINSA), son las Infecciones agudas de vías respiratorias superiores, responsable del 16,7 % de las atenciones, el cual incluyó a los grupos diagnosticados con faringitis agudas,

amigdalitis agudas donde la mayoría lo causa el *Streptococcus pyogenes* <sup>(10)</sup>.

Según la tasa de morbilidad de Salud en la región Tacna, la mayor incidencia se da con las infecciones agudas de las vías respiratorias superiores que representaron el total de 16,7 % siendo esta la causa mayor en infantes y niños <sup>(10)</sup>.

Actualmente ha habido un aumento en el consumo de antibióticos en niños, este no es un caso ajeno en el Perú; en un estudio realizado por Ecker et al, encontraron que médicos generales que atienden en centros de salud de primer nivel de tres redes de salud de Lima recomendaron en un 15,6 % antibióticos para tratar resfríos, especialmente amoxicilina, en los casos específicos como faringitis el 86,2 % de médicos los trataron con antibióticos pudiendo crear una farmacorresistencia <sup>(11)</sup>.

Por lo expresado anteriormente y con el fin de paliar esta problemática, la presente investigación está enfocada en la comparación de la Actividad antibacteriana de la amoxicilina de 500 mg frente al aceite esencial de *O. vulgare* como un tratamiento

alternativo por el bajo costo y por la actividad que demuestra en el presente trabajo.

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

### **1.2.1. Problema Principal**

¿Existe diferencia entre la actividad antibacteriana *in vitro* del Orégano (*Origanum vulgare*) y la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?

### **1.2.2. Problemas Específicos**

1. ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del Orégano (*Origanum vulgare*) frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?
2. ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* de la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?

3. ¿Existe diferencia estadísticamente significativa entre la actividad antibacteriana *in vitro* del Orégano (*Origanum vulgare*) y la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615?

### 1.3. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

La resistencia antimicrobiana plantea una amenaza cada vez mayor para la salud pública a nivel mundial, que afecta a todos los grupos poblacionales siendo más preocupante cuando se trata de la población infantil. Esto surge en un momento en que la Industria Farmacéutica elabora muy pocos medicamentos nuevos para reemplazar los que han desarrollado resistencia, la generación de medicamentos nuevos se está estancando y son pocos los incentivos para elaborar antimicrobianos nuevos que permitan combatir los problemas mundiales de la farmacoresistencia <sup>(12)</sup>.

Las plantas medicinales son importantes, debido al alto coste de los medicamentos sintéticos o la falta de acceso a estos agentes quimioterapéuticos a una gran parte de la población. Es por esto que cada vez los pacientes prefieren los productos de origen

natural, principalmente porque estos presentan menos efectos colaterales a comparación de los medicamentos sintéticos <sup>(13)</sup>.

El interés de las enfermedades respiratorias agudas superiores se debe a que los datos proporcionados por la Dirección General de Salud de las Personas (DGSP) del Ministerio de Salud del Perú, habla acerca de la Infección Respiratoria Aguda donde constituye un importante problema de salud pública ya que ocupa en el país el primer lugar dentro de las causas de morbilidad general y la atención médica de estos casos se da especialmente en los recién nacidos. En el Perú, se estima que el 75 % de consultas en los servicios de los establecimientos de salud para atender enfermedades infecciosas, corresponden a problemas respiratorios agudos <sup>(14)</sup>.

Una de las bacterias que provocan las IRAs es el ***Streptococcus pyogenes***, siendo el medicamento de primera elección y el más utilizado frente a este patógeno la Amoxicilina de 500 mg, sin embargo, en las últimas décadas estamos creando resistencia bacteriana por el abuso de los antibióticos, por ello este trabajo de investigación se basa en demostrar la actividad

antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *O. vulgare* como una nueva alternativa natural para combatir a este patógeno, además se comparó con la Amoxicilina de 500 mg puesto que este medicamento es el más recomendado.

#### **1.4. ALCANCES Y LIMITACIONES**

##### **1.2.2. Alcances**

- Los resultados del presente estudio servirán como precedente para futuros estudios en microbiología, en la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann.

##### **1.2.2. Limitaciones**

- Dependiendo de la zona donde ha sido cultivada el *O. vulgare* ya sea en clima cálido o frío y además si la planta ha sido expuesta al sol, está variaría su

cantidad de aceite esencial extraída de las hojas y tallos.

- La manipulación de la cepa ***Streptococcus pyogenes*** podría resultar peligrosa siendo esta un patógeno de peligro en el Nivel 2.

## 1.5. OBJETIVOS

### 1.5.1. Objetivo General

Comparar la Actividad antibacteriana *in vitro* del Orégano (*Origanum vulgare*) y la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

### 1.5.2. Objetivos Específicos

1. Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del Orégano (*Origanum vulgare*) frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

2. Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615
  
3. Determinar si la diferencia en la Actividad Antibacteriana *in vitro* es estadísticamente significativa entre el Aceite esencial del Orégano (*Origanum vulgare*) y la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

## **1.6. HIPÓTESIS**

### **1.6.1. Hipótesis General**

Existe diferencia entre la actividad antibacteriana *in vitro* del Orégano (*Origanum vulgare*) y la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

### 1.6.2. Hipótesis Específicas

1. La actividad antibacteriana *in vitro* del Orégano (*Origanum vulgare*) frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 presenta grado de sensibilidad.
2. La actividad antibacteriana *in vitro* de la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 presenta grado de sensibilidad.
3. Existe diferencia estadísticamente significativa entre la actividad antibacteriana *in vitro* del Orégano (*Origanum vulgare*) y la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

### 1.7. VARIABLES

#### 1.7.1. Variable 01

- Actividad Antibacteriana del Aceite esencial de *O. vulgare*.

### **1.7.2. Variable 02:**

- Actividad Antibacteriana de la Amoxicilina de 500 mg.

### **1.7.3. Variable Interviniente:**

- Efecto sobre el agente bacteriano: *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

#### 1.7.4. Operacionalización de las Variables

Tabla N° 1: Operacionalización de Variables

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA
<b>VARIABLE 01:</b> <b>Actividad antibacteriana del aceite esencial de Orégano (<i>Origanum Vulgare</i>)</b>	Es la inhibición en el crecimiento de bacterias ( <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615) por parte del Aceite esencial de Orégano ( <i>Origanum vulgare</i> )	Formación del halo de inhibición por parte del aceite esencial de Orégano.	Escala de Duraffourd	Nula (-) : $\leq$ a 8 mm Sensible (+) : 9-14 mm Muy Sensible (++) : 15-19mm S. sensible (+++) : $\geq$ a 20mm	Ordinal
<b>VARIABLE 02:</b> <b>Actividad antibacteriana de la Amoxicilina de 500 mg</b>	Inhibición del crecimiento de la bacterias ( <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615) por medio de la Amoxicilina de 500 mg.	Formación del halo de inhibición por medio de la amoxicilina de 500 mg.	Escala de Duraffourd	Nula (-) : $\leq$ a 8 mm Sensible (+) : 9-14 mm Muy Sensible (++) : 15-19mm S. sensible (+++) : $\geq$ a 20mm	Ordinal

Tabla N°1: Operacionalización de Variables

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADOR	ESCALA
<p><b>VARIABLE INTERVINIENTE:</b></p> <p>Cepa de estudio:  <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615</p>	<p>Bacteria Gram positiva, con cadena de cocos, su crecimiento es en agar sangre enriquecida y realiza beta-hemólisis.</p>	<p>Activación de la Cepa, una vez pasado las 48 h de la incubación, presenta colonias blancas de 1 mm a 2 mm.</p>	<p>Cualitativa</p>	<p>Crecimiento Bacteriano de la Cepa:  <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615</p>	<p>Nominal</p>

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

##### 2.1.1. Antecedentes Internacionales

Medeiros A, et al, estudiaron el efecto inhibitorio de eugenol,  $\beta$ -pineno y  $\alpha$ -pineno sobre el crecimiento de bacterias Gram-positivas potencialmente causadoras de endocarditis infecciosa en Brasil, 2007 <sup>(15)</sup>. Las cepas que se utilizaron en este estudio fueron *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. pyogenes* ATCC 19615 y *S. pyogenes* ATCC 8668 presentado en el caso de *S. pyogenes* ATCC 19615 una CMI de eugenol,  $\beta$ -pineno y  $\alpha$ -pineno de 5  $\mu$ l/mL, 20  $\mu$ l/mL y 5  $\mu$ l/mL respectivamente y en el caso de *S. pyogenes* ATCC 8668 una CMI de eugenol,  $\beta$ -pineno y  $\alpha$ -pineno de 5  $\mu$ l/mL, 20  $\mu$ l/mL y 10  $\mu$ l/mL esta fueron comparadas frente a la Penicilina y Gentamicina cada una con

10 µg/mL, siendo sensible frente a la Penicilina pero en el caso de la Gentamicina resultaron resistentes, esta investigación se realizó por el método de microdilución.

Dikbas N, et al, ejecutaron el estudio denominado; Actividad antibacteriana de diferentes aceites esenciales en correlación con sus principales componentes frente a bacterias gram positivas y gram negativas en Turquía, 2009<sup>(16)</sup>. En este estudio trabajaron con 5 plantas medicinales; *Origanum acutidens*, *Satureja hortensis* L., *Origanum rotundifolium*, *Thymus sipyleus* ssp. *rosulans*, *Thymus haussknechtii* frente a 6 cepas patógenas: *P. aeruginosa* ATCC 9027, *S. aureus* ATCC 29213, *S. enteritidis* ATCC 13076, *B. subtilis* ATCC 6633, *Streptococcus pyogenes* ATCC 176 y *E. faecalis* ATCC 29122 cada placa se inoculó con 10 µl de aceite esencial; en el caso del *Origanum acutidens* presento mayor cantidad de carvacrol con un 87 % presentando un halo de inhibición frente al *S.pyogenes* de 27,0 mm y en cuanto al *Origanum rotundifolium* presento 64,6 % de carvacrol presentando un halo de inhibición frente al *S.pyogenes* de 21,66 mm. Una vez más podemos afirmar la capacidad de inhibición del *O. vulgare*.

De Martino L, et al, realizaron la Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare L.* de tres quimiotipos en Italia, 2009 <sup>(17)</sup>. Los tres quimiotipos se obtuvieron de diferentes localidades, y utilizaron 10 diferentes cepas patógenas dentro de las cuales una de ellas era gram positivo siendo el *Streptococcus faecalis* ATCC 29212 presentando las CMI de 50 µg/mL, 50 µg/mL y 100 µg/mL, de las localidades de Furore, Sanza y San Giovanni a Piro respectivamente, concluyendo que el aceite esencial de Orégano si presenta actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas.

Özkalp B, et al, realizaron la presente investigación acerca de la Actividad antibacteriana del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare L.*) frente a 21 bacterias patógenas en Turquía 2010 <sup>(18)</sup>. Por el método de microdilución de las cuales las cepas más susceptibles fueron *Micrococcus luteus* y *Bacillus cereus*, teniendo una CMI de 16 µg/mL y 32 µg/mL respectivamente, en cuanto al *Streptococcus pyogenes* se obtuvo una CMI de 64 µg/mL comprobando el efecto

antibacteriano del Orégano (*Origanum vulgare*) frente a diferentes microorganismos.

Guerra L, investigó la Actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional en México, 2011 <sup>(19)</sup>. La evaluación se realizó con las correspondientes aceites esenciales: *Magnolia grandiflora*, *Thymus vulgaris*, *Chrysactinia mexicana*, *Schinus molle*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Schinus molle* estos aceites esenciales se utilizaron contra diferentes bacterias dentro de la cuales uno de ellos fue *Streptococcus pyogenes* aislado clínicamente donde se obtuvo su CMI por el método de microdilución y presentó frente al *Origanum majorana* una CMI de 125 µg/mL dando un porcentaje de Carvacrol de 4,55 % y un porcentaje de timol de 24,64 %, demostrando una vez más la actividad antibacteriana del Orégano.

Sfeir J, et al, evaluaron la Actividad antibacteriana *in vitro* de 18 aceites esenciales frente al *Streptococcus pyogenes* en Francia, 2013 <sup>(20)</sup>. Demostraron la actividad antibacteriana

de diferentes aceites esenciales, dos de los cuales fueron *Origanum compactum* y *Origanum majorana*, donde la obtención de la bacteria patógena se realizó clínicamente de un niño con faringitis; resultando el *Origanum compactum* con un mayor porcentaje de compuestos fenólicos como el carvacrol 41,8 % y timol 16,2 % obteniendo un halo de inhibición de 35 a 48 mm y en cuanto al *Origanum majorana* presentó en mayor cantidad los alcoholes terpenicos en 29,2 % obteniéndose un halo de inhibición de 9 a 13 mm; esto nos indica que la inhibición del orégano depende de su composición química.

Magi G, Marini E, y Facinelli B, efectuaron el estudio de la actividad antimicrobiana de diferentes aceites esenciales, carvacrol y la sinergia de carvacrol con eritromicina frente a un grupo clínico resistente a la faringoamigdalitis en Italia 2015 <sup>(21)</sup>. Donde aislaron la bacteria patógena de un grupo de niños con faringoamigdalitis, en este caso los aceites esenciales utilizados fueron *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita* y *Melaleuca alternifolia*, de los cuales el aceite esencial de Orégano y Tomillo tuvieron la menor CMI siendo 256 µg/mL y 512 µg/mL *Origanum*

*vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita*, y *Melaleuca alternifolia*, de las cuales el aceite esencial de orégano y tomillo tuvieron la menor CMI siendo 256 µg/mL y 512 µg/mL respectivamente mientras en el caso del carvacrol se obtuvo frente al *Streptococcus pyogenes* una CMI entre 64 a 256 µg/mL y la sinergia que se efectuó entre el carvacrol y la eritromicina obtuvo una CMI entre 2 a 16 µg/mL, realizado por el método de microdilución, podemos afirmar una vez más que el Orégano presenta una actividad antibacteriana frente a la cepa *Streptococcus pyogenes*.

### 2.1.1. Antecedentes Nacionales

Albado E, et al, realizaron la Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano) en Perú 2001 <sup>(22)</sup> . Donde determinaron el contenido de Carvacrol en 9 %, de Terpeneol en 12,19 %, de P-cimeno en 6,86 % frente a diferentes cepas patógenas como: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P), *Bacillus cereus*, *Vibrio cholerae* (ATCC 14033), *E.coli* (ATCC 25923), *Salmonella cholerae* (ATCC 14028) *Salmonella tiphymurium*

(aislado) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) de las cuales la que presento mayor medida de halo fue el *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P) con 29 mm y la que presento el menor halo fue *Vibrio cholerae* (ATCC 14033) con 15 mm mientras que la *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) presento resistencia, concluyendo que el aceite esencial de Orégano cultivado en Perú es directamente proporcional a su composición química y además este es efectivo contra bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Zárate M, investigó el Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* "Tara" sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo en Perú, 2014 <sup>(23)</sup>. Donde se obtuvo un promedio de Halos de 17 mm frente al *Streptococcus pyogenes*; y además se comparó frente a la Amoxicilina obteniendo un promedio de Halos de 13 mm. Concluyendo que la Amoxicilina presento un halo menor en comparación con la Tara.

## 2.2. BASES TEÓRICAS

### 2.2.1 Orégano



Figura N° 1: *Origanum vulgare* L.

Fuente: Richard Lyons Nursery, *Herbs for summer heat*, fotografía, 2013.

#### 2.2.1.1. Hábitat y distribución geográfica:

Crece de forma espontánea en buena parte de Europa, centro y norte de Asia, actualmente se cultiva en todo el mundo <sup>(24)</sup>. El orégano es una planta con gran tolerancia para sobrevivir en diferentes condiciones ambientales, tiene la capacidad de resistir bien las heladas, pero en general las temperaturas menores a los 5 °C afectan el crecimiento del cultivo, retrasándolo y quemando los bordes de las hojas. Su desarrollo no

tiene grandes restricciones en cuanto a la altitud ya que crece entre los 1500 a 3000 msnm, pero prefiere zonas con una alta luminosidad. El clima más recomendado para el crecimiento de esta planta es el clima templado o templado cálido. Tiene éxito en casi todos los tipos de suelo ricos en materia orgánica como suelos franco-arenoso, los arcillo-arenosos y los francos, que sean permeables y con buen drenaje, de preferencia no salinos; en los suelos arcillosos la longevidad se reduce <sup>(25)</sup>.

#### **2.2.1.2. Descripción general:**

El *O. vulgare* es una planta vivaz, con rizoma rastrero, de tallos erguidos, vellosos, generalmente ramificado en su parte superior, de color rojizos, estos alcanzan alturas del orden de los 40 cm. Hojas de 1 a 4 cm, ovales, enteras, puntiagudas, lampiñas por el haz y vellosas por su envés, pecioladas. Las flores, reunidas en glomérulos densos dispuestos en panojas terminales, las espiguillas de cinco a 30 mm; las brácteas más largas

que el cáliz, pero sin duplicar su longitud, de 4 a 5 mm, son violáceas; cáliz tubuloso, con los siete dientes casi iguales; corola con tubo erguido, saliente, de 4 a 7 mm de color generalmente rojizo, a veces blancas; de los cuatro estambres, son mayores los anteriores <sup>(26)</sup>.

### 2.2.1.3. Clasificación Taxonómica

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Labiadas

Subfamilia: Nepetoideae

Género: *Origanum*

Especie: *O. Vulgare*

Nombre común: Orégano,

Orenga <sup>(27)</sup>.

#### 2.2.1.4. Composición química

La composición química del aceite esencial de *O. vulgare* presenta compuestos fenólicos como el timol y el carvacrol en una investigación hecha por *Stashenko et al.*,(2010), dividió en tres grupos de orégano presentes en Colombia en relación con la composición de los aceites esenciales <sup>(22)</sup> <sup>(27)</sup>.

Tabla N°2: Composición química del aceite esencial de Orégano

Quimiotipo* A	Quimiotipo* B	Quimiotipo* C
Compuestos terpénicos;	Principales componentes:	Principales componentes:
<ul style="list-style-type: none"><li>• Monoterpenos (45 %)</li><li>• Sesquiterpenos (27 %)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Carvacrol (40 %)</li><li>• p-cimeno (13 %)</li><li>• g-terpineno (11 %)</li><li>• Timol (11 %)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Timol (56 %)</li><li>• p-cimeno (9 %)</li><li>• g- terpineno (5 %)</li></ul>

Fuente : *Stashenko et al.*,(2010).

\*Quimiotipo: Variación en la composición del aceite esencial, incluso dentro de la misma especie

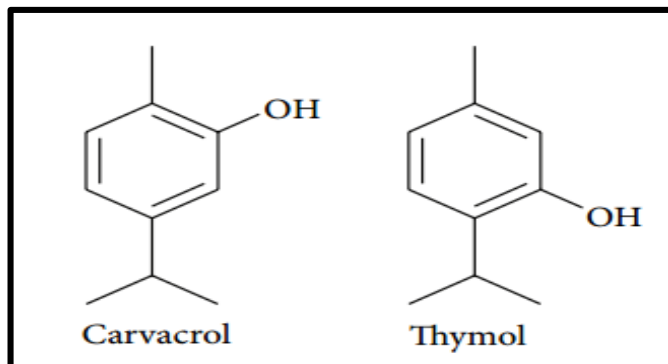


Figura N° 2 Estructura de los derivados Fenólicos del aceite esencial *Origanum vulgare L.*

Fuente: Alvarenga B., D., Scielo Brasil, 2010.

### 2.2.1.5. Propiedades Terapéuticas

#### a) Actividad Antibacteriana

Sus propiedades antibacterianas se deben a la presencia de timol y carvacrol. Estos compuestos orgánicos pueden defender el cuerpo contra una amplia gama de bacterias que pueden afectar la piel, el intestino y otras partes del cuerpo. Las pruebas preliminares realizadas en la Universidad de Georgetown sugieren que el aceite de orégano puede competir con la estreptomicina y la penicilina <sup>(28)</sup>.

Existen múltiples estudios sobre la actividad antimicrobiana de los extractos de diferentes tipos de orégano. Se ha encontrado que los aceites esenciales de las especies del género *Origanum* presentan actividad contra bacterias gram negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* y *Enterobacter cloacae*; y las gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis*. Otros microorganismos como *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii biogroup sobria*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica subsp. enterica serotype typhimurium*, *Serratia marcescens* and *Staphylococcus aureus*, se han logrado inhibir gracias a la presencia de extractos de orégano<sup>(29)</sup>.

## **b) Actividad Antioxidante**

El potencial antioxidante de los extractos de orégano ha sido determinado por su capacidad para inhibir la peroxidación lipídica, protegiendo al ADN del daño por radicales hidroxilo, con los métodos de

atrapamiento de peróxido de hidrógeno y por la prueba de la rancidez. En todas estas pruebas, los extractos de orégano han mostrado ser efectivos, en algunos casos a niveles superiores a los exhibidos por el propil galato, butilhidroxitolueno (BHT) y el hidroxibutilanisol (BHA) <sup>(30)</sup>.

Debido a que el orégano contiene timol y ácido rosmarínico que trabajan en el cuerpo para minimizar los efectos destructivos de los radicales libres. Según los investigadores en el Centro de Investigación Agrícola de Beltsville del USDA en Maryland, una cucharada de orégano fresco contiene tanto poder antioxidante como una manzana de tamaño mediano <sup>(31)</sup>.

### **c) Actividad Antifúngica**

Históricamente utilizado como conservante de alimentos, el orégano tiene algunas investigaciones como un antifúngico. El Orégano se ha utilizado

como una preparación interna y externa en el tratamiento de las infecciones por hongos y ha sido probado con éxito en la inhibición del crecimiento de levaduras como *Candida albicans*<sup>(31)</sup>.

#### **d) Actividad Antiparasitaria**

El aceite esencial es considerado un agente efectivo contra la infestación por piojos (*Pediculus humanus corporis* y *Pediculus humanus capitis*) y artrópodos como *Sarcoptes scabiei*; incluso en mayor grado que el bencilbenzoato, la droga más comúnmente empleada contra estos parásitos. Entre los compuestos monoterpénicos volátiles presentes comúnmente en aceites esenciales, es conocida la capacidad del terpineol y del  $\alpha$ - y  $\beta$ -pineno para matar piojos, aunque estos compuestos sólo se encuentran en bajas cantidades en dicho aceite esencial (3 %, 1 % y 4 % respectivamente)<sup>(29)</sup>.

### **e) Otros Usos Medicinales de Orégano**

El orégano se puede utilizar como una ayuda digestiva, ya que fomenta la salivación. Puede calmar las picaduras de abejas y tratar las mordeduras de las arañas como también el veneno de las serpientes. El orégano es también un eficaz analgésico <sup>(31)</sup>.

#### **2.2.1.6. Toxicología del Orégano**

Según Llana Ruiz – Cabello, en su estudio realizado por medio oral de dosis repetidas de 90 días en roedores, fueron expuestos los ratones por vía oral a 50, 100 y 200 mg/kg de peso corporal (OEO) durante 90 días. Los datos no revelaron mortalidad ni efectos adversos relacionados con el tratamiento del Aceite esencial de Orégano en el consumo de alimentos/agua, peso corporal, hematología, bioquímica, necropsia, peso de órganos e histopatología. Estos hallazgos sugieren que el nivel sin efecto observado es de 200 mg/kg de

peso corporal. En ratas Wistar, la dosis más alta probada <sup>(32)</sup>.

Según Anthony C. Dweck en su informe realizado Toxicology of essential oils reviewed investigo que a una dosis de 1850 mg / Kg resultaba ser tóxica provocando anomalías en la conducta del ratón y somnolencia <sup>(33)</sup>.

## **2.2.2 Aceite Esencial**

### **2.2.2.1. Definición**

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias obtenidas de plantas, que presentan como característica principal su compleja composición química y su carácter fuertemente aromático. De los millones de plantas existente en nuestro planeta, se conocen alrededor de 4000 aceites esenciales distintos, aunque evidentemente, no todas las plantas contienen estas

sustancias y las que tienen, presentan una concentración tan baja <sup>(34)</sup>.

Los aceites esenciales generalmente son mezclas complejas de hasta más de 100 componentes que pueden ser: Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos), Monoterpenos, Sesquiterpenos y Fenilpropanos. En su gran mayoría son de olor agradable, aunque existen algunos de olor relativamente desagradable <sup>(35)</sup>.

#### **2.2.2.2. Características físicas del Aceite esencial de Orégano**

Son de aspecto oleoso, altamente volátiles, solubles en aceites, alcohol, éter de petróleo, tetracloruro de carbono y demás solventes orgánicos; insolubles en agua aunque le transmiten su perfume; son inflamables, responsables del aroma, del color y

sabor, a veces dulces o amargos, con densidad generalmente inferior a la del agua <sup>(36)</sup>.

### **2.2.2.3. Características Químicas del Aceite Esencial de Orégano**

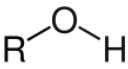
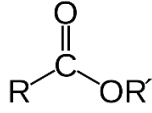
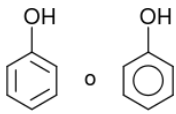
Son generalmente mezclas complejas de constituyentes muy variables que pertenecen, de forma casi exclusiva, al grupo de los terpenos y de los compuestos fenólicos <sup>(37)</sup>. Estos se pueden dividir en No terpenoides y Terpenoides:

**No terpenoides:** En este conjunto tenemos sustancias alifáticas de cadena corta, sustancias aromáticas, sustancias con azufre y sustancias nitrogenadas. No son tan importantes como los terpenoides en cuanto a sus usos y aplicaciones.

**Terpenoides:** Son los más importantes en cuanto a propiedades y comercialmente. Según los grupos funcionales que tengan pueden ser:

- Alcoholes (p-cimeno, eugenol) y fenoles (timol, carvacrol)
- Ésteres (acetato de linalilo).
- Hidrocarburos (limoneno,  $\alpha$  y  $\beta$  pineno) <sup>(38)</sup>.

**Tabla N°3: Grupos funcionales de cada categoría** <sup>(38)</sup>

Compuesto	Grupo Funcional	Ejemplo	Propiedades
Alcohol		Eugenol	Antimicrobiano, antiséptico, tonificante, espasmolítico
Éster		acetato de linalilo	Espasmolítico, Sedante, Antifúngico.
Fenol		Timol, carvacrol,	Antimicrobiano, Irritante, Estimulante inmunológico.
Hidrocarburo	Solo tiene C-H	Pineno, limoneno	Estimulante, descongestionante, antivírico, antitumoral

*Fuente: Adaptado por Paz Arraiza Bermúdez, Publicado en Uso Industrial de Plantas aromáticas y medicinales, (2012), Universidad Politécnica de Madrid.*

#### 2.2.2.4. Métodos de extracción de Aceites esenciales:

**a) Directo:** Comprende la extrusión (comprensión y raspado de cascaras para aceites esenciales cítricos) y exudación (aísla gomorresinas) <sup>(39)</sup>.

#### **b) Destilación**

**Destilación directa:** La destilación implica calentar la planta, colocándola en agua, que es entonces llevada a ebullición. Este se recogerá en un tubo de refrigeración y el aceite al ser no miscible en agua, se separa al condensarse debido a la diferencia de densidades <sup>(40)</sup>.

**Destilación por arrastre de vapor:** Es el método más utilizado y en esta técnica se aprovecha la propiedad que tienen las moléculas de agua en estado de vapor de asociarse con moléculas de aceite. El equipo requiere de un generador de vapor que es un recipiente hermético con una entrada y una

salida de vapor donde se deposita el material de la plantas, un condensador donde el vapor se transforma en líquido nuevamente y se recoge en un recipiente. La extracción se efectúa cuando el vapor por presión entra en contacto con las células de las partes de la planta y las rompe liberando la esencia y atrapándola en las gotas de agua del vapor que luego se condensa en el destilador. El aceite obtenido por este medio es de alta pureza y solo requiere de una redestilación para acabar de eliminar algunas gotas de agua que puedan quedar atrapadas en el aceite <sup>(41)</sup>.

**Destilación con agua y vapor:** En este tipo de destilación el vapor puede ser generado mediante una fuente externa o dentro de la propia cámara extractora, aunque separado del material vegetal, la diferencia radical existente entre este sistema y los anteriormente mencionados es que el material vegetal se encuentra suspendido sobre un tramado (falso fondo) que impide el contacto del material

vegetal con el medio líquido en ebullición, este sistema reduce la capacidad neta de carga de materia prima dentro del extractor pero mejora la calidad del aceite obtenido <sup>(42)</sup>.

### **c) Extracción con solventes**

**Solventes volátiles:** En este método, la muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una esencia impura. Se utiliza a escala de laboratorio pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, pues se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos solventes orgánicos volátiles <sup>(42)</sup>.

**Solventes fijos (Enfleurage):** El enfleurage es una técnica antigua para la extracción de aromas delicados, usada especialmente con pétalos de flores. El principio de enfleurage es que una grasa RBD (Refinada, Blanqueada y Desodorizada) se pone en contacto con material vegetal, generalmente fresco, y se deja en contacto por un determinado espacio de tiempo. Este tiempo depende del material usado y puede ir de unas cuantas horas a un par de días. Después de que se cumple tal tiempo, se remueve el material vegetal y se reemplaza con material fresco. Se repite la operación hasta que la grasa se encuentra saturada, posteriormente la grasa es tratada con algún solvente, en general alcohólicos, para separar el aceite <sup>(43)</sup>.

#### **d) Extracción con fluidos en estados supercrítico**

Para extracción con gases en condiciones supercríticas se deben emplear gases, principalmente CO<sub>2</sub>, a presión y temperatura

superiores a su punto crítico. En esas condiciones se obtienen buenos rendimientos y se evitan alteraciones de los componentes de la esencia. La infraestructura necesaria es cara, pero tiene sus ventajas, como la fácil y rápida eliminación del gas extractor por descompresión, la ausencia de residuos de disolventes y que los gases no resultan caros <sup>(38)</sup>.

#### **2.2.2.5. Aplicaciones de los Aceites esenciales:**

**a) Farmacológicas:** Los aceites esenciales se utilizan en farmacia para la obtención de diversos principios activos (anetol, eugenol) o como excipientes y aromatizantes en la preparación de jarabes, suspensiones, elixires y otras formas farmacéuticas. Asimismo, en la industria de la alimentación, licorería y confitería se suelen utilizar como aromatizantes.

**b) Cosméticas:** En perfumería y cosmética los aceites esenciales son utilizados ampliamente. El empleo en perfumería es muy importante debido,

evidentemente, a las cualidades olfativas de los aceites esenciales. Ello implica que sean incorporados en un sin número de composiciones: desde perfumes para aguas de colonia hasta fragancias para detergentes de ropa. En cuanto a su empleo en cosmética es, asimismo, importante y se basa en las funciones específicas que algunas esencias presentan sobre la piel, además del uso como aromatizante en diferentes preparaciones cosméticas.

**c) Aromaterapéuticas:** En relación directa con los aceites esenciales ha surgido la denominada aromaterapia, que es una disciplina dentro de la medicina natural que emplea básicamente aceites esenciales en sus tratamientos. El término aromaterapia fue utilizado por primera vez por el químico francés *René Maurice Gatefossé*, especializado en los usos cosméticos de las esencias. Una aportación muy importante de la aromaterapia ha sido la profundización y el desarrollo

de los tratamientos antiinfecciosos a partir de aceites esenciales, con los que se obtienen resultados equiparables, en muchos casos, a los de la antibioticoterapia, pero con menos efectos secundarios y poca aparición de resistencias. En este sentido, hay que destacar la técnica del aromagrama, que confirma experimentalmente el poder antibacteriano y fungicida de los aceites esenciales. Este procedimiento es semejante al antibiograma (sistema empleado para definir el poder de un antibiótico), pero se sustituyen los antibióticos por aceites esenciales <sup>(37)</sup>.

### **2.2.3 Fármaco patrón: Amoxicilina**

Es un antibiótico semisintético derivado de la penicilina. Se trata de un amino penicilina. De nombre químico Ácido (2*S*,5*R*, 6*R*)-6-[(*R*)-(-)-2-amino-2-(*p*-hidroxifenil)acetamido]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabicyclo [3.2.0] heptano-2-carboxílico trihidrato [61336-70-7] <sup>(44)</sup>.

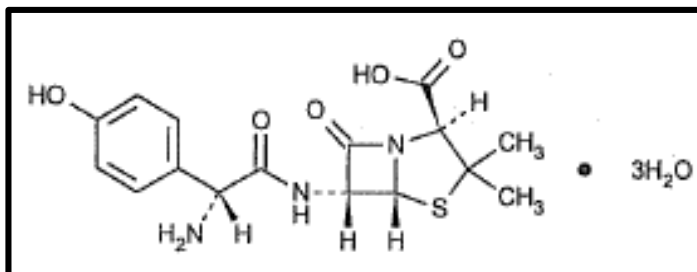


Figura N°3: Estructura química de la Amoxicilina.

Fuente: *Farmacopea de los Estados Unidos 38 - NF 33, 2015.*

### 2.2.3.1. Mecanismo de acción

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos como la amoxicilina son bactericidas. Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana uniéndose a unas proteínas específicas llamadas PBPs (*Penicillin-Binding Proteins*) localizadas en la pared celular. Al impedir que la pared celular se construya correctamente, la amoxicilina ocasiona, en último término, la lisis de la bacteria y su muerte. La amoxicilina no resiste la acción hidrolítica de las  $\beta$ -lactamasas de muchos estafilococos, por lo que no se usa en el tratamiento de estafilococias. Aunque la amoxicilina es activa frente a los estreptococos, muchas cepas se están volviendo resistentes mediante mecanismos diferentes de la inducción de  $\beta$ -lactamasas,

por lo que la adición de ácido clavulánico no aumenta la actividad antibacteriana de la amoxicilina frente a estas cepas resistentes. Dado que muchos otros gérmenes se están volviendo resistentes a la amoxicilina, se recomienda realizar un antibiograma antes de instaurar un tratamiento con amoxicilina, siempre que ello sea posible <sup>(45)</sup>.

#### **2.2.3.2. Farmacocinética**

Es absorbida en un 75 a 90 % en el TGI, produciendo concentraciones elevadas a nivel de plasma y tejido. Por su buena distribución, penetra en líquidos pleural, peritoneal y sinovial, incluyendo LCR; así mismo, a secreciones senos maxilares, bronquiales y oído medio. Atraviesa la barrera placentaria. Se une en un 17 – 20 % a las proteínas plasmáticas. A diferencia de la ampicilina, su absorción no es afectada por la presencia de alimentos. Se excreta sin cambio un 80 % de la dosis oral después de 6 h de su administración, menor en neonatos <sup>(46)</sup>.

### 2.2.3.3. Indicaciones Terapéuticas

Infección sistémica o localizada por gram(+) y gram(-) sensibles. Del tracto respiratorio superior: Faringitis, amigdalitis, sinusitis, otitis media y del tracto respiratorio inferior: bronquitis aguda y crónica, neumonías bacterianas y bronconeumonía, producidas por estreptococo, estafilococo sensible, neumococo y *H. influenzae*. Odontoestomatológica y del tracto biliar.

Gastrointestinal: fiebre tifoidea o paratifoidea (portadores biliares crónicos). Genitourinaria: cistitis, uretritis, pielonefritis, bacteriuria, gonorrea, aborto séptico, sepsis puerperal.

De piel y tejido blando (incluida infección de herida quirúrgica), por estreptococo, estafilococo sensible y *E. coli*. Tto. de erradicación de *H. pylori* (asociado a inhibidor de la bomba de protones y en su caso a otros antibióticos): úlcera péptica, linfoma gástrico asociado a mucosa, de bajo grado. Enfermedad de *Lyme* o

Borreliosis (estadíos 1 y 2). Profilaxis de endocarditis producida por bacteriemia post-manipulación/extracción dental. Tratamiento y profilaxis de septicemia, endocarditis, meningitis, pielonefritis y ciertas neuropatías <sup>(47)</sup>.

#### **2.2.3.4. Reacciones Adversas**

- **Frecuentes:** reacciones alérgicas, eritema multiforme que pueda llegar a síndrome de *Stevens-Johnson*, diarrea, náusea y vómito.
- **Infrecuente:** hipersensibilidad incluyendo: urticaria, angioedema y anafilaxia. anemia hemolítica, colitis pseudomembranosa, neutropenia, necrosis epidérmica tóxica.
- **Raras:** hepatotoxicidad, candidiasis oral y vaginal, nefritis intersticial, leucopenia, trombocitopenia, agranulocitosis, desordenes en el SNC incluyendo convulsiones, reacción de Coombs positiva, colitis por antibiótico <sup>(46)</sup>.

### 2.2.3.5. Interacciones

- Con antibióticos como cloranfenicol, eritromicina, sulfonamidas, tetraciclinas: podrían interferir con el efecto bactericida de amoxicilina.
- Con anticonceptivos orales: disminución de su eficacia (riesgo de embarazo).
- Probenecid: incrementa niveles plasmáticos y prolonga la vida media de amoxicilina al disminuir su secreción tubular.
- Alopurinol: en pacientes con hiperuricemia incrementa el rash.
- Anticoagulantes: INR alterado.
- Citotóxicos: reducen la excreción de metotrexate (incrementan el riesgo de toxicidad).
- Aminoglucósidos: incompatibilidad, administrar por separado, mínimo con una hora de diferencia.
- En gestantes; disminución transitoria de la concentración plasmática de estrógenos. Elevación moderada de transaminasas (significado desconocido). Prueba de Coombs falso positiva.

- Amoxicilina interfiere la determinación de glucosa en orina cuando se usa sulfato cúprico (Ej. Solución Benedicto, clinitest), pero no afecta al método de glucosa oxidasa <sup>(46)</sup>.

## **2.2.4 *Streptococcus pyogenes***

### **2.2.4.1. Definición**

El *Streptococcus pyogenes* o estreptococo beta hemolítico del grupo A es un coco Gram positivo que se agrupa en cadenas, posee cápsula y su pared está constituida por carbohidratos, proteínas y ácido lipoteicoico. Es microaerofílico, catalasa negativa y sensible a la bacitracina <sup>(48)</sup>.

### **2.2.4.2. Descripción Taxonómica**

Reino: Bacteria

Phillum : Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Lactobacillales

Familia: Streptococcaceae

Género: Streptococcus

Especie: *S. pyogenes*<sup>(49)</sup>.

### **2.2.4.3. Estructura y fisiología**

Son un grupo de cocos gram-positivos, no motiles, que no forman esporas, miden aproximadamente 0,5 - 1,2  $\mu\text{m}$  de tamaño. A menudo crecen en pares o cadenas y son negativos para la catalasa.

*S. pyogenes* tiende a colonizar el tracto respiratorio superior y es altamente virulento, ya que supera el sistema de defensa del huésped. Las formas más comunes de la enfermedad de *S. pyogenes* incluyen infecciones respiratorias y de la piel. El *S. pyogenes* es típicamente constituido por membrana citoplasmática, una capa de peptidoglicano, un grupo específico de hidratos de carbono, los componentes extracelulares responsables del proceso de la

enfermedad incluyen invasinas y exotoxinas. La cápsula más externa se compone de ácido hialurónico, que tiene una estructura química que se parece al tejido conectivo del anfitrión. Así, la bacteria escapa a la fagocitosis por medio de neutrófilos o macrófagos, permitiéndole colonizar. El ácido lipotéicoico y las proteínas M localizadas en la membrana celular atraviesan la pared celular y se proyectan fuera de la cápsula, también presenta proteínas de conexión a la fibronectina <sup>(50)</sup> <sup>(51)</sup>.

#### **2.2.4.4. Factores de Virulencia**

Los antígenos de la pared celular incluyen polisacárido capsular (sustancia C), peptidoglicano y ácido lipoteicoico (LTA), proteínas R y T, y diversas proteínas de superficie, incluyendo proteína M, proteínas fimbriales, proteínas de unión a fibronectina (por ejemplo, proteína F) y Estreptoquinasa unida a células.

**a) Sustancia C:** Está compuesta por un polímero ramificado de L-ramnosa y N-acetil-D-glucosamina.

Puede tener un papel en el aumento de la capacidad invasiva. Las proteínas R y T se utilizan como marcadores epidemiológicos y no tienen ningún papel conocido en la virulencia.

Otro factor de virulencia, la peptidasa C5A, destruye las señales quimiotácticas mediante la ruptura del componente del complemento de C5A. La proteína M, el principal factor de virulencia, es una macromolécula incorporada en las fimbrias presentes en la membrana celular que se proyecta sobre la pared celular bacteriana. Es la causa principal del cambio antigénico y la deriva antigénica entre *Streptococcus*  $\beta$  Hemolítico grupo A.

**b) Cápsula de ácido hialurónico (Proteína M):** Este une al fibrinógeno del huésped y bloquea la unión del complemento al peptidoglicano subyacente. Esto permite la supervivencia del organismo mediante la inhibición de la fagocitosis. Las cepas que contienen una abundancia de proteína M resisten a la

fagocitosis, se multiplican rápidamente en los tejidos humanos e inician el proceso de la enfermedad. Después de una infección aguda, los anticuerpos específicos se desarrollan contra la actividad de la proteína M en algunos casos.

Sin embargo, aunque tales anticuerpos protegen contra la infección por un tipo de proteína M homóloga, no confieren ninguna inmunidad contra otros tipos de proteína M. Esta observación es uno de los factores que representan un obstáculo teórico importante para el diseño de la vacuna contra **S. pyogenes**, ya que hasta la fecha se han descrito más de 80 serotipos <sup>(51)</sup>.

**c) Hemolisinas:** El *S. pyogenes* elabora 2 hemolisinas distintas. Estas proteínas son responsables de la zona de hemólisis observada en placas de agar sangre y son también importantes en la patogénesis del daño tisular en el huésped infectado. La estreptolisina O es tóxica para una amplia variedad

de tipos de células, incluyendo miocardio, y es altamente inmunogénica. La determinación de las respuestas de anticuerpos a esta proteína (antiestreptolisina O - ASO) es a menudo útil en el diagnóstico serológico de una infección reciente. La estreptolisina S: Es otro factor de virulencia capaz de dañar los leucocitos polimorfonucleares y los organelos subcelulares. Sin embargo, en contraste con la estreptolisina O, no parece ser inmunogénica.

**d) Exotoxinas pirogénicas:** La familia de las exotoxinas pirogénicas estreptocócicas (SPE) incluye las SPE A, B, C y F. Estas toxinas son responsables de la erupción de la escarlatina. Otros efectos patógenos causados por estas sustancias incluyen pirogenicidad, citotoxicidad y aumento de la susceptibilidad a la endotoxina. SPE B es un precursor de una cisteína proteasa, otro determinante de la virulencia.

Los aislamientos estreptocócicos del grupo A asociados con TSS estreptocócicos codifican ciertas SPE (es decir, A, C, F) capaces de funcionar como superantígenos. Estos antígenos inducen una marcada respuesta febril, inducen la proliferación de linfocitos T e inducen la síntesis y liberación de citocinas múltiples, incluyendo factor de necrosis tumoral, interleukina-1 beta e interleukina-6.

**e) Nucleasas:** Cuatro nucleasas antigénicamente distintas (A, B, C, D) ayudan en la licuefacción del pus y ayudan a generar sustrato para el crecimiento.

Otros productos extracelulares incluyen NADasa (leucotóxica), hialuronidasa (que digiere el tejido conectivo del huésped, ácido hialurónico y la propia cápsula del organismo), estreptoquinasas (proteolíticas) y estreptodornasa A-D (actividad desoxirribonucleasa).

Proteinase, amilasa y esterasa son factores adicionales de virulencia estreptocócica, aunque el

papel de estas proteínas en la patogénesis no se entiende completamente <sup>(51)</sup>.

#### **2.2.4.5. Epidemiología**

El hombre es el único huésped conocido en el caso de faringitis, la transmisión es por secreciones respiratorias o por saliva y se requiere contacto estrecho. Puede presentarse a cualquier edad pero es más frecuente en escolares, el contagio es mayor durante la etapa aguda (primeras dos semanas), el periodo de incubación es de dos a cinco días. La portación faríngea en la población general es de 15 a 30 % y no se asocia a riesgo apreciable de fiebre reumática, ni con transmisión de la infección (probablemente debido a menor producción de proteína M). El impétigo es más frecuente en climas tropicales y en estaciones calurosas, su transmisión es por contacto directo y su periodo de incubación siete a 10 días, requiriendo trauma para la producción de enfermedad <sup>(48)</sup>.

#### 2.2.4.6. Formas Clínicas:

##### a) Secuelas Supurativas

**Faringitis estreptocócica:** Es una de las infecciones de la vía aérea superior más comunes por las cuales los pacientes realizan una consulta médica en la atención primaria. Los términos faringitis, tonsilitis o faringoamigdalitis son utilizados generalmente para su misma denominación <sup>(52)</sup>.

La etiología bacteriana la más importante es la causada por *Estreptococo beta-hemolítico grupo A* (EBHGA) o *Streptococcus pyogenes*, que causa aproximadamente un 15 - 30 % de las faringitis en niños de edad escolar entre cinco y 15 años. La transmisión está favorecida por el hacinamiento y contacto íntimo en colegios y otras instituciones cerradas y tiene un período de incubación de doce horas a cuatro días. Si no se tratan con antibióticos la contagiosidad máxima de la infección

estreptocócica es durante la fase aguda y una semana más tarde, descendiendo gradualmente en unas semanas <sup>(53)</sup> .

**1) Manifestaciones clínicas:** El personal de salud ante un niño con faringitis aguda debe formularse si está ante un cuadro de faringitis Estreptocócica o no y si requiere de test de laboratorio para su confirmación y eventual tratamiento antibiótico.

Síntomas:

- Odinofagia de inicio brusco con disfagia.
- Fiebre mayor a 38 °C .
- Malestar.
- Cefalea .
- Dolor abdominal, Vómitos.
- Adenopatía cervical anterior dolorosa y aumentada de tamaño\* (30-60 % de los casos) .
- Rash de escarlatina.

Examen físico de una faringitis estreptocócica

- Faringe congestiva (eritema y edema en fauces y úvula), exudado amarillo-grisáceo sobre las amígdalas.
- Petequias en paladar \*signos más significativos de faringitis estreptocócica (52).

**2) Diagnóstico:** Muestras Clínicas; exudado faríngeo, secreción de lesiones cutáneas, tejidos y líquidos estériles. La microscopía es útil en las infecciones cutáneas y de partes blandas. Las pruebas antigénicas directas son útiles en el diagnóstico de faringitis, pero los resultados negativos se deben confirmar mediante cultivo.

El cultivo es muy sensible y confiable. La identificación es basada en pruebas bioquímicas de laboratorio, sensibilidad a Bacitracina y presencia de antígeno específico de grupo (antígeno de grupo A). La prueba de ASLO es útil para confirmar la FR y la glomerulonefritis aguda.

Si se sospecha glomerulonefritis aguda, se debe realizar también la prueba de anti-ADNasa B (54).

**Impétigo:** Puede manifestarse pocos días a varias semanas después de la adquisición de la bacteria, con promedio de latencia diez días, frecuentemente es indolora y afebril, la lesión inicia como una vesícula superficial con halo eritematoso, rápidamente progresa a pústula y luego a costra, que se caracteriza por su aspecto melicérico, puede durar días a semanas <sup>(48)</sup>.

**Fiebre escarlatina:** La enfermedad comienza con odinofagia, fiebre, cefalea. Las amígdalas enrojecidas con puntos purulentos, al principio la lengua es saburral y más tarde con aspecto de fresa. El exantema es macular puntiforme eritematoso, se inicia en tronco y luego se generaliza, casi siempre es seguido de descamación extensa en el curso de una semana; la obstrucción de los linfáticos de la piel le confiere una textura de papel lija, puede haber

líneas petequiales en los pliegues (líneas de pastia). Hay enantema consistente en manchas hemorrágicas en el paladar blando. El rostro se torna rubicundo, excepto por la palidez alrededor de la boca (triángulo de *Filatow*). La mayoría de las veces se asocia a faringoamigdalitis, sin embargo puede asociarse a infección cutánea.

**Bacteremia:** Se presenta con poca frecuencia; se describen como factores predisponentes las quemaduras, neoplasias, varicela, inmunosupresión, uso de drogas endovenosas <sup>(48)</sup>.

**Fascitis Necrosante:** Es una infección profunda del tejido subcutáneo con la resultante destrucción de la fascia y grasa. Al inicio hay eritema leve, edema, calor y sensibilidad que se extiende rápidamente, en las siguientes 24 a 48 horas el eritema oscurece (rojo púrpura - azulado), se forman bulas de contenido líquido amarillento, entre el cuarto y quinto día está francamente gangrenoso, sobreviene compromiso

de conciencia y desorientación. Pueden desarrollarse abscesos metastáticos, bronconeumonía y absceso pulmonar. Un signo de importancia es la ausencia de dolor al puncionar el área afectada. La enfermedad es más frecuente en pacientes diabéticos o con enfermedad vascular periférica, la mortalidad es del 20 al 30 %.

**Erisipela:** La infección esta confinada a la epidermis, compromete con mayor frecuencia cara, pero puede afectar cualquier sitio, el área afectada se presenta con edema, dolor superficial, con borde elevado y bien delimitado, se pueden formar bulas <sup>(48)</sup>.

**Celulitis:** Es una infección cutánea aguda que se extiende al tejido subcutáneo, puede acompañarse de abscesos locales o linfangitis, generalmente es secundaria a quemaduras o heridas. Otras formas menos frecuentes son la neumonía (generalmente complicando varicela), meningitis, peritonitis,

septicemia puerperal, osteomielitis, artritis séptica, endocarditis <sup>(48)</sup>.

**Síndrome Choque tóxico estreptocócico:** El choque tóxico estreptocócico fue descrito por Cone en 1987, desde entonces han sido descritos muchos casos. Los serotipos que se asocian con mayor frecuencia son el M1, M3 y M18. En todos los casos se han aislado cepas productoras de exotoxina. Se postula que el aumento en la incidencia de choque tóxico estreptocócico obedece a un cambio en la virulencia del agente. La mortalidad del síndrome es del 30 %. En la mayoría de los casos la puerta de entrada es cutánea pero ha sido desencadenado a partir de infección faríngea. Como criterio del síndrome se requiere el aislamiento de la bacteria de un sitio normalmente estéril (caso definitivo) o de uno no estéril (caso probable), hipotensión arterial y dos o más de los siguientes signos: alteración de la función renal, coagulopatía, compromiso hepático, síndrome de dificultad respiratoria del adulto,

exantema macular generalizado que puede descamar, necrosis de tejido blando (incluyendo fascitis necrosante o gangrena).

#### **b) Secuelas no Supurativas**

**Fiebre Reumática:** Se presenta dos a seis semanas después de infección faríngea con estreptococo  $\beta$ -hemolítico grupo A, afecta con mayor frecuencia niños de cinco a 15 años de edad. Es una enfermedad inflamatoria difusa del tejido conectivo, que compromete corazón, sistema nervioso central, vasos sanguíneos, articulaciones y tejido subcutáneo. Se caracteriza por ser recurrente en ausencia de profilaxis secundaria <sup>(48)</sup>.

**Glomerulonefritis Aguda:** Generalmente se presenta 10 a 14 días después de infección faríngea o 14 a 21 días después de infección cutánea con una cepa nefritógena <sup>(48)</sup>.

#### 2.2.4.7. Tratamiento

Debe administrarse el tratamiento antibacteriano durante al menos ocho días, aunque preferentemente se recomienda administrarlo durante 10 días ya que la mayoría de estudios se han efectuado con esta duración. En caso de positividad del *S. pyogenes* grupo A debe recomendarse la utilización de fenoximetilpenicilina o penicilina V (1.200.000 UI cada 12 horas por vía oral), ya que el EBHGA ha sido y sigue siendo sensible a este antibiótico. En caso de intolerancia al tratamiento de elección puede administrarse amoxicilina 500 mg/12horas.

También puede administrarse una cefalosporina de primera generación, como cefadroxilo 500 mg/12 horas. Si hay alergia confirmada a la penicilina se aconseja utilizar clindamicina 300 mg/8 horas durante 10 días o un macrólido. En caso de Faringoamigdalitis estreptocócica de repetición se puede administrar la

asociación de amoxicilina y ácido clavulánico 500/125 mg cada 8 horas durante 10 días <sup>(55)</sup>.

### 2.3. Definición de Términos

- **Actividad antibacteriana:** Se define como la capacidad de matar, inhibir y/o inactivar bacterias, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena <sup>(56)</sup>.
- **Bacteria anaerobia:** Son aquellas bacterias que solo pueden desarrollarse en ausencia de cantidades significativas de oxígeno y bajo condiciones de potenciales redox muy reducidos, por tanto son estrictos en cuanto a sus exigencias de medio ambiente, por ejm; el *S. pyogenes* crece al 5% de CO<sub>2</sub>. <sup>(57)</sup>.
- **Concentración:** Es una solución que nos indica un determinado peso presente en una cantidad de solución (Volumen) <sup>(58)</sup>.
- **Método de Kirby - bauer:** Empleado para determinar la sensibilidad de un agente bacteriano frente a un antibiótico. Denominado también Antibiograma <sup>(59)</sup>.

## CAPÍTULO III

### MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

##### 3.1.1. Tipo de Investigación

- **Aplicada:** Se caracteriza por su interés en la aplicación, utilización y consecuencias prácticas de los conocimientos, Tiene relación con la investigación básica, pues depende de sus descubrimientos y avances.
- **Transversal:** Todas las variables son medidas de una sola ocasión; por ello de realizar comparaciones, se trata de muestras independientes.
- **Prospectivo:** El registro de la información se realizará después de efectuado el experimento.
- **Analítica:** Es un tipo de investigación descriptiva y está más ligada a los datos de estadística y control.

### 3.1.2. Diseño de Investigación

- **Comparativa:** Consiste en recolectar en dos o más muestras con el propósito de observar el comportamiento de una variable, tratando de controlar estadísticamente otras variables que se considera pueden afectar la variable estudiada.

### 3.1.3. Nivel de Investigación

- **Correlacional:** Determina si dos variables están correlacionadas o no. Esto significa analizar si un aumento o disminución en una variable coincide con un aumento o disminución en la otra variable.

## 3.2. MUESTRA

Para la ejecución del experimento en el caso del Aceite esencial *Origanum vulgare* se utilizó un diseño experimental con bloques (concentraciones) completos de muestreo no probabilístico por

conveniencia con nueve tratamientos y ocho repeticiones teniendo así 72 unidades experimentales.

En el caso de la amoxicilina también se utilizó un diseño experimental con bloques (concentraciones) completos de muestreo aleatorio simple con ocho tratamientos y cinco repeticiones teniendo así 40 unidades experimentales. Se tomara en cuenta los:

- Criterios de Inclusión: Las cepas que han formado colonias
- Criterios de Exclusión: Las cepas que no han formado colonias

### **3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS**

#### **3.3.1. Materia prima**

##### **3.3.1.1. Recolección**

La recolección de la planta se llevó a cabo la comunidad Coraguaya, Distrito de Ilabaya en la provincia de Jorge Basadre, del Departamento de

Tacna, esta fue adquirida en el mes de agosto del 2016 en la chacra del señor Felipe Maquera obteniéndose una muestra significativa de la planta verificando que no presenten síntomas de envejecimiento, ni se encuentren deterioradas por plagas. (Anexo N° 1)

Así mismo fue identificada debidamente por la Dra. Rosario Zegarra vda. de Chavez docente de la Escuela de Ingeniería Agrónoma. (Anexo N° 9)

#### **3.3.1.2. Secado**

Se limpiaron de impurezas de las hojas y tallo del orégano para la conservación de los componentes del vegetal, el proceso secado se llevó a cabo en una habitación con buena ventilación y a la sombra, esto para evitar la exposición a los rayos solares, se extendió de forma homogénea la planta sobre papeles kraff, siendo removidas constantemente para aumentar el contacto con el aire, cuyo propósito fue conseguir un secado homogéneo.

### **3.3.2. Extracción por arrastre de vapor y rendimiento del aceite esencial *Origanum vulgare* (Técnica de Lock de Ugaz 1994)**

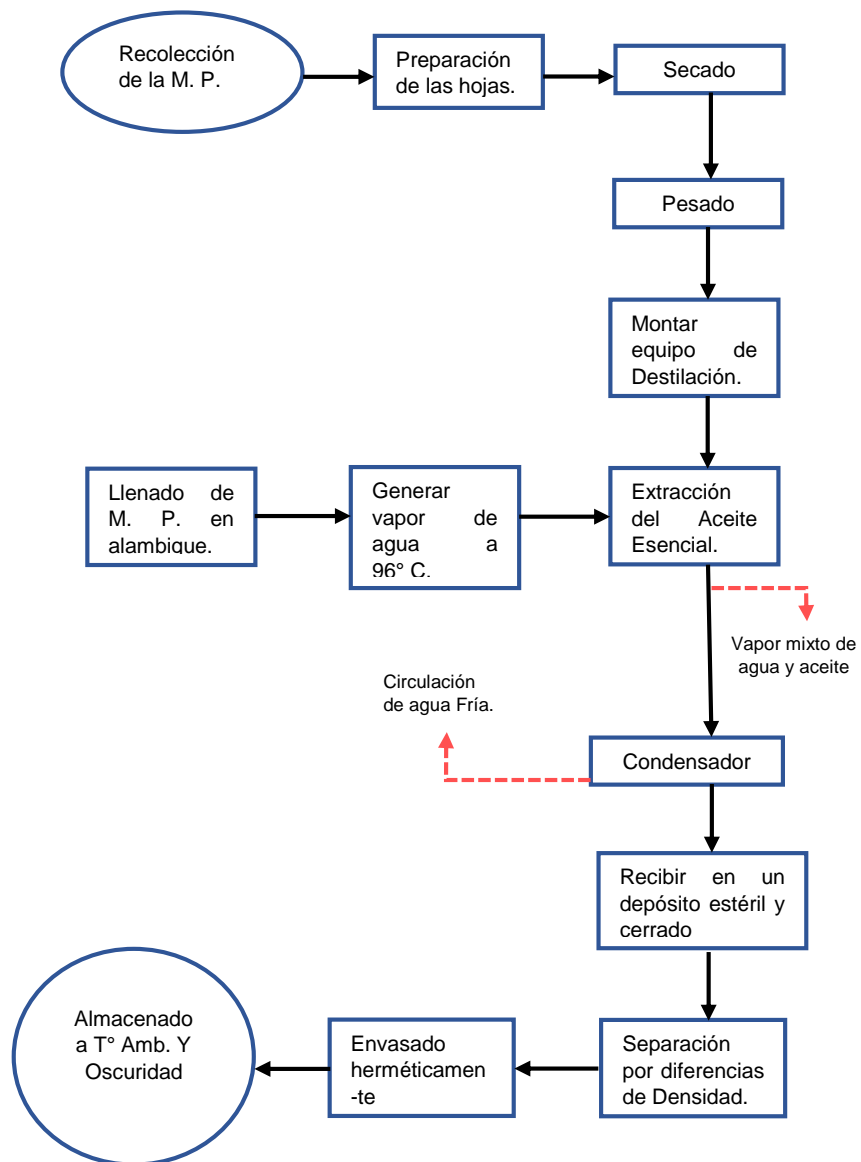
Luego de siete días, la muestra fue transportada en bolsas de papel de primer uso. Para la extracción del aceite esencial *Origanum vulgare*, Antes de iniciar el proceso se verifico el correcto armado del equipo de extracción, el cual estaba compuesto por una caldera, un contenedor de la materia prima (Alambique), un condensador de vidrio tipo serpentín, un colector de líquidos dispuesto a la salida del condensador. (Anexo N° 2)

Primero, se agregó 3500 mL de agua destilada en el generador de vapor, seguidamente se procedió a pesar 720 gramos de muestra y este se colocó en el alambique, se presionó debidamente para que no escape el vapor, por consiguiente procedemos a prender el generador de vapor hasta que este entre en ebullición, y alcance una temperatura de aproximadamente de 96 °C.

Luego de que la muestra vegetal fue sometida al flujo de vapor producido (Aprox. 1 hora) donde recibió los vapores de agua, para luego liberar el vapor mixto (agua – aceite esencial) hacia el condensador. La mezcla del vapor mixto y el aceite esencial fluyó a través del ducto de vidrio y es dirigida hasta el serpentín interno del condensador donde es condensada y enfriada por el efecto del intercambio de calor con el agua corriente que lo rodea.

El aceite esencial destilado se recibió en un depósito estéril y cerrado, donde se observó un estado difásico entre agua y aceite esencial, debido a las diferencias de densidad. Esto permitirá separar el aceite esencial mediante el uso de pipetas Pasteur a un tubo de vidrio con tapa rosca cerrado herméticamente envolviéndolo en papel aluminio y almacenado a temperatura ambiente y en oscuridad hasta su utilización.

A) Diagrama de Flujo de Extracción del Aceite esencial de *O. vulgare*



El aceite esencial se ha sometido a las siguientes pruebas:

Tabla N°4: Características organolépticas del Aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*)

<b>Muestra</b>	<b>Características</b>
<b>Aspecto</b>	Líquido fluido transparente
<b>Color</b>	Amarillento
<b>Olor</b>	Característico
<b>Sabor</b>	Picante

*Fuente: Elaboración Propia*

### 3.3.2.1. Determinación de densidad

Probeta de 5 ml. Vacía = 27,3713 g.

Probeta de 5 ml. con aceite = 29,1928 g.

Masa = 29,1928 - 27,3713

Masa = 1,8215

Volumen = 2,0 mL.

Fórmula N° 1:

d = densidad

M = masa

V = volumen

$$d = \frac{m}{v}$$

$$d = \frac{1,8215 \text{ g}}{2 \text{ mL}}$$

$$d = 0,9107 \text{ g/ml}$$

### 3.3.2.2. Rendimiento de aceite esencial (RAE)

Se determinó el porcentaje (%) de RAE por el método gravimetría-volumétrico, para ello se realizó el método de arrastre por vapor de agua en un equipo de destilación de vidrio. Obteniéndose 0,4 ml de aceite esencial a partir de 58 gramos de la planta entera de *Origanum vulgare*, obteniendo un determinado volumen, lográndose obtener un rendimiento del 0,6896 %, aplicando la siguiente fórmula:

Fórmula N° 2:

$$\%RAE = \frac{\text{Vol.}_{AE} \text{ (ml)}}{P_{\text{muestra}} \text{ (g)}} \times 100$$

Donde:

% RAE = Porcentaje del aceite esencial (Rendimiento)

Vol. <sub>AE</sub> = Volumen del aceite esencial obtenido.

P<sub>muestra</sub> = Peso de la muestra a destilar.

$$\% \text{ RAE} = \frac{0,4 \text{ mL}}{58 \text{ g}} \times 100$$

58 g

$$\% \text{ RAE} = 0,6896 \approx 0,70 \%$$

### **3.3.3. Obtención y preparación de cepas bacterianas**

#### **3.3.3.1. Recolección**

Se utilizó un microorganismo patógeno de importancia clínica proporcionada por la empresa GenLab *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 KWIK-STICK grupo A. (Anexo N° 3)

#### **3.3.3.2. Activación**

La cepa se almacenó de 2 a 8 °C hasta el momento de su activación en el laboratorio. Se activó según el boletín técnico de Microbiologics. Primero se reconstituye el microorganismo apretando en la parte

superior y rompiendo la válvula que almacena al líquido, seguidamente procedemos a homogenizar la cepa y lo sembramos en placas de Agar Sangre se deja incubar por 48 horas a 35 - 37 °C en frasco de anaerobiosis con 5 % de CO<sub>2</sub> (Anexo N° 4).

### **3.3.3.3. Preparación del Inóculo**

Después de que se obtuvieran las cepas madres, se procedió a extraer las hijas en agar sangre por 48 horas al 5 % de CO<sub>2</sub> en jarras de anaerobiosis. Debido a que la bacteria es un *Streptococcus* el método directo de suspensión de colonias es el más recomendado haciéndolo directamente en suspensión salina. Una vez que fueron obtenidas las cepas hijas cogemos varias colonias con un *Asa Kolle* y ajustamos el inóculo a una turbidez equivalente al 0.5 de la escala de *McFarland* en suero fisiológico. Se agitó durante 40 segundos y se procedió a visualizar los tubos contra un fondo blanco con líneas negras en contraste. Dicha suspensión tendrá a la escala *de 0,5 Mc Farland (1,5 x*

10<sup>8</sup> microorganismos/ml) para *Streptococcus pyogenes* <sup>(60)</sup>.

### **3.3.3. Determinación de Sensibilidad antibacteriana por el método de disco difusión (NCCLS, 2005)**

#### **3.3.4.1. Preparación del medio para la prueba de sensibilidad.**

Se empleó el Agar Sangre, dado que se considera mejor medio para las pruebas de sensibilidad, y se preparó tal como indica la distribuidora donde se adquirió.

#### **3.3.4.2. Inoculación de la bacteria para disco difusión**

En un lapso de tiempo óptimo de 15 minutos después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, y con ayuda de una micropipeta, se transfirieron 100 µL de la suspensión bacteriana en las placas de agar sangre. Con el asa de *kolle* y se

procedió a diseminar en la superficie para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Este procedimiento se realizó para la cepa *Streptococcus pyogenes* y se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante cuatro minutos.

#### **3.3.4.3. Aplicación de los discos en placas inoculadas**

Para realizar la aplicación del aceite esencial se prepararon discos de sensibilidad de papel filtro (*Wathman* N° 40) de aproximadamente 6 mm de diámetro, que se colocaron en un beaker de 100 mL con agua destilada para su esterilización (121 °C, 15 lb por 15 minutos) en autoclave.

Posteriormente, se vació el agua del beaker que contiene la solución desnaturalizada y el beaker conteniendo los discos se los llevo a estufa regulada a 170 °C por 1 hora para su secado, y posteriormente ser usados.

La actividad antibacteriana del aceite esencial se evaluó por el método de difusión en disco. Se impregnaron los discos previamente esterilizados de 6 mm de diámetro con una cantidad determinada de aceite esencial puro. Se realizaron ocho repeticiones por cada tratamiento. La cantidad de volumen de aceite esencial de orégano impregnado fueron los siguientes: 4,0  $\mu\text{L}$ ; 5,0  $\mu\text{L}$ ; 7,0  $\mu\text{L}$ ; 9,0  $\mu\text{L}$ ; 11,0  $\mu\text{L}$ ; 13,0  $\mu\text{L}$ ; 15,0  $\mu\text{L}$ ; 17,0  $\mu\text{L}$ ; 19,0  $\mu\text{L}$  estos corresponden a nueve diferentes tratamientos.

Todos estos discos se embebieron en un recipiente por separado, para evitar que las sustancias difundan directamente en la placa.

Fórmula N° 3

Sabiendo que:

$$\text{cc} = 1000 \mu\text{L} \longrightarrow 910,7 \text{ mg}$$

$$4 \mu\text{L} \longrightarrow X \text{ mg}$$

X : 3,6428 mg hay en 4 $\mu\text{L}$  de aceite esencial

Tabla N° 5: Concentraciones del aceite esencial de *Origanum vulgare* en los discos.

<b>Aceite esencial de Orégano</b>		
<b>N° de tratamiento</b>	<b>Volumen (μL)</b>	<b>[ ] (mg/mL)</b>
<b>T-1</b>	4,0	3,6428
<b>T-2</b>	5,0	4,5535
<b>T-3</b>	7,0	6,3749
<b>T-4</b>	9,0	8,1963
<b>T-5</b>	11,0	10,0177
<b>T-6</b>	13,0	11,8391
<b>T-7</b>	15,0	13,6605
<b>T-8</b>	17,0	15,4819
<b>T-9</b>	19,0	17,3033

*Fuente: Elaboración propia*

En el caso del fármaco patrón: Se utilizó la amoxicilina de 500 mg el cual fue disuelto en 1 mL de agua bidestilada seguidamente se agito para su homogenización y llevándolo al sonicador para que sus

partículas fueran uniformes. Se impregnaron los discos previamente esterilizados de 6 mm de diámetro con una cantidad determinada de amoxicilina 500 mg. Se realizaron cinco repeticiones por cada tratamiento. La cantidad de volumen impregnado fueron los siguientes: 9,0  $\mu\text{L}$ ; 11,0  $\mu\text{L}$ ; 13,0  $\mu\text{L}$ ; 15,0  $\mu\text{L}$ ; 17,0  $\mu\text{L}$ ; 19,0  $\mu\text{L}$ ; 21,0  $\mu\text{L}$ ; 23,0  $\mu\text{L}$ ; estos corresponden ocho diferentes tratamientos. Todos estos discos se embebieron en un recipiente por separado, para evitar que las sustancias difundan directamente en la placa.

Fórmula N°4:

Sabiendo que

$$\begin{array}{l} \text{cc} = 1000 \mu\text{L} \longrightarrow 500 \text{ mg} \\ \quad \quad \quad 9 \mu\text{L} \longrightarrow X \text{ mg} \end{array}$$

X : 4,5 mg hay en 9 $\mu\text{L}$  de amoxicilina disuelta.

Tabla N° 6.- Concentraciones del fármaco patrón

Amoxicilina 150 mg en los discos.

<b>Amoxicilina 500 mg</b>		
<b>N° de tratamiento</b>	<b>Volumen (µL)</b>	<b>[ ] (mg/mL)</b>
<b>T-1</b>	9,0	4,5000
<b>T-2</b>	11,0	5,5000
<b>T-3</b>	13,0	6,5000
<b>T-4</b>	15,0	7,5000
<b>T-5</b>	17,0	8,5000
<b>T-6</b>	19,0	9,5000
<b>T-7</b>	21,0	10,5000
<b>T-8</b>	23,0	11,5000

*Fuente: Elaboración propia*

Las pruebas también incluyen un control negativo:

**Control negativo:** Que consiste en un disco de papel filtro impregnado con agua estéril para descartar la actividad antimicrobiana del mismo.

Utilizando pinzas estériles, se procedió a colocar los discos embebidos en las superficies de las placas de agar sangre conteniendo el inóculo, presionándolos firmemente sobre la superficie del agar. Se dejó secar durante 20 min para su mejor impregnación. (Anexo N° 5)

#### **3.3.4.4. Incubación**

Las placas fueron incubadas de 35 a 37 °C durante 24 a 36 horas en cámara de anaerobiosis al 5 % de CO<sub>2</sub> para ver los halos de inhibición. (Anexo N° 6)

#### **3.3.4.5. Lectura**

La lectura se realizó midiendo los halos de inhibición con una regla sobre el crecimiento del microorganismo alrededor del disco. El diámetro de esta zona de inhibición fue directamente proporcional a la actividad antibacteriana del aceite esencial sobre los microorganismos estudiados. Para interpretar los resultados se tomó como referencias las pautas por

(*DURAFFOURD y LAPRAZ, 1983*) que considera la actividad de los aceites esenciales como: (Anexo N°7)

- Nula (-) si fue inferior o igual a 8 mm.
- Sensibilidad limite (sensible = +) de 9 a 14 mm.
- Sensibilidad media (muy sensible = ++) de 15 a 19 mm.
- Sumamente sensible (S.S. = +++) si fue igual o superior a 20 mm.

### **3.4. MATERIALES Y/O INSTRUMENTOS**

#### **3.4.1. Materiales**

- Tubos de ensayo con tapa rosca de 15 x 125 mm.
- Tubos de ensayo de 13 x100 mm y 40 de 15 x 125 mm.
- Placas Petri de 10 x100 mm.
- Matraces de 100 mL, 250 mL y 500 mL.
- Pipetas de 1 mL, 5 mL y Pipetas de 10 mL.
- Micropipetas.
- Vasos precipitados de 200 mL.
- Frasco de vidrio color ámbar de 100 ml capacidad.

- Probeta de 250 ml.
- Papel filtro *Whatman* N° 40.
- 7 Papel Kraft.
- 500 g Algodón.
- 01 litro de alcohol de 70°.
- 01 litro de ron de quemar.
- 01 caja de guantes descartables N° 6 ½.
- 12 unidades de mascarilla simple.
- 12 unidades de gorros descartables.
- 12 pares de guantes estériles N° 6 ½.
- 1 rollo de pabilo.
- Detergente, Lejía y Jabón.

#### **3.4.2. Instrumentos**

- Autoclave Solingen 32220025-0007.
- Estufa Tomos ODMG – 9030.
- Incubadora BIONET SA. U- 53226904-0005.
- Balanza analítica aeAdam PW124.
- Equipo de destilación.
- Espectrofotómetro Jenway 6300.

- Jarra de Anaerobiosis.

### 3.4.3. Medio y Reactivo

- Agar Base Sangre (Oxoid).
- Dimetil Sulfoxido (DMSO) (Merck).

## 3.5. PROCESAMIENTO DE DATOS

La investigación está basada en un estudio comparativo, para la determinación de la sensibilidad de la bacteria patógena frente al aceite esencial *Origanum vulgare* mediante el método de difusión en disco se empleó un muestreo no probabilístico por conveniencia.

Los datos fueron procesados a través del software estadístico SPSS versión 24. Para el análisis estadístico se utilizó la técnica de análisis varianza (ANOVA) usando la prueba F a un nivel de significancia de 0,05, finalmente para establecer las diferencias medias entre los tratamientos se utilizó prueba de significación Tukey al 0,05. Todos los tratamientos a base del *Origanum vulgare* y la amoxicilina de 500mg se expresaron en mg/mL, mientras que

los promedios de los halos de sensibilidad se expresaron en milímetros (mm).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

Se realizó una comparación entre la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) y la amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615; con el fin de determinar si había una diferencia de actividad antibacteriana, para ello se trabajó con el aceite esencial de Orégano nueve tratamientos y ocho repeticiones, en el caso del fármaco se trabajó con ocho tratamientos y cinco repeticiones. Se determinó la alta sensibilidad del *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente al *Origanum vulgare*, constatándose que el aceite esencial presenta una mayor actividad antibacteriana en comparación contra el fármaco de la amoxicilina.

Los resultados obtenidos en las siguientes pruebas han sido agrupados en tablas y figuras para la mejor interpretación de los resultados que se detallan se utilizó un muestreo no probabilístico por conveniencia siendo útil para métodos y técnicas de laboratorio.

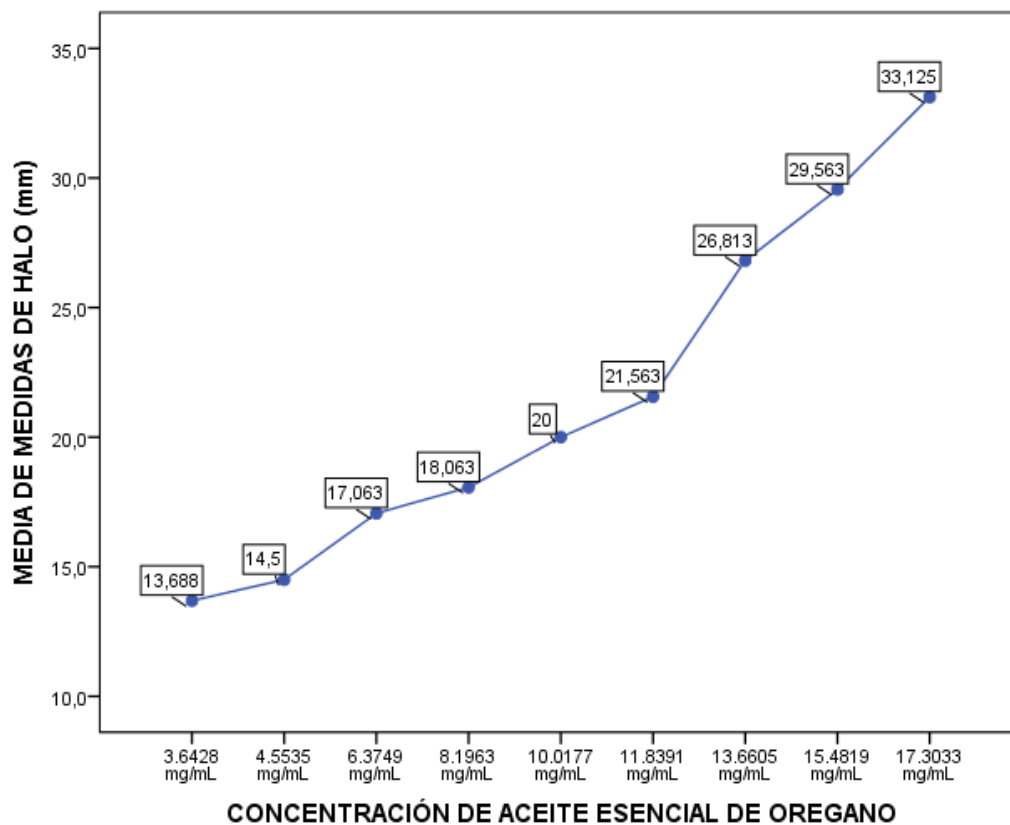
**Tabla N° 7: Prueba de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* (Orégano) frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 por el método de difusión del disco (Kirby Bauer)**

N° de tratamiento	Aceite Esencial		Repeticiones								Promedio
	Volumen (µL)	Concentración (mg/mL)	Halo de Inhibición (mm)								
			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
T-1	4,0	3,6428	13,5	12,5	13	14	15	13	12,5	16	13,6875
T-2	5,0	4,5535	18	14,5	12,5	14	12,5	13	17	14,5	14,5
T-3	7,0	6,3749	17	15	16,5	21	18,5	14	17	17,5	17,0625
T-4	9,0	8,1963	18,5	21	20,5	22	15,5	16	15	16	18,0625
T-5	11,0	10,0177	25	26,5	23,5	14,5	17,5	16,5	21	15,5	20
T-6	13,0	11,8391	22,5	20,5	24	22	17,5	20,5	24	21,5	21,5625
T-7	15,0	13,6605	22,5	32,5	29	16,5	22	36	23	33	26,8125
T-8	17,0	15,4819	32	27	25	39	28,5	27	30	28	29,5625
T-9	19,0	17,3033	35	36,5	28	29	36	39,5	32	29	33,125
<b>Control (-)</b>	Agua		6	6	6	6	6	6	6	6	6

Fuente: Elaboración propia

En la presente tabla se muestra los promedios de los Halos de inhibición frente al *Streptococcus pyogenes* a diferentes concentraciones del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*), por el método de difusión de disco (Kirby Bauer).

Los resultados obtenidos indican mayor promedio el halo de inhibición a la concentración de 17,3033 mg/mL con un promedio de halo de 33,125 mm, por otro lado, la menor concentración fue de 3,6428 mg/mL con un promedio de halo de 13,6875 mm. Demostrando que sus halos estuvieron por encima de la sensibilidad siendo directamente proporcional entre su concentración y halo; es decir, a mayor concentración mayor será el halo de inhibición.



**Figura N° 4:** Distribución del promedio de halos de inhibición en base a las concentraciones del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

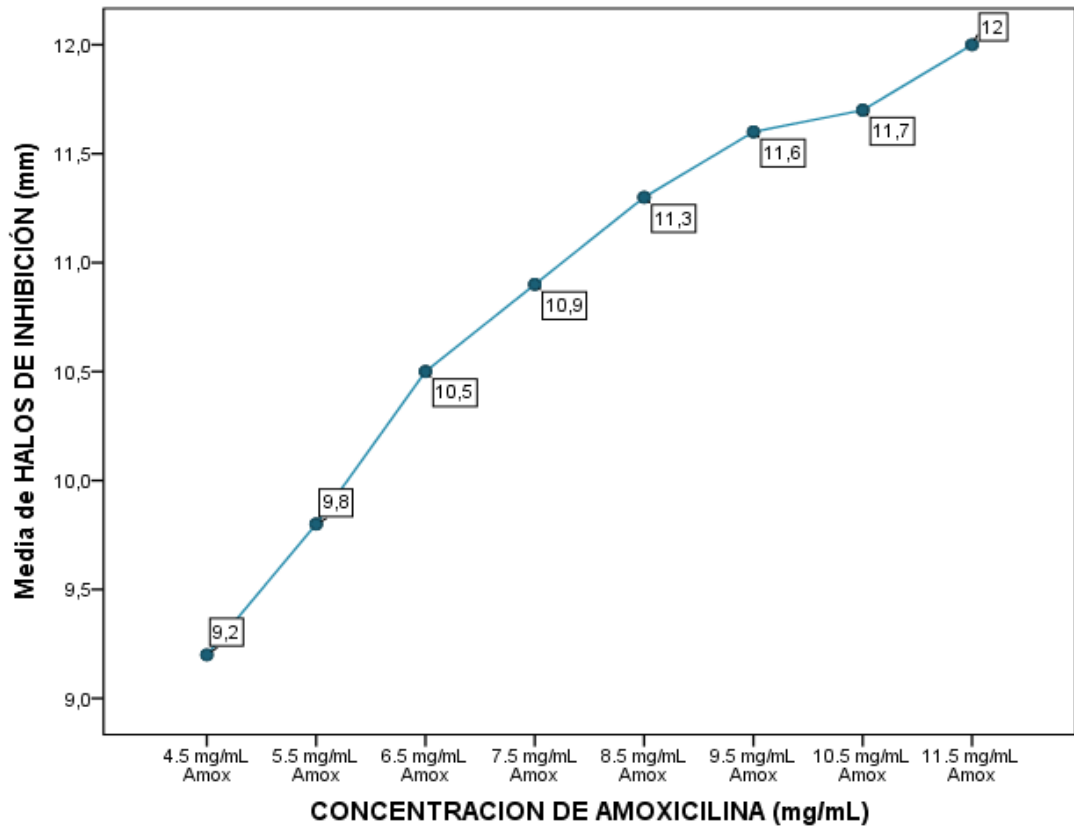
Fuente: Tabla N° 7

**Tabla N° 8: Prueba de la actividad antibacteriana del Fármaco patrón amoxicilina frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 por el método de difusión del disco (Kirby Bauer).**

N° de tratamiento	Aceite Esencial		Repeticiones					Promedio
	Volumen (µL)	Concentración (mg/mL)	Halo de Inhibición (mm)					
			I	II	III	IV	V	
T-1	9,0	4,5000	10	10	8	8	10	9,2
T-2	11,0	5,5000	11	10	10	10	8	9,8
T-3	13,0	6,5000	10	11	10	11	10,5	10,5
T-4	15,0	7,5000	11,5	10	10	11	12	10,9
T-5	17,0	8,5000	12	10,5	11	12	11	11,3
T-6	19,0	9,5000	12	11,5	12	10,5	12	11,6
T-7	21,0	10,5000	12	12	10,5	12	12	11,7
T-8	23,0	11,5000	13	12	12	12	11	12

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla N° 8 se presenta los promedios de los Halos de inhibición producido por las diferentes concentraciones del fármaco de Amoxicilina frente al *Streptococcus pyogenes*, mediante el método de difusión de disco (Kirby Bauer). Los resultados obtenidos indican un mayor promedio de halo de inhibición para la concentración de 11,5 mg/mL con un promedio de halo de 12 mm.



**Figura N° 5:** Distribución del promedio de halos de inhibición en base a las concentraciones de la amoxicilina frente al *S. pyogenes* ATCC 19615

Fuente: Tabla N°8

**Tabla N°9: Determinación del grado de sensibilidad de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 a diferentes concentraciones del aceite esencial de *O. vulgare*.**

N° de tratamiento	Aceite esencial		Grado de Sensibilidad *		
	Volumen (µL)	Ci (mg/mL)	Sensibilidad Límite 9-14 mm (sensible=+)	Sensibilidad Media 14 - 19 mm (Muy sensible=++)	Sumamente sensible 20mm a más (Sumamente Sensible =+++)
T-1	4,0	3,6428	13,6875		
T-2	5,0	4,5535		14,5	
T-3	7,0	6,3749		17,0625	
T-4	9,0	8,1963		18,0625	
T-5	11,0	10,0177			20
T-6	13,0	11,8391			21,5625
T-7	15,0	13,6605			26,8125
T-8	17,0	15,4819			29,5625
T-9	19,0	17,3033			33,125

Fuente: Elaboración propia

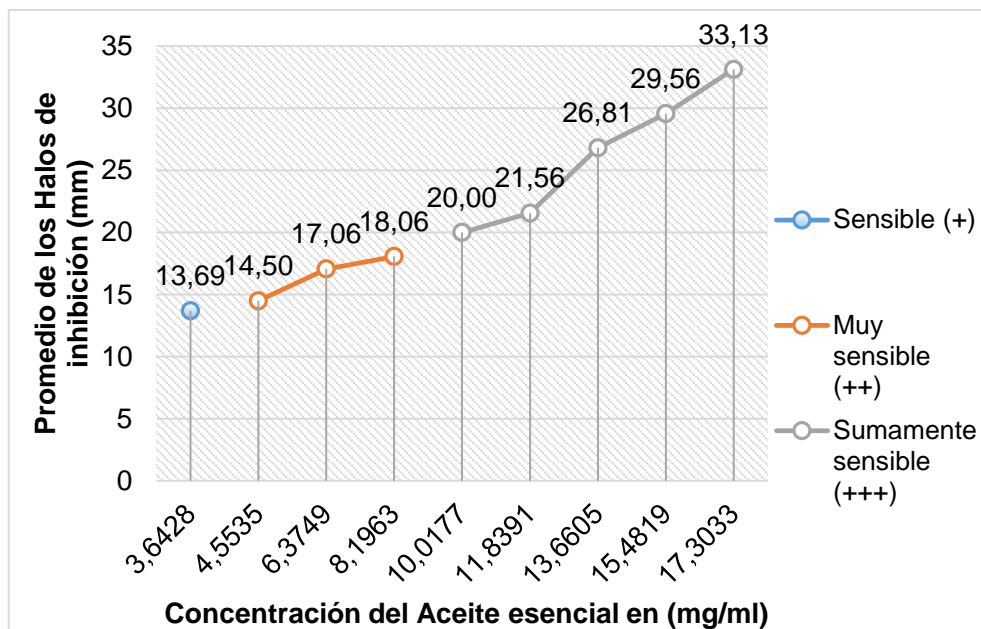
\*Duraffourd y Lapraz, 1983

En la presente tabla se determina el grado de sensibilidad de acuerdo a los promedios de los halos de inhibición según la escala de Duraffourd; observando que en la primera concentración del aceite esencial dan halos de inhibición mayores a 13,69 mm indicando sensibilidad.

Se puede observar el grado de sensibilidad de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 a diferentes concentraciones del

Orégano (*Origanum vulgare*). La muestra del grado de sensibilidad de los promedios de los halos de inhibición está de acuerdo a la escala Duraffourd.

En síntesis, se puede decir que a partir del Tratamiento 5 (10,0177 mg /mL) a más, resulta ser sumamente sensible.



**Figura N°6:** Inhibición del aceite esencial del *O. vulgare* en base a las concentraciones dadas frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

**Fuente:** Tabla N° 9

**Tabla N°10: Determinación del grado de sensibilidad del *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente al fármaco patrón Amoxicilina 500 mg.**

	Amoxicilina		Grado de Sensibilidad *		
	Volumen	Concentración	Sensibilidad Límite 9-14 mm	Sensibilidad Media 14 - 19 mm	Sumamente sensible 20mm a más
N° de tratamiento	( $\mu$ L)	(mg/mL)	(sensible=+ )	(Muy sensible= ++)	(Sumamente Sensible = +++)
T-1	9,0	4,5000	9,2		
T-2	11,0	5,5000	9,8		
T-3	13,0	6,5000	10,5		
T-4	15,0	7,5000	10,9		
T-5	17,0	8,5000	11,3		
T-6	19,0	9,5000	11,6		
T-7	21,0	10,5000	11,7		
T-8	23,0	11,5000	12		

Fuente: *Elaboración propia*

\*Duraffourd y Lapraz, 1983

Se determina el grado de sensibilidad de acuerdo a los promedios de los halos de inhibición según la escala de Duraffourd; observando que dichos tratamientos (4,5 mg/mL - 11,5 mg/mL) presentan sensibilidad límite, dando un mayor promedio de halo en el tratamiento 8 con una medida de 12 mm.

**Tabla N° 11: Análisis de varianza del Efecto antibacteriano del aceite esencial de *O. vulgare* frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.**

Medidas de halos (mm)	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F calculado	Sig.
<b>Tratamientos</b>	2976,632	8	372,079	26,392	0,000
<b>Error residual</b>	888,188	63	14,098		
<b>Total</b>	3864,819	71			

Fuente: SPSS Statistics v24

El modelo del análisis de varianza de un factor del diseño completamente aleatorizado es la ecuación

$$X_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij} \quad i = 1, 2, 3, \dots, 10 \quad j = 1, 2, \dots, 77$$

**1) Formular la hipótesis:**

H<sub>0</sub>: Los tratamientos no difieren entre sí

H<sub>1</sub>: Los tratamientos difieren entre sí.

**2) Nivel de significancia**

$$\alpha = 5\% = 0,05$$

**3) Estadístico de prueba:**

ANOVA, Prueba de Tukey

#### 4) **Desición**

$P = 0,000 < \alpha = 0,05$  entonces se rechaza  $H_0$

#### 5) **Conclusión**

Al nivel del 5% de significancia se concluye que existen diferencias significativas entre las medias de las concentraciones de aceite esencial.

**Tabla N° 12: Prueba de Significación de Tukey para la actividad antibacteriana del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. HSD Tukey<sup>a,b</sup>**

Tratamiento	Concentración de Aceite esencial de Orégano	N*	Subconjunto para alfa : 0,05 medición de halo en (mm)						
			1	2	3	4	5	6	
T – 1	3,6428 mg/mL	8	13,688						
T – 2	4,5535 mg/mL	8	14,500	14,500					
T – 3	6,3749 mg/mL	8	17,063	17,063	17,063				
T – 4	8,1963 mg/mL	8	18,063	18,063	18,063				
T – 5	10,0177 mg/mL	8		20,000	20,000				
T – 6	11,8391 mg/mL	8			21,563	21,563			
T – 7	13,6605 mg/mL	8				26,813	26,813		
T – 8	15,4819 mg/mL	8					29,563	29,563	
T – 9	17,3033 mg/mL	8							33,125
<b>Sig.</b>	<b>Sig.</b>		0,340	0,101	0,304	0,137	0,867		0,618

Fuente: SPSS Statistics v24

\*N: Numero de repeticiones por tratamiento

En la presente tabla se puede observar la prueba de significancia de Tukey al 95 % de confiabilidad se observa los promedios de las concentraciones, donde se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneo.

- Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 8,000

Estadísticamente el mayor promedio lo tiene el tratamiento 8 y el tratamiento 9 con una media de halo de 29,563 mm y 33,125 mm respectivamente, según la prueba de Tukey podemos observar que este subconjunto es homogéneo, pero a la vez el que presenta mayor efecto inhibitorio significativamente al resto de tratamientos.

**Tabla N° 13: Análisis de varianza del Efecto antibacteriano de la Amoxicilina de 500mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615**

Medidas de halos (mm)	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F calculado	Sig.
<b>Tratamientos</b>	33,775	7	4,825	7,318	,000
<b>Error residual</b>	21,100	32	0,659		
<b>Total</b>	21,100	39			

Fuente: SPSS Statistics v24

El modelo del análisis de varianza de un factor del diseño completamente aleatorizado es la ecuación

$$X_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij} \quad i = 1, 2, 3, \dots, 10 \quad j = 1, 2, \dots, 77$$

**1) Formular la hipótesis:**

H<sub>0</sub>: Los tratamientos no difieren entre sí

H<sub>1</sub>: Los tratamientos difieren entre sí.

**2) Nivel de significancia**

$$\alpha = 5 \% = 0,05$$

**3) Estadístico de prueba**

ANOVA, Prueba de Tukey

#### 4) **Desición**

$P = 0,000 < \alpha = 0,05$  entonces se rechaza  $H_0$

#### 5) **Conclusión**

Al nivel del 5 % de significancia se concluye que existen diferencias significativas entre las medias de las concentraciones de la amoxicilina 500 mg.

**Tabla N°14: Prueba de Significación de Tukey para la actividad antibacteriana de la amoxicilina frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. HSD Tukey<sup>a</sup>**

Tratamiento	Concentración de Amoxicilina 500 mg	Subconjunto para alfa : 0,05			
		N	1	2	3
T – 1	4,5 mg/mL Amox	5	9,200		
T – 2	5,5 mg/mL Amox	5	9,800	9,800	
T – 3	6,5 mg/mL Amox	5	10,500	10,500	10,500
T – 4	7,5 mg/mL Amox	5		10,900	10,900
T – 5	8,5 mg/mL Amox	5		11,300	11,300
T – 6	9,5 mg/mL Amox	5			11,600
T – 7	10,5 mg/mL Amox	5			11,700
T – 8	11,5 mg/mL Amox	5			12,000
<b>Sig.</b>	<b>Sig.</b>		,219	,102	,102

Fuente: SPSS statistics v24

En el tabla N° 14 se puede observar la prueba de significación de Tukey al 95 % de confiabilidad se observa los promedios de las concentraciones, y se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos donde se utiliza un tamaño de la muestra media armónica = 5,000

Estadísticamente el mayor promedio lo tiene el tratamiento 8 con una media de halo de 12,00 mm.

**Tabla N° 15: Análisis de varianza de la Comparación del Efecto antibacteriano del *O. vulgare* y de la Amoxicilina de 500mg a distintas concentraciones frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.**

Medidas de halos (mm)	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F calculado	Sig.
<b>Tratamientos</b>	5966,677	16	372,917	38,961	,000
<b>Error residual</b>	909,288	95	9,571		
<b>Total</b>	6875,964	111			

Fuente: SPSS Statistics v24

El modelo del análisis de varianza de un factor del diseño completamente aleatorizado es la ecuación

$$X_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij} \quad i = 1, 2, 3, \dots, 10 \quad j = 1, 2, \dots, 77$$

**1) Formular la hipótesis:**

H<sub>0</sub>: Los tratamientos no difieren entre sí

H<sub>1</sub>: Al menos uno de los tratamientos difiere entre sí.

**2) Nivel de significancia**

$$\alpha = 5\% = 0.05$$

**3) Estadístico de prueba**

ANOVA, Prueba de Tukey.

#### 4) **Desición**

$P = 0,000 < \alpha = 0,05$  entonces se rechaza  $H_0$

#### 5) **Conclusión**

Al nivel del 5 % de significancia se concluye que existen diferencias significativas entre las medias de las concentraciones del Aceite esencial y la amoxicilina de 500 mg.

Siendo  $\alpha = 0,05$  y el punto crítico que delimita la zona de aceptación y rechazo de  $H_0$  es  $F(16,95 ; 0,95) = 1,551$  (Según la tabla de Fisher). Puesto que  $F$  calculado = 38,961; dado que el p-valor: 0,000 es menor que el nivel de significancia ( $\alpha = 0,05$ ) se rechaza la hipótesis nula es decir nos indica que existen diferencias estadísticas significativas entre los promedios de tratamientos por lo tanto se acepta la hipótesis alterna.

**Tabla N° 16: Prueba de Significación de Tukey en Comparación del Efecto antibacteriano del *O. vulgare* y de la Amoxicilina de 500mg a distintas concentraciones frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. HSD Tukey<sup>a</sup>**

Tratamiento	Concentración del Aceite esencial de Orégano y la Amoxicilina 500 mg	Subconjunto para alfa : 0,05 (Medidas de halos en mm)								
		N*	1	2	3	4	5	6	7	8
T-1 Amox	4,5 mg/mL Amox	5	9,200							
T-2 Amox	5,5 mg/mL Amox	5	9,800							
T-3 Amox	6,5 mg/mL Amox	5	10,500							
T-4 Amox	7,5 mg/mL Amox	5	10,900	10,900						
T-5 Amox	8,5 mg/mL Amox	5	11,300	11,300						
T-6 Amox	9,5 mg/mL Amox	5	11,600	11,600						
T-7 Amox	10,5 mg/mL Amox	5	11,700	11,700						
T-8 Amox	11,5 mg/mL Amox	5	12,000	12,000	12,000					
T-1 AEO	3.6428 mg/mL AEO	8	13,688	13,688	13,688					
T-2 AEO	4.5535 mg/mL AEO	8	14,500	14,500	14,500	14,500				
T-3 AEO	6.3749 mg/mL AEO	8		17,063	17,063	17,063	17,063			
T-4 AEO	8.1963 mg/mL AEO	8			18,063	18,063	18,063			
T-5 AEO	10.0177 mg/mL AEO	8				20,000	20,000			
T-6 AEO	11.8391 mg/mL AEO	8					21,563	21,563		
T-7 AEO	13.6605 mg/mL AEO	8						26,813	26,813	
T-8 AEO	15.4819 mg/mL AEO	8							29,563	29,563
T-9 AEO	17.3033 mg/mL AEO	8								33,125
	Sig.		0,194	0,055	0,065	0,149	0,460	0,207	0,977	0,824

Fuente: SPSS Statistics v24

\*N: Numero de repeticiones por cada concentración.

En el tabla N° 16 se puede observar la prueba de significación de Tukey al 95 % de confiabilidad se observa los promedios de las concentraciones del Aceite esencial de Orégano y la amoxicilina de 500mg, donde se observan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos y utiliza el tamaño de la muestra media armónica = 6.239

Estadísticamente el mayor promedio lo tiene el tratamiento 8 y el tratamiento 9 del Aceite esencial de Orégano con una media de halo de 29,563 mm y 33,125 mm respectivamente, según la prueba de Tukey podemos observar que este subconjunto es homogéneo, pero a la vez el que presenta mayor efecto inhibitorio significativamente al resto de tratamientos.

**Tabla N°17: Comparaciones múltiples del Efecto antibacteriano del *O. vulgare* y de la Amoxicilina de 500mg a distintas concentraciones frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. HSD Tukey<sup>a</sup>**

**Comparaciones múltiples**

Variable : MEDIDAS DE HALO (mm)

HSD Tukey

(I) CONCENTRACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE OREGANO Y LA AMOXICILINA 500 mg	(J) CONCENTRACIÓN DE ACEITE ESENCIAL DE OREGANO Y LA AMOXICILINA 500 mg	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95 %	
					Límite inferior	Límite superior
3,6428 mg/mL AEO	4,5535 mg/mL AEO	-,8125	1,5469	1,000	-6,311	4,686
	6,3749 mg/mL AEO	-3,3750	1,5469	,735	-8,873	2,123
	8,1963 mg/mL AEO	-4,3750	1,5469	,293	-9,873	1,123
	10,0177 mg/mL AEO	-6,3125*	1,5469	,010	-11,811	-,814
	11,8391 mg/mL AEO	-7,8750*	1,5469	,000	-13,373	-2,377
	13,6605 mg/mL AEO	-13,1250*	1,5469	,000	-18,623	-7,627
	15,4819 mg/mL AEO	-15,8750*	1,5469	,000	-21,373	-10,377
	17,3033 mg/mL AEO	-19,4375*	1,5469	,000	-24,936	-13,939
	4,5 mg/mL Amox.	4,4875	1,7637	,477	-1,781	10,756
	5,5 mg/mL Amox.	3,8875	1,7637	,720	-2,381	10,156
	6,5 mg/mL Amox.	3,1875	1,7637	,923	-3,081	9,456
	7,5 mg/mL Amox.	2,7875	1,7637	,975	-3,481	9,056
	8,5 mg/mL Amox.	2,3875	1,7637	,995	-3,881	8,656
	9,5 mg/mL Amox.	2,0875	1,7637	,999	-4,181	8,356
	10,5 mg/mL Amox.	1,9875	1,7637	,999	-4,281	8,256

	11,5 mg/mL Amox.	1,6875	1,7637	1,000	-4,581	7,956
4,5535 mg/mL AEO	3,6428 mg/mL AEO	,8125	1,5469	1,000	-4,686	6,311
	6,3749 mg/mL AEO	-2,5625	1,5469	,962	-8,061	2,936
	8,1963 mg/mL AEO	-3,5625	1,5469	,652	-9,061	1,936
	10,0177 mg/mL AEO	-5,5000*	1,5469	,050	-10,998	-,002
	11,8391 mg/mL AEO	-7,0625*	1,5469	,002	-12,561	-1,564
	13,6605 mg/mL AEO	-12,3125*	1,5469	,000	-17,811	-6,814
	15,4819 mg/mL AEO	-15,0625*	1,5469	,000	-20,561	-9,564
	17,3033 mg/mL AEO	-18,6250*	1,5469	,000	-24,123	-13,127
	4,5 mg/mL Amox.	5,3000	1,7637	,203	-,969	11,569
	5,5 mg/mL Amox.	4,7000	1,7637	,394	-1,569	10,969
6,5 mg/mL Amox.	4,0000	1,7637	,677	-2,269	10,269	
7,5 mg/mL Amox.	3,6000	1,7637	,820	-2,669	9,869	
8,5 mg/mL Amox.	3,2000	1,7637	,921	-3,069	9,469	
9,5 mg/mL Amox.	2,9000	1,7637	,965	-3,369	9,169	
10,5 mg/mL Amox.	2,8000	1,7637	,974	-3,469	9,069	
11,5 mg/mL Amox.	2,5000	1,7637	,991	-3,769	8,769	
6,3749 mg/mL AEO	3,6428 mg/mL AEO	3,3750	1,5469	,735	-2,123	8,873
	4,5535 mg/mL AEO	2,5625	1,5469	,962	-2,936	8,061
	8,1963 mg/mL AEO	-1,0000	1,5469	1,000	-6,498	4,498
	10,0177 mg/mL AEO	-2,9375	1,5469	,889	-8,436	2,561
	11,8391 mg/mL AEO	-4,5000	1,5469	,249	-9,998	,998
	13,6605 mg/mL AEO	-9,7500*	1,5469	,000	-15,248	-4,252
	15,4819 mg/mL AEO	-12,5000*	1,5469	,000	-17,998	-7,002

	17,3033 mg/mL AEO	-16,0625 <sup>+</sup>	1,5469	,000	-21,561	-10,564
	4,5 mg/mL Amox.	7,8625 <sup>+</sup>	1,7637	,003	1,594	14,131
	5,5 mg/mL Amox.	7,2625 <sup>+</sup>	1,7637	,008	,994	13,531
	6,5 mg/mL Amox.	6,5625 <sup>+</sup>	1,7637	,031	,294	12,831
	7,5 mg/mL Amox.	6,1625	1,7637	,059	-,106	12,431
	8,5 mg/mL Amox.	5,7625	1,7637	,109	-,506	12,031
	9,5 mg/mL Amox.	5,4625	1,7637	,165	-,806	11,731
	10,5 mg/mL Amox.	5,3625	1,7637	,188	-,906	11,631
	11,5 mg/mL Amox.	5,0625	1,7637	,270	-1,206	11,331
8,1963 mg/mL AEO	3,6428 mg/mL AEO	4,3750	1,5469	,293	-1,123	9,873
	4,5535 mg/mL AEO	3,5625	1,5469	,652	-1,936	9,061
	6,3749 mg/mL AEO	1,0000	1,5469	1,000	-4,498	6,498
	10,0177 mg/mL AEO	-1,9375	1,5469	,998	-7,436	3,561
	11,8391 mg/mL AEO	-3,5000	1,5469	,680	-8,998	1,998
	13,6605 mg/mL AEO	-8,7500 <sup>+</sup>	1,5469	,000	-14,248	-3,252
	15,4819 mg/mL AEO	-11,5000 <sup>+</sup>	1,5469	,000	-16,998	-6,002
	17,3033 mg/mL AEO	-15,0625 <sup>+</sup>	1,5469	,000	-20,561	-9,564
	4,5 mg/mL Amox.	8,8625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	2,594	15,131
	5,5 mg/mL Amox.	8,2625 <sup>+</sup>	1,7637	,001	1,994	14,531
	6,5 mg/mL Amox.	7,5625 <sup>+</sup>	1,7637	,005	1,294	13,831
	7,5 mg/mL Amox.	7,1625 <sup>+</sup>	1,7637	,010	,894	13,431
	8,5 mg/mL Amox.	6,7625 <sup>+</sup>	1,7637	,021	,494	13,031
	9,5 mg/mL Amox.	6,4625 <sup>+</sup>	1,7637	,036	,194	12,731
	10,5 mg/mL Amox.	6,3625 <sup>+</sup>	1,7637	,043	,094	12,631
	11,5 mg/mL Amox.	6,0625	1,7637	,069	-,206	12,331

10,0177 mg/mL AEO	3,6428 mg/mL AEO	6,3125 <sup>+</sup>	1,5469	,010	,814	11,811
	4,5535 mg/mL AEO	5,5000 <sup>+</sup>	1,5469	,050	,002	10,998
	6,3749 mg/mL AEO	2,9375	1,5469	,889	-2,561	8,436
	8,1963 mg/mL AEO	1,9375	1,5469	,998	-3,561	7,436
	11,8391 mg/mL AEO	-1,5625	1,5469	1,000	-7,061	3,936
	13,6605 mg/mL AEO	-6,8125 <sup>+</sup>	1,5469	,003	-12,311	-1,314
	15,4819 mg/mL AEO	-9,5625 <sup>+</sup>	1,5469	,000	-15,061	-4,064
	17,3033 mg/mL AEO	-13,1250 <sup>+</sup>	1,5469	,000	-18,623	-7,627
	4,5 mg/mL Amox.	10,8000 <sup>+</sup>	1,7637	,000	4,531	17,069
	5,5 mg/mL Amox.	10,2000 <sup>+</sup>	1,7637	,000	3,931	16,469
	6,5 mg/mL Amox.	9,5000 <sup>+</sup>	1,7637	,000	3,231	15,769
	7,5 mg/mL Amox.	9,1000 <sup>+</sup>	1,7637	,000	2,831	15,369
	8,5 mg/mL Amox.	8,7000 <sup>+</sup>	1,7637	,000	2,431	14,969
	9,5 mg/mL Amox.	8,4000 <sup>+</sup>	1,7637	,001	2,131	14,669
	10,5 mg/mL Amox.	8,3000 <sup>+</sup>	1,7637	,001	2,031	14,569
	11,5 mg/mL Amox.	8,0000 <sup>+</sup>	1,7637	,002	1,731	14,269
	11,8391 mg/mL AEO	3,6428 mg/mL AEO	7,8750 <sup>+</sup>	1,5469	,000	2,377
4,5535 mg/mL AEO		7,0625 <sup>+</sup>	1,5469	,002	1,564	12,561
6,3749 mg/mL AEO		4,5000	1,5469	,249	-,998	9,998
8,1963 mg/mL AEO		3,5000	1,5469	,680	-1,998	8,998
10,0177 mg/mL AEO		1,5625	1,5469	1,000	-3,936	7,061
13,6605 mg/mL AEO		-5,2500	1,5469	,078	-10,748	,248
15,4819 mg/mL AEO		-8,0000 <sup>+</sup>	1,5469	,000	-13,498	-2,502
17,3033 mg/mL AEO		-11,5625 <sup>+</sup>	1,5469	,000	-17,061	-6,064

	4,5 mg/mL Amox.	12,3625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	6,094	18,631
	5,5 mg/mL Amox.	11,7625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	5,494	18,031
	6,5 mg/mL Amox.	11,0625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	4,794	17,331
	7,5 mg/mL Amox.	10,6625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	4,394	16,931
	8,5 mg/mL Amox.	10,2625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	3,994	16,531
	9,5 mg/mL Amox.	9,9625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	3,694	16,231
	10,5 mg/mL Amox.	9,8625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	3,594	16,131
	11,5 mg/mL Amox.	9,5625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	3,294	15,831
13,6605 mg/mL AEO	3,6428 mg/mL AEO	13,1250 <sup>+</sup>	1,5469	,000	7,627	18,623
	4,5535 mg/mL AEO	12,3125 <sup>+</sup>	1,5469	,000	6,814	17,811
	6,3749 mg/mL AEO	9,7500 <sup>+</sup>	1,5469	,000	4,252	15,248
	8,1963 mg/mL AEO	8,7500 <sup>+</sup>	1,5469	,000	3,252	14,248
	10,0177 mg/mL AEO	6,8125 <sup>+</sup>	1,5469	,003	1,314	12,311
	11,8391 mg/mL AEO	5,2500	1,5469	,078	-,248	10,748
	15,4819 mg/mL AEO	-2,7500	1,5469	,932	-8,248	2,748
	17,3033 mg/mL AEO	-6,3125 <sup>+</sup>	1,5469	,010	-11,811	-,814
	4,5 mg/mL Amox.	17,6125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	11,344	23,881
	5,5 mg/mL Amox.	17,0125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	10,744	23,281
	6,5 mg/mL Amox.	16,3125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	10,044	22,581
	7,5 mg/mL Amox.	15,9125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	9,644	22,181
	8,5 mg/mL Amox.	15,5125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	9,244	21,781
	9,5 mg/mL Amox.	15,2125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	8,944	21,481
	10,5 mg/mL Amox.	15,1125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	8,844	21,381
	11,5 mg/mL Amox.	14,8125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	8,544	21,081

15,4819 mg/mL AEO	3,6428 mg/mL AEO	15,8750 <sup>+</sup>	1,5469	,000	10,377	21,373
	4,5535 mg/mL AEO	15,0625 <sup>+</sup>	1,5469	,000	9,564	20,561
	6,3749 mg/mL AEO	12,5000 <sup>+</sup>	1,5469	,000	7,002	17,998
	8,1963 mg/mL AEO	11,5000 <sup>+</sup>	1,5469	,000	6,002	16,998
	10,0177 mg/mL AEO	9,5625 <sup>+</sup>	1,5469	,000	4,064	15,061
	11,8391 mg/mL AEO	8,0000 <sup>+</sup>	1,5469	,000	2,502	13,498
	13,6605 mg/mL AEO	2,7500	1,5469	,932	-2,748	8,248
	17,3033 mg/mL AEO	-3,5625	1,5469	,652	-9,061	1,936
	4,5 mg/mL Amox.	20,3625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	14,094	26,631
	5,5 mg/mL Amox.	19,7625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	13,494	26,031
	6,5 mg/mL Amox.	19,0625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	12,794	25,331
	7,5 mg/mL Amox.	18,6625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	12,394	24,931
	8,5 mg/mL Amox.	18,2625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	11,994	24,531
	9,5 mg/mL Amox.	17,9625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	11,694	24,231
	10,5 mg/mL Amox.	17,8625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	11,594	24,131
	11,5 mg/mL Amox.	17,5625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	11,294	23,831
17,3033 mg/mL AEO	3,6428 mg/mL AEO	19,4375 <sup>+</sup>	1,5469	,000	13,939	24,936
	4,5535 mg/mL AEO	18,6250 <sup>+</sup>	1,5469	,000	13,127	24,123
	6,3749 mg/mL AEO	16,0625 <sup>+</sup>	1,5469	,000	10,564	21,561
	8,1963 mg/mL AEO	15,0625 <sup>+</sup>	1,5469	,000	9,564	20,561
	10,0177 mg/mL AEO	13,1250 <sup>+</sup>	1,5469	,000	7,627	18,623
	11,8391 mg/mL AEO	11,5625 <sup>+</sup>	1,5469	,000	6,064	17,061
	13,6605 mg/mL AEO	6,3125 <sup>+</sup>	1,5469	,010	,814	11,811
	15,4819 mg/mL AEO	3,5625	1,5469	,652	-1,936	9,061

	4,5 mg/mL Amox.	23,9250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	17,656	30,194
	5,5 mg/mL Amox.	23,3250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	17,056	29,594
	6,5 mg/mL Amox.	22,6250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	16,356	28,894
	7,5 mg/mL Amox.	22,2250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	15,956	28,494
	8,5 mg/mL Amox.	21,8250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	15,556	28,094
	9,5 mg/mL Amox.	21,5250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	15,256	27,794
	10,5 mg/mL Amox.	21,4250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	15,156	27,694
	11,5 mg/mL Amox.	21,1250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	14,856	27,394
4,5 mg/mL Amox.	3,6428 mg/mL AEO	-4,4875	1,7637	,477	-10,756	1,781
	4,5535 mg/mL AEO	-5,3000	1,7637	,203	-11,569	,969
	6,3749 mg/mL AEO	-7,8625 <sup>+</sup>	1,7637	,003	-14,131	-1,594
	8,1963 mg/mL AEO	-8,8625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-15,131	-2,594
	10,0177 mg/mL AEO	-10,8000 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-17,069	-4,531
	11,8391 mg/mL AEO	-12,3625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-18,631	-6,094
	13,6605 mg/mL AEO	-17,6125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-23,881	-11,344
	15,4819 mg/mL AEO	-20,3625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-26,631	-14,094
	17,3033 mg/mL AEO	-23,9250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-30,194	-17,656
	5,5 mg/mL Amox.	-,6000	1,9567	1,000	-7,555	6,355
	6,5 mg/mL Amox.	-1,3000	1,9567	1,000	-8,255	5,655
	7,5 mg/mL Amox.	-1,7000	1,9567	1,000	-8,655	5,255
	8,5 mg/mL Amox.	-2,1000	1,9567	1,000	-9,055	4,855
	9,5 mg/mL Amox.	-2,4000	1,9567	,998	-9,355	4,555
	10,5 mg/mL Amox.	-2,5000	1,9567	,997	-9,455	4,455
	11,5 mg/mL Amox.	-2,8000	1,9567	,991	-9,755	4,155

5,5 mg/mL Amox.	3,6428 mg/mL AEO	-3,8875	1,7637	,720	-10,156	2,381
	4,5535 mg/mL AEO	-4,7000	1,7637	,394	-10,969	1,569
	6,3749 mg/mL AEO	-7,2625 <sup>*</sup>	1,7637	,008	-13,531	-,994
	8,1963 mg/mL AEO	-8,2625 <sup>*</sup>	1,7637	,001	-14,531	-1,994
	10,0177 mg/mL AEO	-10,2000 <sup>*</sup>	1,7637	,000	-16,469	-3,931
	11,8391 mg/mL AEO	-11,7625 <sup>*</sup>	1,7637	,000	-18,031	-5,494
	13,6605 mg/mL AEO	-17,0125 <sup>*</sup>	1,7637	,000	-23,281	-10,744
	15,4819 mg/mL AEO	-19,7625 <sup>*</sup>	1,7637	,000	-26,031	-13,494
	17,3033 mg/mL AEO	-23,3250 <sup>*</sup>	1,7637	,000	-29,594	-17,056
	4,5 mg/mL Amox.	,6000	1,9567	1,000	-6,355	7,555
	6,5 mg/mL Amox.	-,7000	1,9567	1,000	-7,655	6,255
	7,5 mg/mL Amox.	-1,1000	1,9567	1,000	-8,055	5,855
	8,5 mg/mL Amox.	-1,5000	1,9567	1,000	-8,455	5,455
	9,5 mg/mL Amox.	-1,8000	1,9567	1,000	-8,755	5,155
	10,5 mg/mL Amox.	-1,9000	1,9567	1,000	-8,855	5,055
	11,5 mg/mL Amox.	-2,2000	1,9567	,999	-9,155	4,755
	6,5 mg/mL Amox.	3,6428 mg/mL AEO	-3,1875	1,7637	,923	-9,456
4,5535 mg/mL AEO		-4,0000	1,7637	,677	-10,269	2,269
6,3749 mg/mL AEO		-6,5625 <sup>*</sup>	1,7637	,031	-12,831	-,294
8,1963 mg/mL AEO		-7,5625 <sup>*</sup>	1,7637	,005	-13,831	-1,294
10,0177 mg/mL AEO		-9,5000 <sup>*</sup>	1,7637	,000	-15,769	-3,231
11,8391 mg/mL AEO		-11,0625 <sup>*</sup>	1,7637	,000	-17,331	-4,794
13,6605 mg/mL AEO		-16,3125 <sup>*</sup>	1,7637	,000	-22,581	-10,044
15,4819 mg/mL AEO		-19,0625 <sup>*</sup>	1,7637	,000	-25,331	-12,794

	17,3033 mg/mL AEO	-22,6250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-28,894	-16,356
	4,5 mg/mL Amox.	1,3000	1,9567	1,000	-5,655	8,255
	5,5 mg/mL Amox.	,7000	1,9567	1,000	-6,255	7,655
	7,5 mg/mL Amox.	-,4000	1,9567	1,000	-7,355	6,555
	8,5 mg/mL Amox.	-,8000	1,9567	1,000	-7,755	6,155
	9,5 mg/mL Amox.	-1,1000	1,9567	1,000	-8,055	5,855
	10,5 mg/mL Amox.	-1,2000	1,9567	1,000	-8,155	5,755
	11,5 mg/mL Amox.	-1,5000	1,9567	1,000	-8,455	5,455
7,5 mg/mL Amox.	3,6428 mg/mL AEO	-2,7875	1,7637	,975	-9,056	3,481
	4,5535 mg/mL AEO	-3,6000	1,7637	,820	-9,869	2,669
	6,3749 mg/mL AEO	-6,1625	1,7637	,059	-12,431	,106
	8,1963 mg/mL AEO	-7,1625 <sup>+</sup>	1,7637	,010	-13,431	-,894
	10,0177 mg/mL AEO	-9,1000 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-15,369	-2,831
	11,8391 mg/mL AEO	-10,6625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-16,931	-4,394
	13,6605 mg/mL AEO	-15,9125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-22,181	-9,644
	15,4819 mg/mL AEO	-18,6625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-24,931	-12,394
	17,3033 mg/mL AEO	-22,2250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-28,494	-15,956
	4,5 mg/mL Amox.	1,7000	1,9567	1,000	-5,255	8,655
	5,5 mg/mL Amox.	1,1000	1,9567	1,000	-5,855	8,055
	6,5 mg/mL Amox.	,4000	1,9567	1,000	-6,555	7,355
	8,5 mg/mL Amox.	-,4000	1,9567	1,000	-7,355	6,555
	9,5 mg/mL Amox.	-,7000	1,9567	1,000	-7,655	6,255
	10,5 mg/mL Amox.	-,8000	1,9567	1,000	-7,755	6,155
	11,5 mg/mL Amox.	-1,1000	1,9567	1,000	-8,055	5,855

8,5 mg/mL Amox.	3,6428 mg/mL AEO	-2,3875	1,7637	,995	-8,656	3,881
	4,5535 mg/mL AEO	-3,2000	1,7637	,921	-9,469	3,069
	6,3749 mg/mL AEO	-5,7625	1,7637	,109	-12,031	,506
	8,1963 mg/mL AEO	-6,7625*	1,7637	,021	-13,031	-,494
	10,0177 mg/mL AEO	-8,7000*	1,7637	,000	-14,969	-2,431
	11,8391 mg/mL AEO	-10,2625*	1,7637	,000	-16,531	-3,994
	13,6605 mg/mL AEO	-15,5125*	1,7637	,000	-21,781	-9,244
	15,4819 mg/mL AEO	-18,2625*	1,7637	,000	-24,531	-11,994
	17,3033 mg/mL AEO	-21,8250*	1,7637	,000	-28,094	-15,556
	4,5 mg/mL Amox.	2,1000	1,9567	1,000	-4,855	9,055
	5,5 mg/mL Amox.	1,5000	1,9567	1,000	-5,455	8,455
	6,5 mg/mL Amox.	,8000	1,9567	1,000	-6,155	7,755
	7,5 mg/mL Amox.	,4000	1,9567	1,000	-6,555	7,355
	9,5 mg/mL Amox.	-,3000	1,9567	1,000	-7,255	6,655
	10,5 mg/mL Amox.	-,4000	1,9567	1,000	-7,355	6,555
	11,5 mg/mL Amox.	-,7000	1,9567	1,000	-7,655	6,255
	9,5 mg/mL Amox.	3,6428 mg/mL AEO	-2,0875	1,7637	,999	-8,356
4,5535 mg/mL AEO		-2,9000	1,7637	,965	-9,169	3,369
6,3749 mg/mL AEO		-5,4625	1,7637	,165	-11,731	,806
8,1963 mg/mL AEO		-6,4625*	1,7637	,036	-12,731	-,194
10,0177 mg/mL AEO		-8,4000*	1,7637	,001	-14,669	-2,131
11,8391 mg/mL AEO		-9,9625*	1,7637	,000	-16,231	-3,694
13,6605 mg/mL AEO		-15,2125*	1,7637	,000	-21,481	-8,944
15,4819 mg/mL AEO		-17,9625*	1,7637	,000	-24,231	-11,694

	17,3033 mg/mL AEO	-21,5250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-27,794	-15,256
	4,5 mg/mL Amox.	2,4000	1,9567	,998	-4,555	9,355
	5,5 mg/mL Amox.	1,8000	1,9567	1,000	-5,155	8,755
	6,5 mg/mL Amox.	1,1000	1,9567	1,000	-5,855	8,055
	7,5 mg/mL Amox.	,7000	1,9567	1,000	-6,255	7,655
	8,5 mg/mL Amox.	,3000	1,9567	1,000	-6,655	7,255
	10,5 mg/mL Amox.	-,1000	1,9567	1,000	-7,055	6,855
	11,5 mg/mL Amox.	-,4000	1,9567	1,000	-7,355	6,555
10,5 mg/mL Amox.	3,6428 mg/mL AEO	-1,9875	1,7637	,999	-8,256	4,281
	4,5535 mg/mL AEO	-2,8000	1,7637	,974	-9,069	3,469
	6,3749 mg/mL AEO	-5,3625	1,7637	,188	-11,631	,906
	8,1963 mg/mL AEO	-6,3625 <sup>+</sup>	1,7637	,043	-12,631	-,094
	10,0177 mg/mL AEO	-8,3000 <sup>+</sup>	1,7637	,001	-14,569	-2,031
	11,8391 mg/mL AEO	-9,8625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-16,131	-3,594
	13,6605 mg/mL AEO	-15,1125 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-21,381	-8,844
	15,4819 mg/mL AEO	-17,8625 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-24,131	-11,594
	17,3033 mg/mL AEO	-21,4250 <sup>+</sup>	1,7637	,000	-27,694	-15,156
	4,5 mg/mL Amox.	2,5000	1,9567	,997	-4,455	9,455
	5,5 mg/mL Amox.	1,9000	1,9567	1,000	-5,055	8,855
	6,5 mg/mL Amox.	1,2000	1,9567	1,000	-5,755	8,155
	7,5 mg/mL Amox.	,8000	1,9567	1,000	-6,155	7,755
	8,5 mg/mL Amox.	,4000	1,9567	1,000	-6,555	7,355
	9,5 mg/mL Amox.	,1000	1,9567	1,000	-6,855	7,055

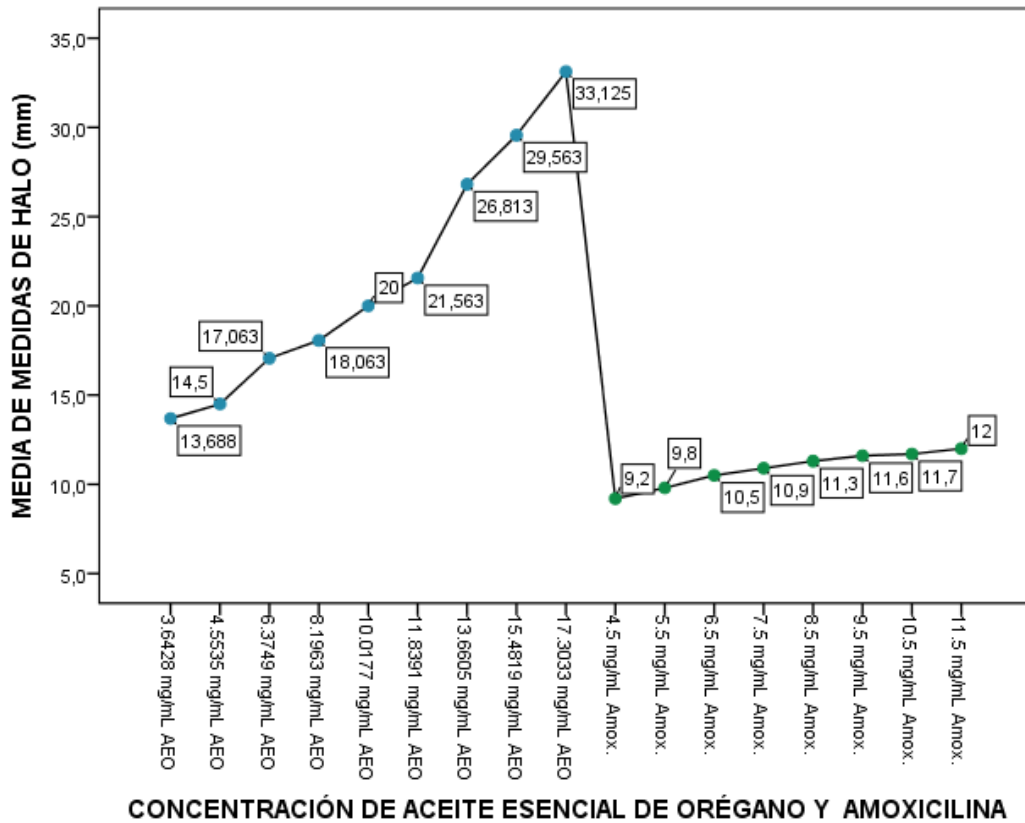
	11,5 mg/mL Amox.		-,3000	1,9567	1,000	-7,255	6,655
11,5 mg/mL Amox.	3,6428 mg/mL AEO		-1,6875	1,7637	1,000	-7,956	4,581
	4,5535 mg/mL AEO		-2,5000	1,7637	,991	-8,769	3,769
	6,3749 mg/mL AEO		-5,0625	1,7637	,270	-11,331	1,206
	8,1963 mg/mL AEO		-6,0625	1,7637	,069	-12,331	,206
	10,0177 mg/mL AEO		-8,0000*	1,7637	,002	-14,269	-1,731
	11,8391 mg/mL AEO		-9,5625*	1,7637	,000	-15,831	-3,294
	13,6605 mg/mL AEO		-14,8125*	1,7637	,000	-21,081	-8,544
	15,4819 mg/mL AEO		-17,5625*	1,7637	,000	-23,831	-11,294
	17,3033 mg/mL AEO		-21,1250*	1,7637	,000	-27,394	-14,856
	4,5 mg/mL Amox.		2,8000	1,9567	,991	-4,155	9,755
	5,5 mg/mL Amox.		2,2000	1,9567	,999	-4,755	9,155
6,5 mg/mL Amox.		1,5000	1,9567	1,000	-5,455	8,455	
7,5 mg/mL Amox.		1,1000	1,9567	1,000	-5,855	8,055	
8,5 mg/mL Amox.		,7000	1,9567	1,000	-6,255	7,655	
9,5 mg/mL Amox.		,4000	1,9567	1,000	-6,555	7,355	
10,5 mg/mL Amox.		,3000	1,9567	1,000	-6,655	7,255	

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05.

Fuente: SPSS Statistics v24

En la tabla N°17 se puede observar las comparaciones múltiples entre cada tratamiento de las concentraciones del Aceite esencial de Orégano y la Amoxicilina de 500mg.

Estadísticamente el tratamiento 1 (4,5 mg/mL) de la amoxicilina presenta mayor diferencia significativa con casi todos los tratamientos del aceite esencial a excepción del primer (3,6428 mg/mL) y segundo (4,5535 mg/mL), mientras que el Tratamiento 8 (11,5 mg/mL) de la amoxicilina presenta diferencia estadísticamente a partir del Tratamiento 5 hasta el tratamiento 9 del aceite esencial de Orégano.



**Figura N° 7:** Comparación de la inhibición del aceite esencial de *O. vulgare* y la Amoxicilina de 500mg en base a las concentraciones dadas frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

**Fuente:** Tabla N° 17

## DISCUSIÓN

Se llevó a cabo la presente investigación de Comparación del aceite esencial de Orégano y la amoxicilina de 500mg frente al *Streptococcus pyogenes*, con el objetivo de comprobar la actividad antibacteriana sobre este microorganismo.

El aceite esencial de Orégano fue obtenido por medio del método arrastre de vapor donde se obtuvo un rendimiento de 0,70 % aproximadamente.

Para determinar la sensibilidad antibacteriana *in vitro*, se utilizó el método recomendado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005), se estandarizó el inóculo a escala *Mc Farland* obteniendo  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL y se procedió a realizar el antibiograma, para ello se tomó en cuenta las pautas de *Duraffourd y Lapraz* que consideran que los aceites esenciales tienen un rango de actividad: Nula, sensibilidad límite, sensibilidad media y sumamente sensible.

En la tabla N° 7 se puede observar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, por el método de difusión en disco (Kirby Bauer). La concentración inicial de 3,6428 mg/mL donde se obtuvo un halo de inhibición de 13,688 mm, este halo fue incrementando según la concentración aumentaba hasta el tratamiento 9 con 17,3033 mg/mL, obteniendo un halo de inhibición de 33,125 mm, lo que nos indica que es directamente proporcional; es decir, si hay mayor concentración mayor será el diámetro del halo de inhibición.

Esto se puede evidenciar debido a que el aceite esencial de *Origanum vulgare* presenta compuestos fenólicos como el timol y el carvacrol, compuestos terpénicos (monoterpenos y sesquiterpenos) y en menor cantidad p-cimeno y g-terpineno <sup>(22)</sup> <sup>(27)</sup>. El carvacrol es uno de los compuestos más investigados y es capaz de desintegrar la membrana externa de las bacterias, permitiendo la salida de lipopolisacáridos e incrementando la permeabilidad de la membrana citoplasmática, provocando con ello la salida del ATP, inhibición de la actividad de las ATPasas y disminución de la fuerza motriz del protón.

Estos resultados se contrastan con los obtenidos en Turquía por Neslihan Dikbas, et al. donde evaluaron la actividad antibacteriana de diferentes aceites esenciales en correlación con sus principales componentes frente a bacterias gram positivas y gram negativas en el 2009 <sup>(16)</sup>; en este estudio se trabajaron con 5 plantas medicinales; dentro de ellas se encontró el *Origanum acutidens* y *Origanum rotundifolium*, frente a 6 cepas patógenas, una de ellas fue *Streptococcus pyogenes* ATCC 176 en el caso del *Origanum acutidens* presentó un halo de inhibición frente al *S.pyogenes* de 27,0 mm y en cuanto al *Origanum rotundifolium* presentó un halo de inhibición frente al *S.pyogenes* de 21,66 mm, esto se contrasta a lo obtenido en su composición química, el primero presento mayor cantidad de carvacrol con un 87 %, mientras que el segundo presento 64,6 % de carvacrol en nuestro caso el promedio de halo obtenido fue de 13,6875 mm a 33,125 mm, con esto podemos afirmar que los compuestos fenólicos y los alcoholes terpénicos tienen relación con la inhibición bacteriana; en cuanto a lo obtenido en esta investigación el promedio máximo de halo resulto 33,125 mm, esto se puede deber al porcentaje de compuestos que presenta el aceite.

Julian Sfeir, investigó en Francia diferentes bacterias dentro de ellas el *Streptococcus pyogenes* frente a dos especies de Orégano en el 2013,

el primero el *Origanum compactum* presentó un halo de inhibición de 35 a 48 mm; mientras, que el *Origanum majorana* obtuvo un halo de inhibición de 9 a 13 mm <sup>(20)</sup>, en nuestro caso los halos llegaron a tener un promedio de 33,125 mm, según Sfeir, esto se debe a la composición química presentada en cada una de las especies; el primero carvacrol, timol y el segundo alcoholes terpénicos, es por ello la diferencia de halos.

En la tabla N° 8, se puede observar la actividad antibacteriana de la Amoxicilina de 500 mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 donde se trabajó con volúmenes de 9 µL, 11 µL, 13 µL, 15 µL, 17 µL, 19 µL, 21 µL, 23 µL las cuales presentaban concentraciones de 4,5 mg/mL; 5,5 mg/mL; 6,5 mg/mL; 7,5 mg/mL; 8,5 mg/mL; 9,5 mg/mL; 10,5 mg/mL; 11,5 mg/mL, dando como resultado halos de: 9,20 mm; 9,80 mm; 10,50 mm; 10,90 mm; 11,30 mm; 11,60 mm; 11,70 mm; 12,0 mm respectivamente; es decir, que a mayor concentración, mayor es el halo de inhibición por lo tanto podemos afirmar que el tratamiento es directamente proporcional. Esto se contrasta con los resultados obtenidos por Zárate que evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* "Tara" sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo en Perú, 2014 <sup>(23)</sup>. En dicho estudio; se comparó el *Streptococcus pyogenes* y la

amoxicilina; obteniendo un promedio de Halos de 13 mm, esto se puede relacionar con lo obtenido en nuestra investigación; debido a que el mayor promedio de halo de amoxicilina frente al *Streptococcus pyogenes* nos resulta 12 mm; sin embargo; la diferencia de halos es de 1 mm, y esto se puede deber a la cepa utilizada en cada trabajo, en el caso de Zárate una cepa aislada de pacientes, en nuestro caso una cepa ATCC.

En la tabla N° 9 se aprecia el grado de sensibilidad del *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente al aceite esencial de *Origanum vulgare*, donde el aceite esencial llega a tener a partir del tratamiento 5 resultados sumamente sensibles (20 a 33,13 mm). Estos resultados se relacionan con los obtenidos por Neslihan Dikbas en Turquía, el 2009; presentando el *Origanum acutidens* un tratamiento sumamente sensible (promedio de 27 mm), frente al *Streptococcus pyogenes*; también, Julian Sfeir en Francia, en el 2013, realizó una investigación con respecto al *Origanum compactum* frente al *Streptococcus pyogenes* resultando tener un tratamiento sumamente sensible (35 a 48 mm); en nuestro caso resultó ser sumamente sensible a partir del tratamiento 5 hasta el 9 (20 a 33,13 mm); esto se debe, a que las tres especies son de Orégano, pero de subespecie diferente, por lo tanto el porcentaje de principio activo tiende a variar.

En la tabla N° 10 se aprecia el grado de sensibilidad del *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 frente a la Amoxicilina, donde la amoxicilina llega a presentar una sensibilidad límite (9,2 a 12 mm). Estos datos se contrastan con los obtenidos por Zarate en Perú, el 2014, llegando la Amoxicilina a tener una sensibilidad límite (promedio de 13 mm); al igual que en nuestro caso (promedio máx. 12 mm).

En la tabla N° 11 y 12 se observa el Análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de *Tukey* respectivamente, del efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, donde la significancia nos resulta 0,00, infiriéndose que los tratamientos difieren entre sí. Al igual que en la tabla N° 13 y 14 se observa el Análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de *Tukey* respectivamente, de la Amoxicilina frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, donde la significancia también nos resulta 0,00; resultando que los tratamientos difieren entre sí; sin embargo, hay diferencia entre los subgrupos, en el caso de la amoxicilina presenta 3 subgrupos (grupos de halos) y en el caso del Aceite esencial de Orégano presenta 6 subgrupos (grupos de halos); es decir, la diferencia entre halos es mayor en el Aceite esencial de Orégano frente a la Amoxicilina; esto se debe a que entre halo y halo en el caso de la amoxicilina, aún en concentraciones aumentadas, la diferencia es

mínima; mientras que en el caso del aceite esencial de Orégano; si la concentración aumenta, hay mayor diferencia entre promedios de halos, por eso, tiende a tener mayor cantidad de subgrupos.

En la tabla N° 15 y 16 apreciamos la comparación del efecto antibacteriano del *Origanum vulgare* y la Amoxicilina de 500mg frente al *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) y la Prueba de Tukey, En la tabla N° 15 nos resulta un ANOVA con una significancia de 0,00; es decir, hay diferencia estadísticamente significativa, afirmando la hipótesis donde al menos uno de los tratamientos difieren entre sí; por lo tanto el programa estadístico nos da la Prueba de Tukey (Tabla N° 16) relacionando todos los tratamientos entre sí, donde encontramos diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Diferentes investigadores afirman la actividad antibacteriana del Orégano frente al *Streptococcus pyogenes* dentro de ellos Birol Özkalp, et al, realizaron una investigación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de Orégano frente a 21 bacterias patógenas en Turquía, 2010 <sup>(18)</sup> por microdilución; de las cuales una de ellas fue el *Streptococcus pyogenes* donde se obtuvo una CMI de 64 µg/mL; si bien, la investigación utiliza un método diferente a la nuestra, Birol Özkalp, et al, afirman la actividad

antibacteriana del *Origanum vulgare* frente al *Streptococcus pyogenes* como una alternativa terapéutica ante las patologías que puedan causar esta bacteria.

Magi, Marini y Facinelli, efectuaron un estudio de la actividad antimicrobiana de 5 aceites esenciales; carvacrol y el sinergismo de carvacrol con eritromicina frente a un grupo clínico resistente a la faringoamigdalitis en Italia, 2015 <sup>(21)</sup>; la bacteria patógena se aisló de un grupo de niños con faringoamigdalitis, y los aceites esenciales utilizados fueron *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita*, y *Melaleuca alternifolia*, de las cuales el aceite esencial de orégano obtuvo la menor CMI siendo 256 µg/mL; mientras, que la obtención de carvacrol frente al *Streptococcus pyogenes* fue de una CMI entre 64 µg/mL y la sinergia que se efectuó entre el carvacrol y la eritromicina obtuvo una CMI entre 2 a 16 µg/mL. Si bien; Magi, Marini y Facinelli, utilizaron el mismo método de Birol Özkalp, et al, esto nos afirma una vez más que el aceite esencial de Orégano presenta actividad antibacteriana frente al *Streptococcus pyogenes*.

En diferentes investigaciones como Martino L, et al, investigaron la composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare L.* de tres quimiotipos en Italia, 2009, utilizaron 10 diferentes cepas patógenas dentro de las cuales una de ellas era Gram positivo, el *Streptococcus faecalis* ATCC 29212. El efecto antibacteriano de los tres quimiotipos de Orégano de las localidades de Furore, Sanza y San Giovanni a Piro fueron una CMI de 50 µg/mL, 50 µg/mL y 100 µg/mL respectivamente <sup>(17)</sup>. Otra investigación realizada por Guerra B, llamada la evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional en México, 2011. Una de las plantas utilizadas en dicha investigación fue el *Origanum majorana* que se utilizaron contra diferentes bacterias, dentro de ellas el *Streptococcus pyogenes*, aislado clínicamente, y resultó con una CMI de 125 µg/mL, estas dos investigaciones se realizaron por el método de microdilución<sup>(19)</sup>, afirmando ambos investigadores la actividad antibacteriana del Orégano frente al *Streptococcus pyogenes*. En la investigación de Zárate; evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Caesalpinia spinosa* “Tara” sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli* aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo en Perú, 2014 <sup>(23)</sup>; resultando el mayor promedio de halo de 17 mm con una concentración de 500 µL por cada 10 discos (aprox.

50  $\mu\text{L}$ ), en nuestro caso el mayor promedio de halo nos resultó 33,13 mm con una concentración de 19  $\mu\text{L}$ , pudiendo afirmar que el Aceite esencial de Orégano presenta mayor actividad antibacteriana que la Tara, al igual que los dos autores anteriores; Martino L, et al, y Guerra B, donde afirman la actividad antibacteriana del Orégano.

Por último existen diferentes principios activos dentro del orégano como Carvacrol y Timol, la mayoría de ellos presenta actividad antibacteriana; esto nos facilita como otra alternativa terapéutica para la mejora de la salud del paciente; debido, que en la actualidad se están presentando resistencia bacteriana frente a los antibióticos actuales y más utilizados; sin embargo, aún se requieren estudios para la extracción de los compuestos fenólicos y terpénicos, como también la formulación de una forma farmacéutica con técnicas validadas y probadas en animales de experimentación, seguido de un arduo seguimiento toxicológico, para luego ser posible el uso en pacientes que necesitan otra alternativa.

## CONCLUSIONES

- PRIMERA:** El aceite esencial del *O. vulgare* del distrito de Jorge Basadre, de la Región de Tacna presenta una mayor actividad antibacteriana *in vitro* con respecto a la amoxicilina de 500 mg sobre el *S. pyogenes* ATCC 19615, tal como se planteó en la hipótesis principal.
- SEGUNDA:** El aceite esencial de *O. vulgare* demostró actividad antibacteriana *in vitro* frente al *S. pyogenes* ATCC 19615, resultando halos de 13,69 mm a una concentración de 3,6428 mg/ml hasta 33,13 mm a una concentración 17,30 mg/ml. El resultado encontrado está acorde a la hipótesis planteada.
- TERCERA:** La amoxicilina de 500 mg presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente al *S. pyogenes* ATCC 19615, resultando halos de 9,2 mm a una concentración de 4,5 mg/ml hasta 12,0 mm a una concentración 11,5 mg/ml, de las cuales se encuentra

dentro de una sensibilidad límite. Siendo, acorde a la hipótesis planteada.

**CUARTA:** El aceite esencial de Orégano frente a la Amoxicilina 500 mg sobre el ***S. pyogenes ATCC 19615***, presenta diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los tratamientos, con respecto a su actividad antibacteriana; debido a que su significancia es menor que 0,05; estando acorde a la hipótesis planteada.

## RECOMENDACIONES

1. Realizar trabajos de investigación que identifiquen los principios activos del Aceite esencial de ***O. vulgare***, con el fin de determinar exactamente cuál es el principio activo que produce la actividad antibacteriana.
2. Realizar estudios de la actividad antibacteriana del aceite esencial de ***O. vulgare*** y sus principios activos frente a otros microorganismos de importancia clínica hospitalaria.
3. Realizar pruebas ***in vivo*** para valorar la toxicidad que pueden aportar los principios activos de ***O. vulgare*** para determinar las dosis terapéuticas y tóxicas.
4. Formular y validar formas farmacéuticas en base al aceite esencial del ***O. vulgare*** como otra opción para los pacientes que presenten enfermedades por ***S. pyogenes***.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Muñoz O, Montes M, Wilkomirsky T. Plantas medicinales de uso en Chile, Química y Farmacología. 1° ed. Santiago de Chile : Editorial Universitaria S.A. ; 1999. p. 13.
2. (OMS) OMDIS. Estrategia de la OMS sobre la Medicina Tradicional 2014 al 2023. [Sede web].; 2014 [citado el 5 de Julio del 2016. Disponible en : [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098_spa.pdf).
3. Puelles M, Gómez V, Gabriel JM, Moris G. Las Plantas Medicinales del Perú. 1° ed. Madrid: Los libros de la Catarata; 2010.
4. Gerrero L, Nuñez MJ. Obtención de Aceites esenciales de Eucalipto y Orégano. Scielo (Lima): Tesis; 1991. p. 73-79.
5. Rodríguez R, Calderón-Jaimes E, Gómez-Barreto D, Espinosa-de los Monteros LE. Características de la resistencia antimicrobiana de una colección clínica de Streptococcus pyogenes. Scielo México. 2000 Junio; XLII(3).
6. (REIPI). Instituto de Salud Carlos III. [Sede web].; 2012 [citado el 20 de enero del 2017. Disponible en:

<http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-el-instituto/fd-comunicacion/fd-noticias/19-julio-2012-AMC.shtml>.

7. Salud Md. Seguro Integral de Salud. [Sede web].; 2010 [citado el 30 de julio del 2016]. disponible en : [http://www.sis.gob.pe/ipresspublicas/biblioteca/pdf/Estudio\\_Epidemi\\_o\\_Distrib\\_Frec\\_Atenc.pdf](http://www.sis.gob.pe/ipresspublicas/biblioteca/pdf/Estudio_Epidemi_o_Distrib_Frec_Atenc.pdf).
8. Guevara J, Aguirre J, Valencia E, Williams F, Cuéllar E, Barboza Myo. Prevalencia de Streptococcus beta hemolítico en pacientes con faringoamigdalitis aguda, en un hospital de la ciudad de Chachapoyas, Amazonas. SciELO Perú. 2008 Mayo; LXIX(2).
9. Álvarez M, Castro R, Abdo A, Orta SD, Gómez M, Álvarez MdP. Infecciones respiratorias altas recurrentes. Algunas consideraciones. Revista Cubana de Medicina General Integral. 2008 Marzo; 24(1).
10. Perez J. Ministerio de Salud - Estadísticas. [Sitio Web].; 2015 [citado 19 de septiembre del 2016]. Disponible en : <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/CEMacros.asp?23>.
11. Ecker L, Ochoa T, Vargas M, Del Valle L, Ruiz J. Preferencias de uso de antibióticos en niños menores de cinco años por médicos de centros de salud de primer nivel en zonas periurbanas de Lima, Perú.

Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. 2013  
Abril; XXX(2).

12. Laboratorio de infecciones Intrahospitalarias, CNSP - INS. Informe de la resistencia antimicrobiana en bacterias de origen hospitalario-2012. Reporte. Lima: Ministerio de Salud, Departamento de infecciones Intrahospitalarias; 2012.
13. Lock de Ugaz O. Investigación Fotoquímica , Metodos en el Estudio de productos Naturales. 2nd ed. Lock de Ugaz O, editor. Lima: PUCP; 1994.
14. (MINSA) MdS. Ministerio de Salud - IRAs. [Sede web].; 2009 [citado el 11 de Julio del 2016. Disponible en : <http://www.minsa.gob.pe/portada/Especiales/2009/iras/index.html>.
15. Medeiros Leite A, Lima EdO, Leite de Souza E, Formiga MdF, Nogueira V, Almeida de Medeiros I. Efecto inhibitorio de eugenol, beta-pineno y alfa-pineno sobre el crecimiento de bacterias Gram-positivas potencialmente causadoras de endocarditis Infecciosa. Scielo - Brasil. 2007 Marzo; XLIII(1).
16. Dikbas N, Kotan R, Dadasoglu F, Karagöz K, Çakmakçı R. Actividad antibacteriana de diferentes aceites esenciales en correlación con sus principales componentes frente a bacterias gram positivas y gram

- negativas. Turkish Journal of Science & Technology. 2009 marzo; IV(1, 57-64).
17. De Martino L, De Feo V, Formisano C, Mignola E, Senatore F. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. de tres quimiotipos al sur de Italia. *Molecules - Italia*. 2009 Julio; XIV(1, 2735-2746).
  18. Birol Ö, Fatih S, Mustafa Ö, Mehmet MÖ. The antibacterial activity of essential oil of oregano (*Origanum vulgare* L.). *Science and Technology*. 2010 Febrero; 8(2).
  19. Guerra Boone L. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional. 2011. Tesis, Universidad Autónoma de Nueva León, México.
  20. Sfeir J, Lefrançois C, Baudoux D, Derbré S, Licznar P. actividad antibacterial in vitro de 18 aceites esenciales frente al *Streptococcus pyogenes*. *Hindawi Publishing Corporation*. 2013 Marzo; I(269161).
  21. Magi G, Marini E, Facinelli B. Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A Streptococci. *Frontiers in Microbiology - NCBI*. 2015 Marzo; VI(165).

22. Albado E, Saez G, Gabriel Ataucusi S. Composición química y actividad antibacteriana del Aceite Esencial Origanum Vulgare (Orégano ). Revista Médica Heredía , Universidad Nacional Federico Villarreal. 2001; 12(1).
23. Zárate MA. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de Caesalpinia spinosa “Tara” sobre cepas de Streptococcus pyogenes y escherichia coli aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo en el año 2014. Pueblo Continente - Universidad Privada Antenor Orrego ,Perú. 2015 Enero; XXVI(1).
24. Rivas S, Diaz T, Prieto J, Loidi J, Penas A. La vegetación de la alta montaña cantábrica. Los Picos de Europa. Primera ed. Rivas S, Diaz T, Prieto J, Loidi J, Penas A, editors. Madrid: Leonesas; 1984.
25. Corporación Colombiana Internacional. Asohofrucol. [Sitio web].; 2007 [citado el 17 de Noviembre del 2016]. Disponible en: [http://www.asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca\\_28\\_PH N.pdf](http://www.asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca_28_PH N.pdf).
26. Muñoz F. Plantas medicinales y Aromaticas. In Muñoz F, editor. Plantas medicinales y Aromaticas. Madrid: Mundi-prensa Libros; 2002. p. 257-264.

27. Stashenko E, Martínez J, Ruíz C, Arias G, Durán C, Salgar W, et al. Lippia origanoides chemotype differentiation based on essential oil GC-MS and principal component analysis. Pub Med. 2010 Enero; XXXIII(1, 93-103).
28. Organics Facts. Organics Facts. [Sitio web].; 2016 [citado el 19 de Noviembre del 2016]. Disponible en : <https://www.organicfacts.net/health-benefits/oregano.html>.
29. Arcilla Lozano C, Loarca G, Lecona S, Gonzales de Mejía E. El orégano: Propiedades , composicion y actividad biologica de sus componentes. Archivos Latinoamericanos de Nutricción. 2004; 54(1).
30. Martínez-Tomé M, Jiménez A, Ruggieri S, Frega S, Strabbioli R, Murcia M.. Antioxidant properties of Mediterranean spices compared with common food additives. Food Protect. 2001 Enero; LXIV(9, 1412-1419).
31. Herbs. Herbs - Exploring the Medicinal Uses of Oregano. [Sitio web].; 2016 [citado 20 de Noviembre del 2016]. Disponible en: [http://herbs.lovetoknow.com/Medicinal\\_Uses\\_of\\_Oregano](http://herbs.lovetoknow.com/Medicinal_Uses_of_Oregano).
32. Llana-Ruiz-Cabello M, Maisanaba S, Puerto M, Camean A. A subchronic 90-day oral toxicity study of Origanum vulgare essential oil in rats. Pubmed-Food and Chemical Toxicology. 2017 Enero; CI(1).

33. Dweck AC. Toxicology of essential oils reviewed. Essential oils. 2009 Enero; II.
34. Ortuño Sanchez M. Manual Practico de Aceites Esenciales , Aromas y Perfumes. Primera ed. Ortuño Sanchez M, editor. España : Aiyana; 2006.
35. Martinez A. Universidad de Antioquia , Aceites Esenciales. [Sitio web].; 2003 [citado 12 de Julio del 2016]. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>.
36. Sistema Nacional de Aprendizaje SENA. SENA. [Sede web].; 2013 [citado 20 de Noviembre del 2016]. Disponible en: [http://repositorio.sena.edu.co/bitstream/11404/1144/1/ACEITES\\_ES ENCIALES\\_EXTRAIDOS\\_DE\\_PLANTAS\\_MEDICINALES\\_Y\\_ AROMATICAS.pdf](http://repositorio.sena.edu.co/bitstream/11404/1144/1/ACEITES_ES ENCIALES_EXTRAIDOS_DE_PLANTAS_MEDICINALES_Y_ AROMATICAS.pdf).
37. Lopez T. Los aceites esenciales , Aplicaciones farmacologicas, cosmeticas y alimentarias. OFFARM - Ámbito farmacéutico. 2004 Julio; XXIII(7).
38. Bermudez PA. Aceites esenciales. [Sitio web].; 2012 [citado de Noviembre del 2016]. Disponible en: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema7.pdf>.

39. Albarracín G, Gallo S. Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando piper aduncum (cordoncillo) procedente de la zona cafetera. Primera ed. Albarracín G, Gallo S, editors. Medellín: TESIS; 2003.
40. Davis P. Aromaterapia de la A a la Z. Décima ed. Davis P, editor. Madrid: EDAF S.L. ; 2006.
41. Olaya J, Méndez J. Guia de plantas y productos medicinales. Segunda ed. Acero L, Rodriguez L, Yesid H, editors. Bogotá: CAB, Ciencia y tecnología; 2005.
42. Bandoni A. Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. Primera ed. Bandoni A, editor. Buenos Aires: CYTED ; 2002.
43. UNAD. Técnicas de Extracción y Concentración. [Sede web].; 2012 [citado 15 de Noviembre del 2016]. Disponible en: [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/401552/Capitulo\\_4/44enfleurage.html](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/401552/Capitulo_4/44enfleurage.html).
44. Farmacopea de los Estados Unidos 38 - NF 33. Amoxicilina. Segunda ed. 33 FdIEU3, editor. Maryland: U.S. Pharmacopeial Convention; 2015.
45. Centro colaborador de La Administración Nacional de Medicamentos, alimentos y Tecnología Médica -ANMAT. Instituto químico biológico.

- [Sede web].; 2015 [citado el 20 de Noviembre del 2016]. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/a051.htm>.
46. DIGEMID MdS. Centro de Atención Farmacéutica. [Sede web].; 2011 [citado el 20 de Noviembre del 2016]. Disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Amoxicilina.pdf>.
  47. Vademécum. Vademécum Farmacológico - Terapéutico. Tercera ed. Lemus I, editor. Santiago de Chile: Andre Bello; 1991.
  48. Rivera M. Estreptococo Beta Hemolítico grupo A. Biblioteca de Salud Honduras. 1998 Junio; XIX(2).
  49. Loncón G, Ullrich C, Yucra L. Streptococcus pyogenes. [Sede web].; 2007 [citado el 20 de Noviembre del 2016]. Disponible en: <http://streptococcus-pyogenes4.blogspot.pe/>.
  50. Lara L. Factores de virulência em Streptococcus pyogenes. Primera ed. Lara L, editor. Lisboa: TESIS ; 2010.
  51. Zartash Zafar K. Medscape. [Sede web].; 2016 [20 de Noviembre del 2016]. Disponible en: <http://emedicine.medscape.com/article/228936-overview#a2>.
  52. Lamas F, Sastre G. Faringoamigdalitis Estreptocócica. Primera ed. Lamas F, editor. Buenos Aires: OSECAC; 2010.

53. Álvez F, Sanchez J. Asociación Española de Pediatría. [Sede web].; 2013 [20 de Noviembre del 2016]. Disponible en: <http://www.aeped.es>.
54. Amaro J. Streptococcus. 2012. (Diapositivas).
55. Cots J, Alós JI, Bárcena M, Boleda X, Cañada J, Gómez N, et al. Guía clínica para el manejo de la faringoamigdalitis aguda del adulto. Sociedad Española de Farmacia familiar y comunitaria. 2015 Marzo; VII(1).
56. español W. Wikilengua - Terminesp. [Sede web].; 2011 [citado el 16 de Agosto del 2017]. Disponible en: [http://www.wikilengua.org/index.php/Terminesp:actividad\\_antimicrobiana](http://www.wikilengua.org/index.php/Terminesp:actividad_antimicrobiana).
57. Rivas C, Mota M. Bacterias Anaerobias. [Sede web].; 2008 [citado el 16 de Agosto del 2017]. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteriasAnaerobias.pdf>.
58. Infomed Glosarios. Glosario de Terminos farmacológicos. [Sede web].; 2011 [citado 16 de Marzo del 2017]. Disponible en: <http://glosario.sld.cu/terminos-farmacologicos/2011/04/29/concentracion/>.

59. Escamedic. Escamedic. [Sede web].; 2010 [citado el 16 de Marzo del 2017]. Disponible en : <http://www.esacademic.com/dic.nsf/eswiki/801131/M%C3%A9todo>.
60. Prat S. Instituto de Salud Pública - Chile. [Sede web].; 2010 [citado el 10 de Noviembre del 2016]. Disponible en: [http://www.ispch.cl/lab\\_sal/doc/manual\\_susceptibilidad.pdf](http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/manual_susceptibilidad.pdf).
61. online B. Propiedades del Orégano. [Sede web].; 1999-2016 [citado el 12 de Julio del 2016]. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/medicinalsoreganocastella.htm>.
62. Cavalieri S, al. e. National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS. [Sede web].; 2005 [20 de Noviembre del 2016]. Disponible en: [file:///C:/Users/PC1/Downloads/manual-pruebas-susceptib-antim-2005%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/PC1/Downloads/manual-pruebas-susceptib-antim-2005%20(2).pdf).
63. Añanca E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Tesis. Tacna: UNJBG, Escuela de Farmacia y Bioquímica; 2009.

# **ANEXOS**

**ANEXO N° 1:**



**Figura N°8:** **A)** Lugar de la planta en la Provincia Jorge Basadre Grohmann (Coraguaya) **B)** Planta de Orégano.

## ANEXO N°2



**Figura N° 9:** Extracción por arrastre de vapor del Aceite esencial de Orégano.

### ANEXO N°3

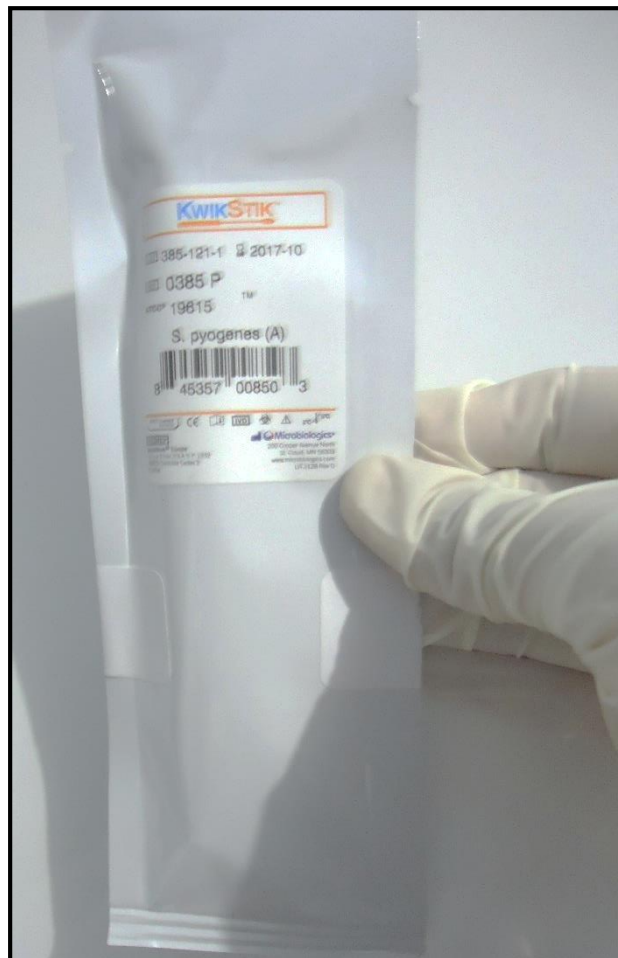


Figura N° 10: Cepa Bacteriana: *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

#### ANEXO N° 4



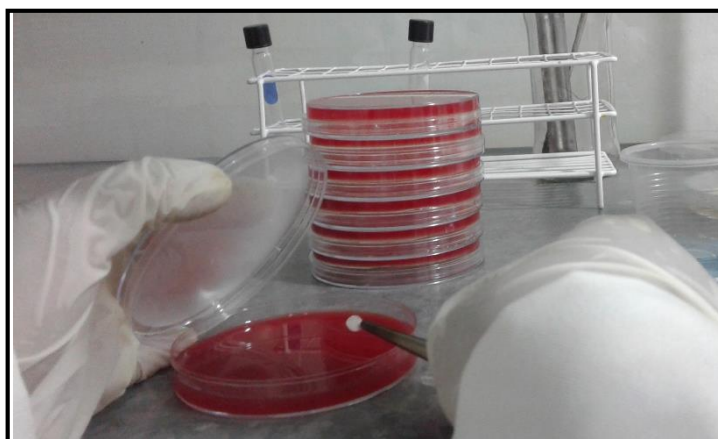
**Figura N° 11:** Inóculo llevado a la Escala Mc Farland (0,083 a 625 nm) por medio del Espectrofotómetro Jenway 6300

#### ANEXO N° 5

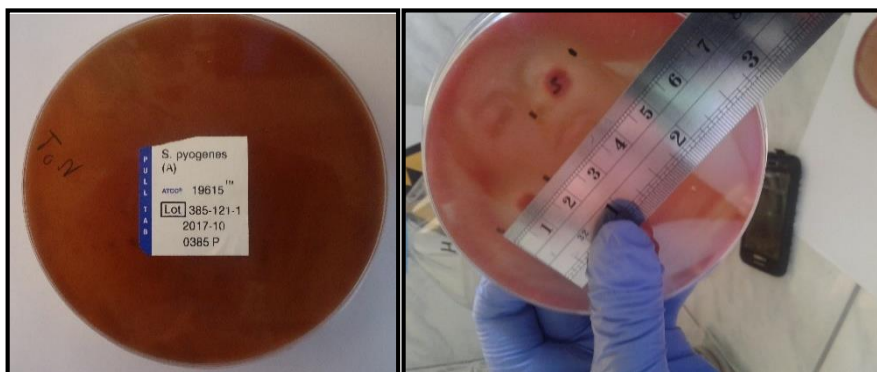


**Figura N° 12:** Incubación de la bacteria en jarra de anaerobiosis por 48 h a 5 % CO<sub>2</sub>

## ANEXO N° 6



**Figura N°13:** Aplicación del Aceite esencial en discos de papel filtro sobre el *S. pyogenes* ATCC 19615

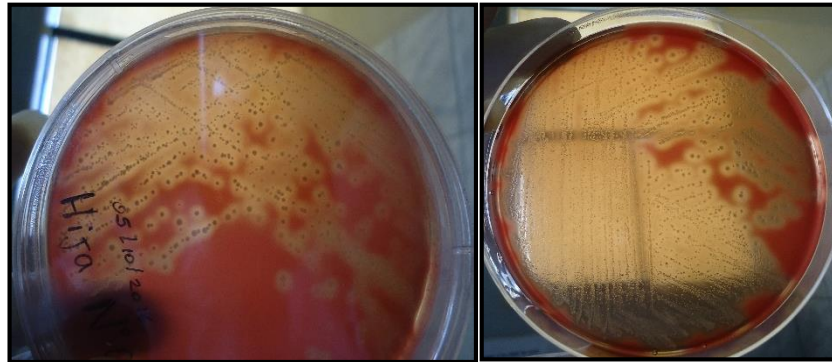


**(a)**

**(b)**

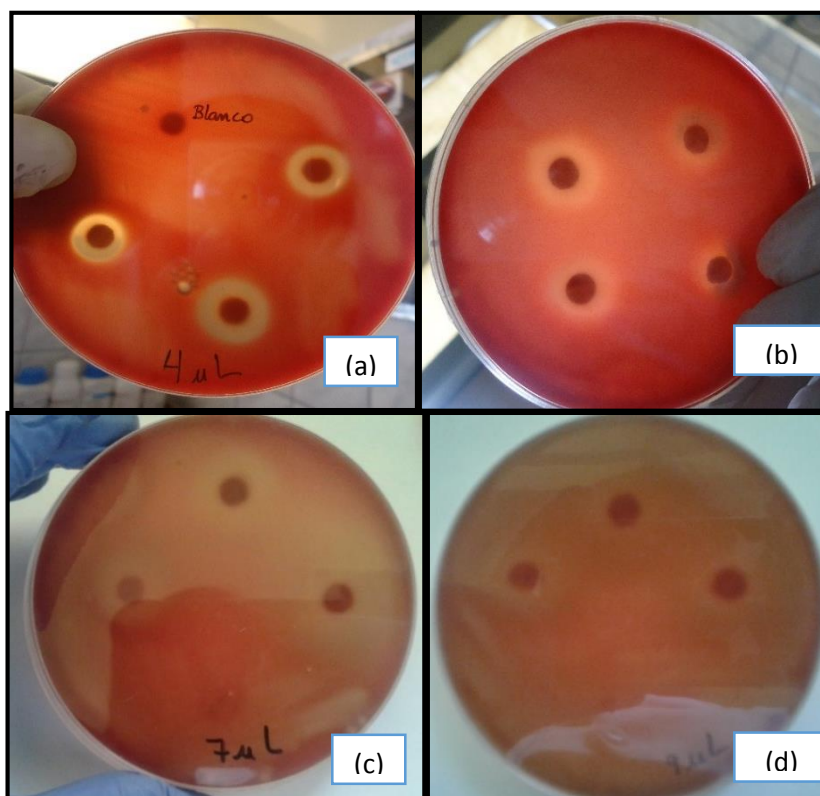
**Figura N° 14:** a) Se observa la cepa madre activada

b) Medición de halos del aceite esencial frente al *S. pyogenes* ATCC 19615.

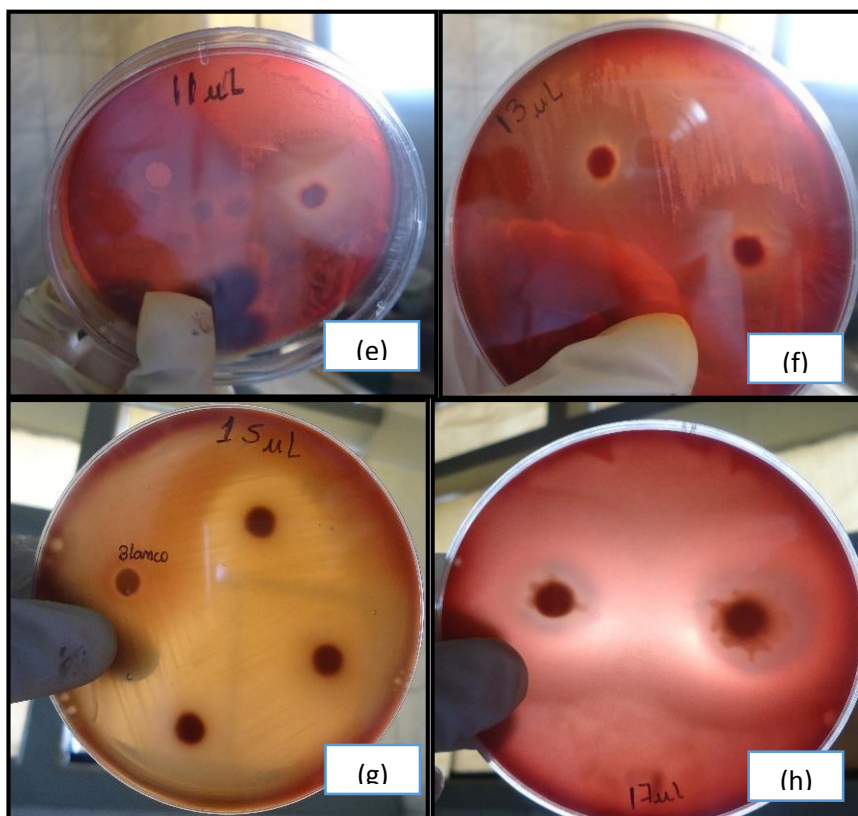


**Figura N° 15:** En ambas Imágenes se observa la bacteria ***Streptococcus pyogenes* ATCC 19615**

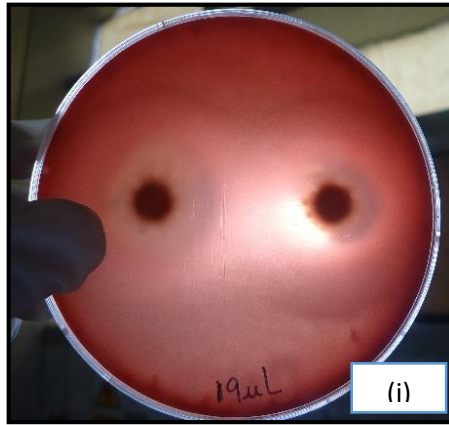
## ANEXO N° 7



**Figura N° 16 A:** a) Halos de inhibición a 4 $\mu$ L (3,6428 mg/mL)  
b) Halos de inhibición a 5 $\mu$ L (4,5535 mg/mL)  
c) Halos de inhibición a 7 $\mu$ L (6,3749 mg/mL)  
d) Halos de inhibición a 9 $\mu$ L (8,1963 mg/mL)



**Figura N° 16 B:** e) Halos de inhibición a 11 $\mu$ L (10,0177 mg/mL)  
f) Halos de inhibición a 13 $\mu$ L (11,8391 mg/mL)  
g) Halos de inhibición a 15 $\mu$ L (13,6605 mg/mL)  
h) Halos de inhibición a 17 $\mu$ L (15,4819 mg/mL)



**Figura N° 16 C: i)** Halos de inhibición a 19µL (17,3033 mg/mL).

## ANEXO N° 8



Figura N°17: Fármaco genérico: Amoxicilina 500 mg, Lote; 1051355.

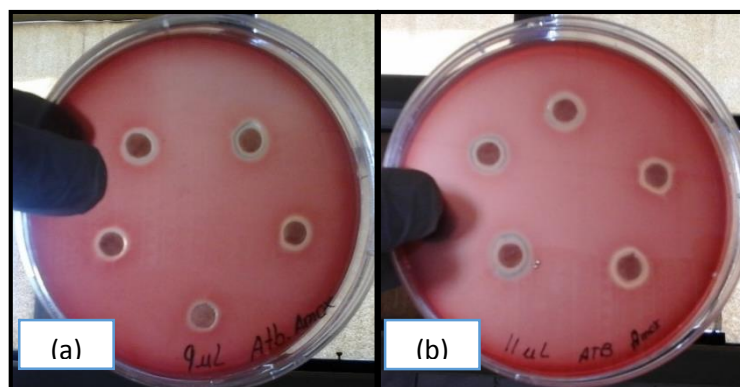
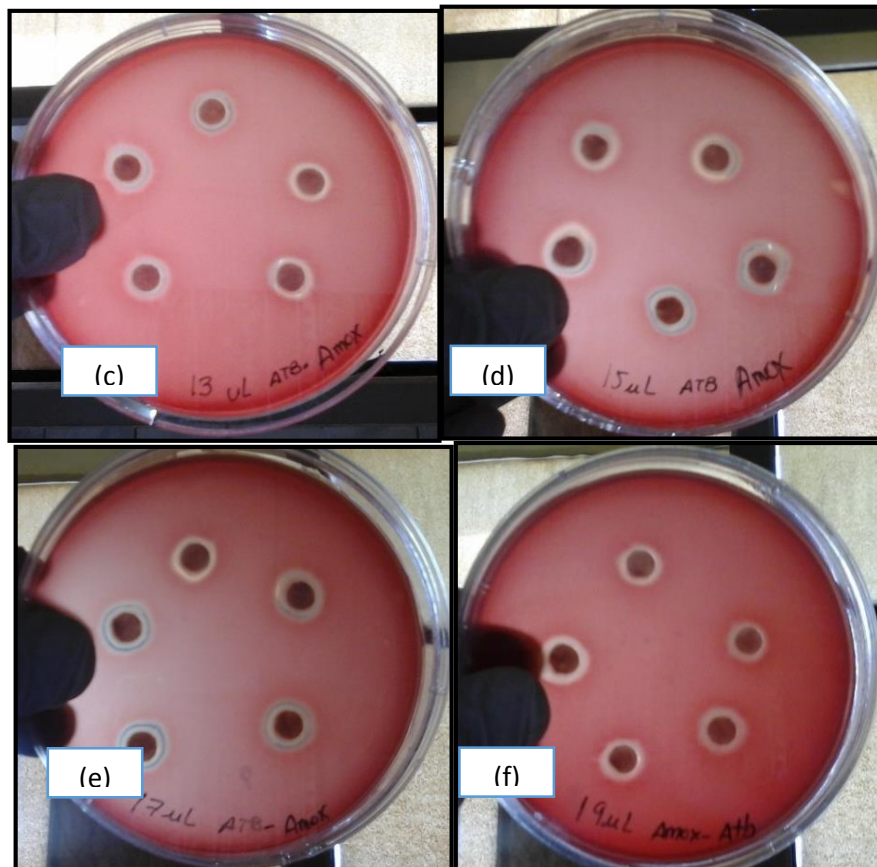
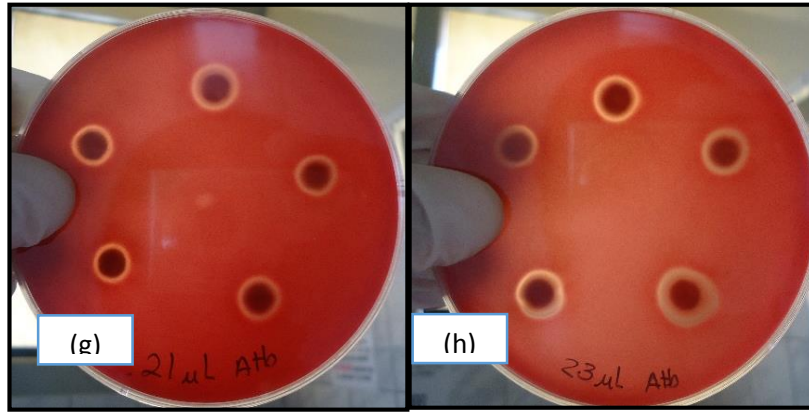


Figura N° 18 A: a) Halos de inhibición a 9µL (4, 5 mg/mL).  
b) Halos de inhibición a 11µL (5,5 mg/mL).



**Figura N° 18 B:** **c)** Halos de inhibición a 13 $\mu$ L (6,5 mg/mL)  
**d)** Halos de inhibición a 15 $\mu$ L (7,5 mg/mL)  
**e)** Halos de inhibición a 17 $\mu$ L (8,5 mg/mL)  
**f)** Halos de inhibición a 19 $\mu$ L (9,5 mg/mL)



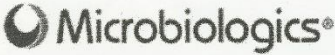

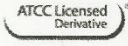

**Figura N° 18 C:** g) Halos de inhibición a 21 $\mu$ L (10,5 mg/mL).

h) Halos de inhibición a 23 $\mu$ L (11,5 mg/mL).



ANEXO N° 10

Certificado de Cepa *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 (group A)

	
<b>Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release</b>	
<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> <i>Streptococcus pyogenes</i> (group A) <b>Catalog Number:</b> 0385 <b>Lot Number:</b> 385-121 <b>Reference Number:</b> ATCC® 19615™* <b>Purity:</b> < 0.1% Total Pellet CFU <b>Recovery:</b> > 1000 CFUs per Pellet <b>Passage from Reference:</b> 4	<b>Expiration Date:</b> 2017/10/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Christine Condon <b>Release Date:</b> 2015/12/1
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types, both are circular, convex, entire edge; one is medium & beta hemolytic, other is small and alpha hemolytic, turning to beta as culture ages. <b>Microscopic Features:</b> Gram positive cocci	<b>Medium:</b> SBAP <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> Vitek GP (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Catalase(3% Hydrogen Peroxide): negative Bacitracin differential: Sensitive  <div style="text-align: center;">                       Brad Goskowicz, President                      AUTHORIZED SIGNATURE                 </div>
<small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
 TESTING CERT #2655.01	<small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>

## ANEXO N° 11

### Cromatografía en Capa fina del Aceite esencial de *Origanum vulgare*



**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS**  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166  
 ✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apdo. 1350  
 AREQUIPA - PERU



**INFORME DE ENSAYO**  
**N° DE INFORME: ANA31C17.002622**

---

<b>Nombre del Cliente</b>	: MANYELA ESTHER MAMANI CHOQUE
<b>Dirección del Cliente</b>	: URB LOS SAUCES MZ C LT2 PROLONG. ESPINOZA CUELLAR CERCADO TACNA
<b>RUC</b>	: NO CORRESPONDE
<b>Condición del Muestreo</b>	: POR EL CLIENTE
<b>Descripción</b>	: ACEITE ESENCIAL DE OREGANO
<b>Tamaño de muestra</b>	: 3 mL
<b>Fecha de Recepción</b>	: 22/03/2017
<b>Fecha de Inicio del Ensayo</b>	: 22/03/2017
<b>Fecha de Emisión de Informe</b>	: 31/03/2017
<b>Página</b>	: 1 de 2

---

**I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:**

ANÁLISIS	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS Metodología thin layer chromatography (TLC)	Se determinó Presencia de : Mono terpenos, di terpenos, Timol ( compuesto de coloración azul) carvacrol ( compuesto color violeta)

**OBSERVACIONES:**

- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL –DA.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad




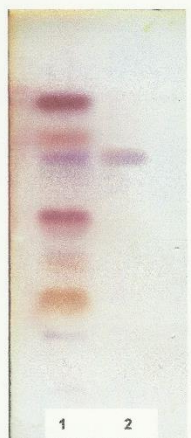



Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez  
COFEA 00624  
**ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC**



## ANEXO N° 11

### Cromatografía en Capa fina del Aceite esencial de *Origanum vulgare*

	<b>UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA</b> FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD	
	<small>Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166 ✉ laboratorioensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apto. 1350 AREQUIPA - PERU</small>	
<b>INFORME DE ENSAYO</b> <b>N° DE INFORME: ANA31C17.002622</b>		
<hr/>		
<b>Nombre del Cliente</b>	: MANYELA ESTHER MAMANI CHOQUE	
<b>Dirección del Cliente</b>	: URB LOS SAUCES MZ C LT2 PROLONG. ESPINOZA CUELLAR CERCADO TACNA	
<b>RUC</b>	: NO CORRESPONDE	
<b>Condición del Muestreado</b>	: POR EL CLIENTE	
<b>Descripción</b>	: ACEITE ESENCIAL DE OREGANO	
<b>Tamaño de muestra</b>	: 3 mL	
<b>Fecha de Recepción</b>	: 22/03/2017	
<b>Fecha de Inicio del Ensayo</b>	: 22/03/2017	
<b>Fecha de Emisión de Informe</b>	: 31/03/2017	
<b>Página</b>	: 2 de 2	
<hr/>		
		
<b>DETERMINACIÓN GENERAL DE METABOLITOS SECUNDARIOS (TERPENOS):</b> TLC (1 muestra, 2 tímol estandar)		
Fase Móvil: TOLUENO: ACETATO DE ETILO 70:30		
Revelador: Vainillina (1%) Acido Sulfúrico (5%)		
		

## ANEXO N°12: MATRIZ DE CONSISTENCIA

“COMPARACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare*) Y LA AMOXICILINA DE 500 MG FRENTE AL *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, TACNA 2016”

FORMULACION DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA	TÉCNICAS / INSTRUMENTOS
<p><b>PROBLEMA PRINCIPAL</b> ¿Existe diferencia entre la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) y la Amoxicilina de 500 mg frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?</p>	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b> Comparar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) y la Amoxicilina de 500 mg frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p>	<p><b>HIPÓTESIS GENERAL</b> Existe diferencia entre la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) y la Amoxicilina de 500 mg frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p>	<p><b>VARIABLE 1:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del Orégano (<i>Origanum vulgare</i>)</li> </ul> <p><b>VARIABLE 2:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de la Amoxicilina de 500 mg.</li> </ul> <p><b>VARIABLE INTERVINIENTE:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Cepa de Estudio: <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615</li> </ul> <p><b>Indicadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Nula (-)</li> <li>Sensible (+)</li> <li>Muy sensible (++)</li> <li>Sumamente sensible (+++)</li> <li>Crecimiento Bacteriano.</li> </ul>	<p><b>TIPO DE ESTUDIO:</b> Dado que queremos determinar la existencia de relación entre variables, el tipo de investigación no experimental, aplicada, analítica.</p> <p><b>NIVEL DE INVESTIGACIÓN:</b> Es una investigación Correlacional</p> <p><b>DISEÑO DE INVESTIGACION</b> Es una investigación comparativa.</p> <p><b>MUESTRA:</b> Cepas Hijas del <i>Streptococcus pyogenes</i> estas serán llevadas a la Escala Mc Farland 0.5.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Criterios de Inclusión: Cepas que han formado colonias.</li> <li>Criterios de Exclusión: Cepas que no han formado colonias y cepas contaminadas.</li> </ul> <p><b>MUESTREO :</b> El muestreo que se utilizará es Muestreo no Probabilístico por conveniencia.</p>	<p><b>TÉCNICAS ESTADÍSTICAS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Descriptivas: Tablas, media, Figuras, Prueba de significación de Turkey, Análisis de varianza ANOVA.</li> </ul> <p><b>INSTRUMENTOS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Hoja de recolección de datos.</li> <li>Soporte informático.</li> </ul>
<p><b>ENUNCIADOS SECUNDARIOS</b> ¿Cuál es la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?</p>	<p><b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p>	<p><b>HIPÓTESIS ESPECÍFICAS</b> La actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 presenta grado de sensibilidad.</p>	<p><b>VARIABLE INTERVINIENTE:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Cepa de Estudio: <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615</li> </ul>		
<p>¿Cuál es la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de la Amoxicilina de 500 mg frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?</p>	<p>Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de la Amoxicilina de 500 mg frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615</p>	<p>La actividad antibacteriana <i>in vitro</i> de la Amoxicilina de 500 mg frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615 presenta grado de sensibilidad.</p>			
<p>¿Existe diferencia estadísticamente significativa entre la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) y la Amoxicilina de 500 mg frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615?</p>	<p>Determinar si la diferencia en la Actividad Antibacteriana <i>in vitro</i> es estadísticamente significativa entre el Aceite esencial del Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) y la Amoxicilina de 500 mg frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p>	<p>Existe diferencia estadísticamente significativa entre la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del Orégano (<i>Origanum vulgare</i>) y la Amoxicilina de 500 mg frente al <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.</p>			