

Actividad antibacteriana *in vitro* de extracto etanólico crudo de las hojas de *Origanum vulgare*, frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922

In vitro antibacterial activity of crude ethanolic extract from the leaves of *Origanum vulgare*, against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922

Pérez-Delgado Orlando^{1*} , Alvarado-Pineda Rosa Liliana² , Yacarini-Martínez Antero Enrique² 

Datos del Artículo

¹Parque Científico Tecnológico.
Universidad Señor de Sipán.
Km 5 Carretera a Pimentel.
Chiclayo, Perú.
Tel: +51(074) 481610.

²Departamento de Ciencias de la Salud.
Facultad de Medicina.
Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo.
Av. San Josemaría Escrivá de Balaguer N° 855.
Chiclayo, Perú.
Tel: +51(074) 606200.

*Dirección de contacto:
Parque Científico Tecnológico.
Universidad Señor de Sipán.
Km 5 Carretera a Pimentel.
Chiclayo, Perú.
Tel: +51950630134

Orlando Pérez-Delgado
E-mail address : operezd@gmail.com

Palabras clave:

Origanum vulgare,
Staphylococcus aureus,
Pseudomonas aeruginosa,
Escherichia coli,
antibacteriano,
extracto etanólico.

J. Selva Andina Res. Soc.
2021; 12(1):21-29.

ID del artículo: 143/JSARS/2020

Historial del artículo.

Recibido septiembre 2020.
Devuelto noviembre 2020.
Aceptado diciembre 2020.
Disponible en línea, febrero 2021.

Editado por:
Selva Andina
Research Society

Keywords:

Origanum vulgare,
Staphylococcus aureus,
Pseudomonas aeruginosa,
Escherichia coli,
antibacterial,
ethanolic extract.

Resumen

El presente trabajo cuyo objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de hojas de *Origanum vulgare* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922. El estudio fue experimental, se emplearon 72 unidades experimentales, constituidas por un tipo de extracto etanólico tres concentraciones, tres especies bacterianas y 8 repeticiones por grupo experimental. A través del método de dilución doble seriada se determinaron las diferentes concentraciones, para la actividad antibacteriana se empleó el método de difusión en pozo. Se emplearon concentraciones de 80, 40 y 20 mg/mL. El extracto etanólico presentó actividad antibacteriana *in vitro*, con un promedio del tamaño los halos de inhibición para *S. aureus* de 21.64, 15.24 y 11.45 mm, *P. aeruginosa* 13.31, 12.27 y 7.35 mm, *E. coli* de 12.5, 11.40 y 10.6 mm para las diferentes concentraciones. Se concluye que el extracto etanólico de *O. vulgare* tienen capacidad antibacteriana sobre *S. aureus* ATCC 29213, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 25922.

2021. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

The present work whose objective was to evaluate the *in vitro* antibacterial activity of the ethanolic extract of *Origanum vulgare* leaves against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Escherichia coli* ATCC 25922. The study was experimental, 72 experimental units were used, consisting of a type of ethanolic extract three concentrations, three bacterial species and eight repetitions per experimental group. Through the serial double dilution method, the different concentrations were determined, for the antibacterial activity, the well diffusion method was used. Concentrations of 80 mg/mL, 40 mg/mL and 20 mg/mL were used. The ethanolic extract showed antibacterial activity *in vitro*, with an average size of the inhibition halos for *S. aureus* of 21.64, 15.24 and 11.45 mm, *P. aeruginosa* 13.31, 12.27 and 7.35 mm, *E. coli* 12.5, 11.40 and 10.6 mm for the different concentrations. It is concluded that the ethanolic extract of *O. vulgare* has antibacterial capacity on *S. aureus* ATCC 29213, *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *E. coli* ATCC 25922.

2021. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. All rights reserved.



Introducción

La aparición de microorganismos resistentes (MR), ya sea por mutaciones o la adquisición de elementos genéticos móviles que portan genes de resistencia, puede tener lugar independientemente de la presencia de agentes antibacterianos siendo una amenaza para la salud mundial¹.

En las últimas décadas, debido a la evolución de las bacterias y al abuso de antibióticos, la resistencia de *Staphylococcus aureus* ha aumentado gradualmente la tasa de infección por *S. aureus* multidrogo-resistente (MRSA) y el tratamiento clínico antiinfeccioso se ha vuelto más difícil². Inclusive existen estudios que señalan que el 63% de los aislados de MRSA producen biopelículas y con respuesta de resistencia a dos antibióticos como la eritromicina y clindamicina siendo cepas con genes formadores de biopelículas³.

Los hallazgos han demostrado la existencia de microbios resistentes a los antibióticos que en gran parte están presentes en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), siendo *Pseudomonas aeruginosa* responsable de una amplia gama de infecciones adquiridas en la UCI en pacientes críticamente enfermos⁴, siendo reportada la resistencia intrínseca o mutaciones cromosómica a través de adquisición de genes de resistencia frente a penicilinas, cefalosporinas, monobactams, carbapenémicos incluyendo a los aminoglucósidos y fluoroquinolonas⁵.

Por otro lado, se tiene a *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) como responsable de infecciones del tracto urinario, que posee un arsenal de genes de virulencia, el más frecuente el gen *fimH*, seguido de los genes: *aer*, *hly*, *pap*, *cnf*, *sfa* y *afa* que contribuyen a su capacidad para superar diferentes mecanismos de defensa y causar enfermedades⁶, además

de aislados de *E. coli* existe variación con respecto a la susceptibilidad de antibióticos como la cefotaxima, nitrofurantoína, cefuroxima, ceftazidima, ácido nalidíxico, ciprofloxacina e incluso la prevalencia de *E. coli* productora de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) se ha visto aumentado significativamente^{7,8}.

Las propiedades antibacterianas y antioxidantes del orégano se han atribuido principalmente al carvacrol y al timol, componentes principales de su aceite esencial que provocan alteraciones estructurales y funcionales en la membrana celular⁹⁻¹¹. También en un estudio, los extractos de hojas de *O. vulgare* se ha probado su actividad bactericida contra diferentes patógenos importantes en la acuicultura de peces¹²⁻¹⁴, con hallazgos de actividad frente bacterias causantes de enfermedades periodontales^{15,16}, inclusive es empleado en la estabilidad de almacenamiento de carnes para evitar su descomposición^{17,18}. La actividad antimicrobiana de los extractos de *O. vulgare*, tiene una predilección por bacterias gram positivas como *S. aureus*, pero varía frente a bacterias gram negativas como *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*¹⁹⁻²¹ e inclusive dependiendo del solvente como etanol y metanol permite el aislamiento de compuestos bioactivos de mucho interés en su acción antioxidante, antibacteriana y antifúngica²²⁻²⁴, como también su hallazgo con actividad antiviral²⁵.

Siendo posible el efecto antibacteriano del extracto etanólico, pueda presentar variaciones según sus concentraciones, se elaboró para la presente investigación cuyo objetivo fue, evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto etanólico de las hojas de *O. vulgare* frente a *S. aureus* ATCC 29213, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 25922.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio *in vitro* con diseño experimental de estímulo creciente²⁶, con extracto etanólico (EE) de *O. vulgare*, 3 concentraciones de cada extracto y con 8 repeticiones, como control positivo (CP) se empleó etanol y control negativo (CN) agua destilada estéril.

Del material vegetal. Se colectaron ejemplares de *O. vulgare* con ramas, hojas y flores²⁷, de cultivos aledaños en el distrito de Chiclayo, Región Lambayeque, Perú, de los cuales dos ejemplares fueron transportados al herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo para su identificación, luego se inició el proceso de desinfección de las hojas con alcohol de 95° GL. Posteriormente las hojas fueron secadas empleando una estufa a temperatura de 50 °C durante ocho horas. Despues, 500 g de hojas pasaron a la etapa de molienda hasta obtener material en polvo.

Preparación del extracto etanólico de O. vulgare. Para la preparación del EE²⁸, se maceraron 40 g de polvo *O. vulgare* y se agregaron 200 mL de etanol absoluto, en una botella de vidrio ámbar hermética, se agitó la botella diariamente durante una semana a temperatura ambiente, el producto fue filtrado con papel filtro Whatmann N° 40, se obtuvo un extracto libre de residuos, el filtrado se concentró en Soxhlet hasta sequedad, 2 g de residuo seco fue guardado en refrigeración a 2 °C en frasco de vidrio color ámbar. Para las concentraciones, 2 g de residuo seco se disolvió en 25 mL de etanol absoluto, obteniendo una solución madre de 80 mg/mL, se realizó diluciones dobles seriadas, obteniendo concentraciones de 40 mg/mL y 20 mg/mL.

Preparación del inóculo de S. aureus ATCC 29213, P. aeruginosa ATCC 27853 y E. coli ATCC 25922. Fueron adquiridas de la colección de cultivo tipo Americano ATCC (American Type Culture Collec-

tion) Culti-Loops™ Thermo Scientific™. Según las orientaciones de la Clinical and Laboratory Standars Institute²⁹, de 3 a 5 colonias de fueron seleccionadas de un cultivo en placa de agar Müller-Hinton después de 24 h. La parte superior de cada colonia se tocó con un asa y se transfirió a un tubo con 4-5 mL de caldo Müller-Hinton y con ayuda del densímetro (DEN-1B) se midió turbidez con absorbancias de 0.08-0.1 para bacterias equivalente a 0.5 del estándar de McFarland³⁰ obteniendo una suspensión bacteriana resultante de 1 a 2 x 10⁸ (UFC/mL). En un lapso de tiempo óptimo de 15 min después de ajustar la turbidez de la suspensión del inóculo, con una torunda de algodón se inoculó sobre toda la superficie de una placa de agar Müller-Hinton.

Actividad antibacteriana de los extractos de O. vulgare. A través del método de difusión en pozo³⁰, sobre las placas sembradas, se realizaron 4 perforaciones de 6 mm de diámetro, con un sacabocado y se colocaron 50 µL en cada pozo los extractos de orégano, como CP se empleó etanol y CN agua destilada estéril, posteriormente fueron selladas con parafilm, se incubó a 37 °C, por un período de 24 h, luego se procedió a medir el diámetro de inhibición.

Análisis estadístico. Para determinar la relación del efecto antibacteriano del EE de *O. vulgare* en el crecimiento bacteriano, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación de 0.05 y una Prueba de Tukey para la comparación de los extractos con el control positivo.

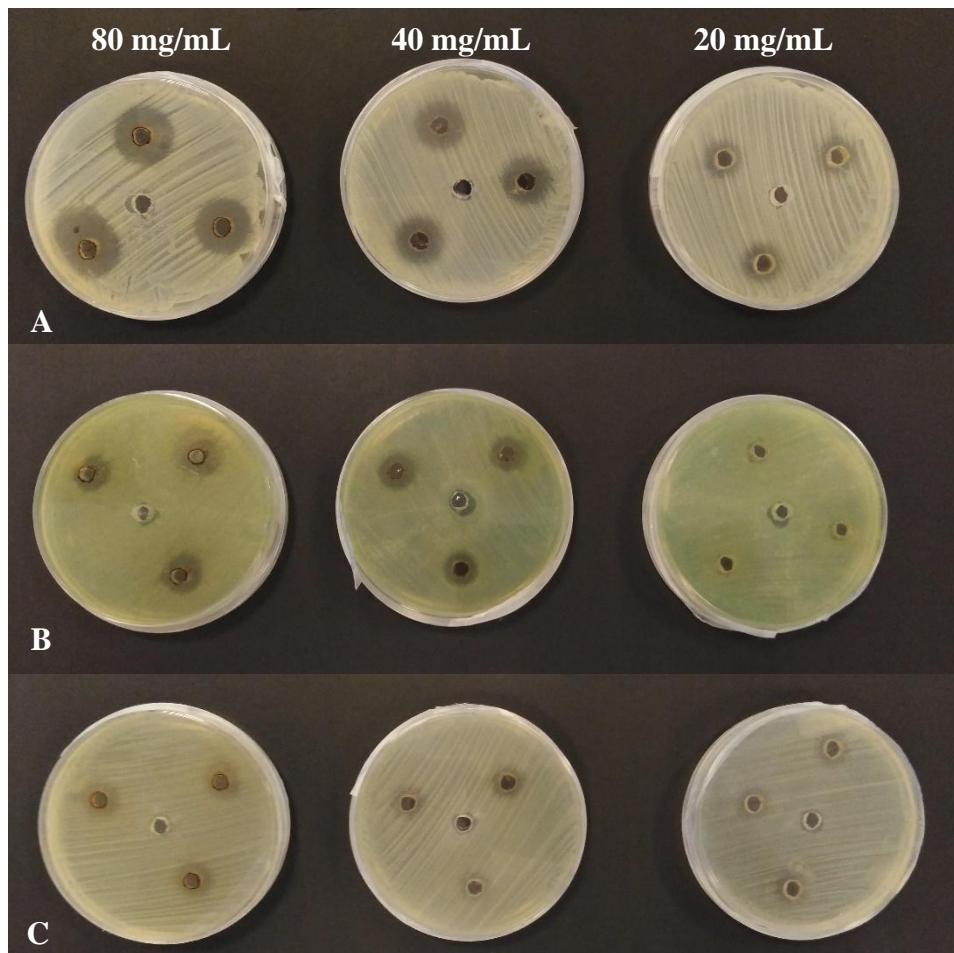
Resultados

En la figura 1, se presenta los resultados de la actividad antibacteriana del EE de *O. vulgare* en las concentraciones de 80, 40 y 20 mg/mL, frente una especie bacteriana gran positiva *S. aureus* ATCC 29213, dos especies de bacterias gran negativas

como *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 25922, además se observa que las cepas gran negativas ofrecen menor susceptibilidad en comparación a *S. aureus*, además, siendo posible observar que el

etanol activa los principios bioactivos presentes en el residuo seco de *O. vulgare*, siendo característica visible entre las concentraciones del extracto y el CP (etanol).

Figura 1 Actividad antibacteriana del extracto etanólico crudo de *O. vulgare* frente a (A) *S. aureus* ATCC 29213 (B) *P. aeruginosa* ATCC 27853 y (C) *E. coli* ATCC 25922



En la figura 2, se presenta el promedio de los tamaños de los halos inhibición del EE de *O. vulgare* en las concentraciones de 80, 40 y 20 mg/mL, se observa halos promedios de 21.64, 15.24 y 11.45 mm para *S. aureus*, para *P. aeruginosa* de 13.31, 12.27 y 7.35 mm, para *E. coli* 12.5, 11.4 y 10.6 mm, inclusive la actividad antibacteriana del etanol es menor en comparación al extracto.

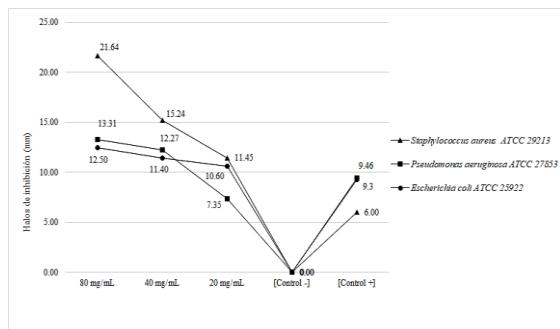
Discusión

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del EE de *O. vulgare* (Orégano).

Los resultados obtenidos en este estudio indican que el EE de *O. vulgare* posee propiedades antibacterianas inclusive, mayor actividad contra *S. aureus* ATCC 29213, en relación a *E. coli* ATCC 25922 y

P. aeruginosa ATCC 27853, en las concentraciones de 80, 40 y 20 mg/mL, respectivamente. De acuerdo a estudios realizados, han evidenciado una abundancia de hidrocarburos monoterpenicos y compuestos fenólicos, siendo los principales componentes el carvacrol, seguido de timol, p-cimeno y 1-octacosanol, compuestos que tienen una importante actividad antimicrobiana amplia frente a bacterias, hongos y levaduras^{9,31}.

Figura 2 Tamaño de los halos de inhibición (mm) de la actividad antibacteriana del extracto etanólico frente a *S. aureus* ATCC 29213 *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 25922



Así mismo, se observaron la presencia de halos promedios de: 21.64, 15.24 y 11.45 mm para *S. aureus* ATCC 29213, para *P. aeruginosa* ATCC 27853 de 13.31, 12.27 y 7.35 mm, y para *E. coli* ATCC 25922 de 12.5, 11.4 y 10.6. En otros estudios se han verificado que los EE tuvieron efecto antibacteriano contra cepas clínicas aisladas con resistencia múltiple de *S. aureus* con halos de inhibición de 10.44 mm, le sigue *E. coli* con 9.88 mm y *P. aeruginosa* con 9.77 mm a concentración de 400 mg/mL³², con nuestros resultados, en comparación con los hallazgos mencionados, se obtuvieron halos mayores, lo cual puede deberse a las cepas estándar ATCC utilizadas en el mencionado estudio, toda vez que se emplearon concentraciones de 80, 40 y 20 mg/mL para *S. aureus*, *E. coli* y *P. aeruginosa*. Siendo la cepa de *S. aureus* la que presentó mayor susceptibilidad con halo de inhibición de 21.64 mm

a la máxima concentración del extracto, le siguen las cepas de *P. aeruginosa* y *E. coli* (figura 1) en nuestro estudio como en el mencionado.

Asimismo, en otra investigación realizada en Irak reportó que dicho extracto de *O. vulgare* a una concentración de 50 y 100 mg/mL presentaron actividad antibacteriana frente a *S. aureus* con zonas de inhibición de 27-32 mm, seguido de *E. coli* de 25-29 mm y para *P. aeruginosa* de 19-28 mm³³, en comparación con nuestro estudio guarda coherencia y siendo *O. vulgare* una planta medicinal con potencial terapéutico y presencia de compuestos bioactivos capaces de inhibir el crecimiento de las bacterias.

Según Neira-Llerena³⁴, con el EE de *O. vulgare* se muestra como el de mayor actividad antimicrobiana en esta investigación, tras haber alcanzado los porcentajes y halos de inhibición más altos frente a *S. aureus* (16.65 mm) a concentración de 30 mg/mL, en nuestro estudio el tamaño del halo de inhibición a concentración de 80 mg/mL, fue de 21.64 mm, pero si comparamos en nuestro estudio a la concentración de 40 mg/mL fue de 15.24 mm en relación al estudio anterior a concentración de 30 mg/mL que es de 16.65 mm, los resultados son muy similares, señalando que actividad antibacteriana de orégano frente a *S. aureus* es efectiva para este microorganismo³⁴.

En cuanto a su actividad antimicrobiana, el resultado de la investigación ratifica que el EE del orégano, posee actividad antibacteriana frente a bacterias gram-positivas como *S. aureus* y sobre bacterias gram-negativas como *E. coli*, *P. aeruginosa*.

No obstante, otros estudios a través del método de microdilución reportaron variabilidad de la CMI del extracto etanólico de *O. vulgare* frente *S. aureus* de 500 µg/mL *E. coli* de 250 µg/mL y frente a *P. aeruginosa* no presentó actividad³⁵, asimismo también emplearon el aceite esencial de *O. vulgare* frente a

otros microorganismos clínicos, teniendo variabilidad en su acción antibacteriana siendo las cepas de *E. coli* entre las más resistentes a la acción antibacteriana de 24.8 a 28.6 µg/mL³⁶.

Los resultados de este trabajo permiten concluir que el extracto etanólico de *O. vulgare*, es capaz de producir compuestos con potencial antibacteriano frente a patógenos nosocomiales, lo que amerita continuar con la búsqueda de los componentes bioactivos responsables de esta actividad y así puedan emplearse como alternativa terapéutica para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias de importancia clínica, como también su aplicación en la conservación de alimentos.

Fuente de financiamiento

Apoyo del financiamiento del Vicerrectorado de Investigación - USAT y de los investigadores

Conflictos de intereses

Los autores declaramos no presentar conflictos de interés potenciales con respecto a la investigación, autoría y/o publicación de este artículo.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo por el apoyo técnico, científico y logístico realizado a la presente investigación.

Consideraciones éticas

Se respetaron los principios éticos de la investigación científica, así como la conducta responsable de

los investigadores y los principios universales de bioseguridad.

Aporte de los autores en el artículo

Orlando Pérez-Delgado, aportó con la obtención de los extractos, evaluación antibacteriana, análisis estadístico y su interpretación. *Rosa Liliana Alvarado-Pineda*, aportó con la redacción e interpretación de los resultados. *Antero Enrique Yacarini-Martínez*, aportó con la redacción y análisis de la discusión.

Literatura citada

1. Roca I, Akova M, Baquero F, Carlet J, Cavalieri M, Coenen S, et al. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New Microbes New Infect* 2015;6:22-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2015.02.007>
2. Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. *Front Cell Infect Microbiol* 2020;10:107. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00107>
3. Samadi R, Ghalavand Z, Mirnejad R, Nikmanesh B, Eslami G. Antimicrobial resistance and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children patients in Iran. *Infect Drug Resist* 2019;12:3849-57. DOI: <https://doi.org/10.2147 IDR.S229394>
4. Pachori P, Gothwal R, Gandhi P. Emergence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care unit; a critical review. *Genes Dis* 2019;6(2):109-19. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2019.04.001>
5. Botelho J, Grosso F, Peixe L. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*-Mechanisms, epidemiology and evolution. *Drug*

- Resist Updat 2019;44:26-47. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.drup.2019.07.002>
6. Dadi BR, Abebe T, Zhang L, Mihret A, Abebe W, Amogne W. Distribution of virulence genes and phylogenetics of uropathogenic *Escherichia coli* among urinary tract infection patients in Addis Ababa, Ethiopia. BMC Infect Dis 2020;20:108. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4844-z>
7. van Driel AA, Notermans DW, Meima A, Mulder M, Donker GA, Stobberingh EE, et al. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from uncomplicated UTI in general practice patients over a 10-year period. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2019;38(11):2151-8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03655-3>
8. Odongo I, Ssemambo R, Kungu JM, Prevalence of *Escherichia Coli* and its antimicrobial susceptibility profiles among patients with UTI at Mulago Hospital, Kampala, Uganda. Interdiscip Perspect Infect Dis 2020;8042540. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/8042540>
9. Coccimiglio J, Alipour M, Jiang ZH, Gottardo C, Suntres Z. Antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activities of the ethanolic *Origanum vulgare* extract and its major constituents. Oxid Med Cell Longev 2016;2016:1404505. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/1404505>
10. Brđanin S, Bogdanović N, Kolundžić M, Milenković M, Golić N, Kojić M, et al. Antimicrobial activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) and Basil (*Ocimum basilicum* L.) extracts. Adv Tech 2015;4(2):5-10. DOI: <https://doi.org/10.5937/savteh1502005B>
11. Sakkas H, Papadopoulou C. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. J Microbiol Biotechnol 2017;27(3):429-38. DOI: <https://doi.org/10.4014/jmb.1608.08024>
12. García Beltrán JM, Espinosa C, Guardiola FA, Esteban MA. In vitro effects of *Origanum vulgare* leaf extracts on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes, cytotoxic, bactericidal and antioxidant activities. Fish Shellfish Immunol 2018;79:1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.005>
13. Klūga A, Terentjeva M, Kántor A, Kluz M, Puchalski C, Kačániová M. Antibacterial activity of *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Origanum vulgare* L. and *Malva mauritiana* against bacterial microflora isolated from fish. Adv Res Life Sci 2017;1(1):75-80. DOI: <https://doi.org/10.1515/arls-2017-0013>
14. Bulfon C, Volpatti D, Galeotti M. In vitro antibacterial activity of plant ethanolic extracts against fish pathogens. J World Aquac Soc 2014; 45(5):545-57. DOI: <https://doi.org/10.1111/jwas.12151>
15. Akkauoi S, Johansson A, Yagoubi M, Haubek D, El hamidi A, Rida S, et al. Chemical composition, antimicrobial activity, in vitro cytotoxicity and leukotoxin neutralization of essential oil from *Origanum vulgare* against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Pathogens 2020;9(3):192. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens9030192>
16. Schovelin-H A, Muñoz-C M. Antibacterial effect of oregano infusion (*Origanum vulgare*) on in vitro growth of *Streptococcus mutans*, 2015. Int J Odontostomat 2018;12(4):337-42. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0718-381X2018000400337>
17. Hać Szymańczuk E, Cegielka A, Karkos M, Gniewosz M, Piwowarek K. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) preparations during storage of low-pressure mechanically separated meat (BAADER meat) from chickens. Food Sci Bio-

- technol 2018;28(2):449-57. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0491-1>
18. Possamai MCF, dos Santos IC, Silva ES, Gazim ZC, Gonçalves JE, Soares AA, et al. In vitro bacteriostatic activity of *Origanum vulgare*, *Cymbopogon citratus*, and *Lippia alba* essential oils in cat food bacterial isolates. Semin Ciênc Exatas Tecnol 2019;40(6Supl2):3107-22. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2019v40n6Supl2p3107>
19. Kozłowska M, Laudy AE, Przybył J, Ziarno M, Majewska E. Chemical composition and antibacterial activity of some medicinal plants from Lamiaceae family. Acta Pol Pharm 2015;72(4):757-67.
20. Oniga I, Puşcaş C, Silaghi Dumitrescu R, Olah NK, Sevastre B, Marica R, et al. *Origanum vulgare* ssp. *vulgare*: Chemical composition and biological studies. Molecules 2018;23(8):2077. DOI: <http://doi.org/10.3390/molecules23082077>
21. Boskovic M, Zdravkovic N, Ivanovic J, Janjic J, Djordjevic J, Starcevic M, et al. Antimicrobial activity of thyme (*Tymus vulgaris*) and oregano (*Origanum vulgare*) essential oils against some food-borne microorganisms. Procedia Food Sci 2015;5:18-21 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.005>
22. Zazharskyi VV, Davydenko PO, Kulishenko OM, Borovik IV, Brygadyrenko VV. Antimicrobial activity of 50 plant extracts. Biosyst Divers 2019;27(2):163-169. DOI: <https://doi.org/10.15421/011922>
23. Chuang LT, Tsai TH, Lien TJ, Huang WC, Liu JJ, Chang H, et al. Ethanolic extract of *Origanum vulgare* suppresses *Propionibacterium acnes*-induced inflammatory responses in human monocyte and mouse ear edema models. Molecules 2018;23(8):1987. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23081987>
24. Knez Hrnčič M, Čör D, Simonovska J, Knez Ž, Kavrakovski Z, Rafajlovska V. Extraction techniques and analytical methods for characterization of active compounds in *Origanum* species. Molecules 2020;25(20):4735. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25204735>
25. Blank DE, Corrêa RA, Freitag RA, Cleff MB, de Oliveira Hübner S. Anti-equine arteritis virus activity of ethanolic extract and compounds from *Origanum vulgare*. Semin Ciênc Exatas Tecnol 2017;38(2):759-64. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2017v38n2p759>
26. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 6^{ta} Edición. Mexico: Editorial McGraw-Hill Interamericana; 2014. 689 p.
27. Rodríguez Pava CN, Zarate Sanabria AG, Sánchez Leal LC. Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. NOVA 2017;15 (27):119-29. DOI: https://doi.org/10.22490/2462_9448.1963
28. Alara OR, Abdurahman NH, Ukaegbu CI, Kabashishi NA. Extraction and characterization of bioactive compounds in *Vernonia amygdalina* leaf ethanolic extract comparing Soxhlet and microwave-assisted extraction techniques. J Taibah Univ Sci 2019;13(1):414-22. DOI: <https://doi.org/10.1080/16583655.2019.1582460>
29. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically [Internet]. New York: West Valley Road: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018 [cited 22 de October 2020]. 13 p. Recuperado a partir de: https://clsi.org/media/1928/m07ed1_1_sample.pdf
30. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A re-

- view. J Pharm Anal 2016;6(2):71-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- 31.Jan S, Rashid M, Abd Allah EF, Ahmad P. Biological efficacy of essential oils and plant extracts of cultivated and wild ecotypes of *Origanum vulgare* L. Biomed Res Int 2020;2020:8751718. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/8751718>
- 32.Moreno Mantilla MC. Efecto antibacteriano *in vitro* de extractos etanólicos de orégano, tomillo y salvia sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* con resistencia múltiple [tesis maestría]. [Lambayeque]: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2020. [citado 26 de octubre de 2020]. Recuperado a partir de: <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/UNPRG/8421>
- 33.Al-Joboury MA. Effect of crude extract of *Origanum vulgare* on the inhibition of some pathogenic bacteria and causing spoilage of food. Al-Anbar J Vet Sci 2015;8(2):28-33.
- 34.Neira-Llerena JE. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de las plantas medicinales utilizadas por los pobladores de Tuctumpaya, Quequeña y Chiguata, frente a bacterias gram positivas: *Staphylococcus aureus* - *Streptococcus pneumoniae* causantes de infecciones de importancia médica, Arequipa - Perú 2017. [tesis licenciatura]. [Arequipa]: Universidad Nacional San Agustín; 2018. [citado 26 de octubre de 2020]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/6899>
- 35.Moghroyan A, Sahakyan N, Babayan A, Chichoyan N, Petrosyan M, Trchounian A. Essential oil and ethanol extract of oregano (*Origanum vulgare* L.) from Armenian flora as a natural source of terpenes, flavonoids and other phytochemicals with antiradical, antioxidant, metal chelating, tyrosinase inhibitory and antibacterial activity. Curr Pharm Des 2019;25(16):1809-16. DOI: <https://doi.org/10.2174/138161282566190702095612>
- 36.Fournomiti M, Kimbaris A, Mantzourani I, Plessas S, Theodoridou I, Kapsiotis I, et al. Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (*Origanum vulgare*), sage (*Salvia officinalis*), and thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae*. Microb Eco Health Dis 2015;26:23289. DOI: <https://doi.org/10.3402/mehd.v26.23289>

Nota del Editor:

Journal of the Selva Andina Research Society (JSARS) se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales publicados en mapas y afiliaciones institucionales.