

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN**



**INFORME FINAL**

**EFFECTO ANTIMICROBIANO DE ACEITES ESENCIALES  
COMERCIALES FRENTE A *Staphylococcus aureus* DE  
RESISTENCIA MÚLTIPLE.**

**INVESTIGADORA RESPONSABLE:**

**NOEMI ZUTA ARRIOLA**

**ESTUDIANTE DE APOYO:**

**ZELADA VALLE SARA (Código 2118120421**

**(RESOLUCIÓN RECTORAL N° 703-2023-R)**

LINEA DE INVESTIGACIÓN: Salud Pública

Callao – 2024

Perú

A handwritten signature in black ink, appearing to be "Noemi Zuta Arriola", is written over a horizontal line.

**EFFECTO ANTIMICROBIANO DE ACEITES  
ESENCIALES COMERCIALES FRENTE A  
*Staphylococcus aureus* DE RESISTENCIA  
MÚLTIPLE**



---

## INFORMACIÓN BÁSICA

**FACULTAD:** Facultad de Ciencias de la Salud

**UNIDAD DE INVESTIGACIÓN:** Facultad de Ciencias de la Salud

**TITULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:**

**EFFECTO ANTIMICROBIANO DE ACEITES ESENCIALES COMERCIALES  
FRENTE A *Staphylococcus aureus* DE RESISTENCIA MÚLTIPLE**

**Investigador Responsable:**

**Zuta Arriola, Noemí**

Categoría: Profesor Principal

Dedicación: Dedicación exclusiva

Condición: Nombrado

Código ORCID  [0000-0001-5972-2858](https://orcid.org/0000-0001-5972-2858)

DNI: 16701143

Profesión: Licenciado en Biología, Microbiología y Parasitología  
Licenciada en Educación

Grados académicos: Bachiller en Educación /Doctora en Ciencias de la Salud/Magister  
en Microbiología

## ESTUDIANTES DE APOYO

ZELADA VALLE SARA (Código 2118120421)

## LUGAR DE EJECUCIÓN

Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional del Callao

## UNIDAD DE ANALISIS

*Aceites esenciales / Cepas de S. aureus*

## TIPO/ENFOQUE/DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Explicativa /cuantitativo/Experimental

## TEMA OCDE:

Ciencias Médicas y de la Salud



## INDICE

|   |           |
|---|-----------|
| <b>RESUMEN</b> .....  | <b>5</b>  |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | <b>6</b>  |
| <b>INTRODUCCIÓN</b> .....   | <b>7</b>  |
| <b>I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....  | <b>8</b>  |
| 1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....  | 8         |
| 1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....  | 9         |
| 1.3 OBJETIVOS .....   | 9         |
| 1.4 JUSTIFICACIÓN.....  | 10        |
| <b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....  | <b>11</b> |
| 2.1 ANTECEDENTES.....   | 11        |
| 2.2 BASES TEÓRICAS .....  | 14        |
| 2.3 MARCO CONCEPTUAL.....   | 16        |
| 2.4 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....   | 19        |
| <b>III. HIPÓTESIS Y VARIABLES</b> .....   | <b>20</b> |
| 3.1 HIPÓTESIS .....   | 20        |
| 3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....  | 20        |
| <b>IV. METODOLOGIA DEL PROYECTO</b> .....   | <b>21</b> |
| 4.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....   | 21        |
| 4.2 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN.....  | 21        |
| 4.3 POBLACIÓN Y MUESTRA .....   | 21        |
| 4.4 LUGAR DE ESTUDIO.....   | 22        |
| 4.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS.....  | 22        |
| 4.6 ANÁLISIS Y PROCESAMIENTO DE DATOS .....   | 26        |
| <b>V. RESULTADOS</b> .....  | <b>27</b> |
| 5.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS ACEITES ESENCIALES COMERCIALES.....  | 27        |
| 5.2 SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE LAS CEPAS CLÍNICAS DE <i>S.AUREUS</i> . .....   | 28        |
| 5.3 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES COMERCIALES FRENTE <i>S. AUREUS</i> DE RESISTENCIA MÚLTIPLE..... | 29        |
| 5.4 CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) .....  | 30        |
| <b>VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....  | <b>33</b> |
| <b>VII. CONCLUSIONES</b> .....  | <b>35</b> |
| <b>VIII. RECOMENDACIONES</b> .....  | <b>36</b> |
| <b>IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....   | <b>37</b> |



## RESUMEN

La investigación evaluó la actividad antimicrobiana de tres aceites esenciales comerciales (*Minthostachys mollis* “Muña”, *Eugenia caryophyllata* “Clavo de Olor”, y *Thymus vulgaris* “Tomillo”) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple, incluyendo MRSA y cepas clínicas. Este estudio utilizó métodos de difusión en disco, y microdilución para determinar la actividad antibacteriana y las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de los aceites. Como controles, se emplearon vancomicina (positivo) y DMSO (negativo).

El aceite esencial de Muña demostró la mayor eficacia, con halos de inhibición amplios (18 mm a 100%) y CMI bajas (0.564-1.135  $\mu\text{g/ml}$ ), superando incluso a la vancomicina frente a MRSA. Su alta actividad se atribuye a compuestos como mentona y pulegona, reconocidos por alterar la membrana celular bacteriana. En contraste, el aceite de Clavo de Olor mostró actividad moderada (halos de 10-12 mm a 100%) y una CMI constante de 2.555  $\mu\text{g/ml}$ , atribuida a su componente principal, el eugenol. Por otro lado, el aceite de Tomillo presentó la menor eficacia, con halos pequeños (5-7 mm a 100%) y una alta CMI de 4.575  $\mu\text{g/ml}$ , aunque sus compuestos timol y carvacrol evidencian un potencial antimicrobiano en aplicaciones combinadas.

El control positivo (vancomicina) confirmó su eficacia frente a cepas sensibles, aunque con menor actividad frente a MRSA (CMI de 8  $\mu\text{g/ml}$ ). El control negativo (DMSO) no mostró actividad antibacteriana, validando la confiabilidad del ensayo.

Este estudio respalda el uso de aceites esenciales, particularmente el de Muña, como alternativas naturales prometedoras frente a cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, se recomiendan investigaciones adicionales para optimizar su formulación y garantizar su seguridad y eficacia clínica. Estos resultados destacan la importancia de explorar alternativas terapéuticas frente al creciente problema de resistencia antimicrobiana.

Palabras claves: aceites esenciales, actividad antibacteriana, *Minthostachys mollis*, *Eugenia caryophyllata*, *Thymus vulgaris*



## ABSTRACT

The study evaluated the antimicrobial activity of three commercial essential oils (*Minthostachys mollis* "Muña," *Eugenia caryophyllata* "Clove," and *Thymus vulgaris* "Thyme") against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* strains, including MRSA and clinical isolates. This research utilized disk diffusion, and microdilution methods to determine the antibacterial activity and minimum inhibitory concentrations (MIC) of the oils. Vancomycin (positive control) and DMSO (negative control) were used as references.

The essential oil of Muña demonstrated the highest efficacy, with large inhibition zones (18 mm at 100%) and low MIC values (0.564-1.135 µg/ml), surpassing even vancomycin against MRSA. Its high activity is attributed to compounds such as menthone and pulegone, known for their ability to disrupt bacterial cell membranes. In contrast, Clove oil showed moderate activity (10-12 mm zones at 100%) and a consistent MIC of 2.555 µg/ml, attributed to its main component, eugenol. Meanwhile, Thyme oil showed the lowest efficacy, with small inhibition zones (5-7 mm at 100%) and a high MIC of 4.575 µg/ml, although its compounds thymol and carvacrol suggest potential antimicrobial effects in combined applications.

The positive control (vancomycin) confirmed its efficacy against sensitive strains but showed reduced activity against MRSA (MIC of 8 µg/ml). The negative control (DMSO) showed no antibacterial activity, validating the reliability of the assay.

This study supports the use of essential oils, particularly Muña, as promising natural alternatives against resistant *Staphylococcus aureus* strains. However, additional studies are recommended to optimize their formulation and ensure clinical safety and efficacy. These findings underscore the importance of exploring therapeutic alternatives to address the growing issue of antimicrobial resistance.

Keywords: essential oils, antibacterial activity, *Minthostachys mollis*, *Eugenia caryophyllata*, *Thymus vulgaris*



## INTRODUCCIÓN

Los hospitales representan entornos donde se hace un uso intensivo de antibióticos en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, lo que ha contribuido al aumento de la resistencia de bacterias y levaduras, así como la propagación de cepas resistentes. Esta resistencia microbiana plantea desafíos en el tratamiento de las infecciones causadas por estos microorganismos, lo que ha llevado a explorar el uso de plantas medicinales, incluyendo extractos y aceites esenciales, como una alternativa a los medicamentos convencionales.

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles con un aroma distintivo que se producen en diferentes partes de las plantas, como brotes, flores, hojas, tallos, semillas, frutos, raíces, madera o corteza. Estos compuestos se almacenan en células especializadas, cavidades, canales, células de la epidermis o tricomas glandulares (1)

La resistencia a la metilina en *Staphylococcus aureus* (MRSA) representa una seria amenaza para la salud pública y es la principal causa de infecciones hospitalarias a nivel mundial. Este patógeno ha demostrado una notable capacidad de adaptación y ha desarrollado resistencia a diversos antibióticos, limitando las opciones de tratamiento disponibles. Además, la emergencia de cepas de *S. aureus* resistentes a la vancomicina, debido a la adquisición de genes *vanA* de *Enterococci*, plantea un desafío adicional en el desarrollo de terapias efectivas contra esta bacteria. En este contexto, es esencial investigar y desarrollar nuevos antibióticos o estrategias terapéuticas innovadoras para superar la resistencia antibiótica en *S. aureus*.

Este estudio se propone analizar la capacidad antibacteriana de los aceites esenciales comerciales en el Perú contra *Staphylococcus aureus* multirresistente, así como su capacidad para mejorar la eficacia de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos



# **I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

## **1.1 Descripción de la realidad problemática**

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) se ha convertido en un desafío de salud global cada vez más complicado y se reconoce como una de las principales preocupaciones a nivel mundial(2). Este problema se está agravando cada vez más y se está volviendo difícil de combatir, especialmente en el caso de infecciones hospitalarias causadas por estos microorganismos, ya que rara vez se pueden tratar de manera efectiva. Por lo tanto, es necesario promover el uso racional de antibióticos y basar las decisiones terapéuticas en un conocimiento sólido sobre qué antibiótico se debe recetar, sin descuidar las tendencias en los perfiles de resistencia bacteriana de manera más amplia.

Es importante destacar que los mayores índices de resistencia bacteriana a los antibióticos se deben a la automedicación, la falta de control en la prescripción y la venta de antibióticos para uso humano (3). La resistencia microbiana ha llevado a un aumento en la morbilidad y la mortalidad, así como a mayores costos en el ámbito de la salud. El desarrollo de nuevos antimicrobianos se ha visto constantemente acompañado por la aparición de resistencia bacteriana. Por tanto, esta resistencia antimicrobiana ha hecho que el tratamiento de las enfermedades infecciosas, se vuelva una tarea desafiante para el médico que debe brindar opciones terapéuticas, racionales y basadas en evidencias para mejorar la salud de los pacientes(4).

La fitoterapia ha ganado un impulso considerable en los últimos años como una opción alternativa para tratar diversas enfermedades. Esto ha ocurrido a pesar del continuo crecimiento de la industria química farmacéutica, debido a factores como el aumento en los costos de los medicamentos sintéticos, los efectos secundarios asociados a estos tratamientos y la creciente popularidad de los ideales naturalistas (5). Por lo tanto, la variedad de sustancias químicas presentes en diferentes partes de las plantas, como cumarinas, flavonoides, terpenoides, alcaloides, taninos, entre otros ha despertado el interés de los investigadores de todo el mundo en la búsqueda de nuevos antibióticos (6)



Dada la creciente importancia clínica de las infecciones bacterianas, tanto comunitarias como hospitalarias, causadas por cepas multirresistentes, y ante la previsión de la desaparición de antibióticos efectivos, es necesario investigaciones sobre la actividad bactericida de productos obtenidos de plantas medicinales (extractos, aceites esenciales y otros principios activos aislados), por lo que se formula la pregunta de investigación:

## 1.2 Formulación del problema

### 1.2.1 Problema general

¿Cuál es el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de uso comercial contra *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple?

### 1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Cuáles son las características organolépticas de los aceites esenciales comerciales en estudio?
2. ¿Cuál es la susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* aisladas de procesos infecciosos en pacientes tratados en un hospital?
3. ¿Cuál es la actividad antibacteriana de los aceites esenciales seleccionados al 100% ,75% y 50% frente *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple?,
4. ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria (CMI) y mínima bactericida (CMB) de los aceites esenciales comerciales en *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple?

## 1.3 Objetivos

### 1.3.1 Objetivo general:

Evaluar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de uso comercial contra *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple.

### 1.3.2 Objetivos específicos

1. Identificar las características organolépticas de los aceites esenciales comerciales en estudio.
2. Identificar la susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple aisladas de procesos infecciosos en pacientes tratados en un hospital.
3. Evaluar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales al 100% ,75% y 50% frente *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple.



4. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y mínima bactericida (CMB) de los aceites esenciales comerciales en *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple

#### **1.4 Justificación**

La necesidad de validar agentes antimicrobianos contra bacterias patógenas multirresistentes, como *S. aureus*, es la base de esta investigación. La falta de estudios exhaustivos sobre los aceites esenciales de uso comercial nos motiva a llevar a cabo este estudio para demostrar su eficacia antibacteriana y determinar la concentración precisa para lograr efectos terapéuticos. Además, este estudio tiene implicaciones sociales significativas, ya que, al proporcionar información científica validada, busca fomentar el uso de recursos naturales como alternativas de tratamiento, reduciendo así la resistencia bacteriana. Este enfoque tiene el potencial de beneficiar a la sociedad en general al promover prácticas de tratamiento más seguras y sostenibles.

#### **1.5 Delimitantes de la investigación**

##### **Delimitante teórica**

El estudio se enmarca en un estudio etnobotánico, farmacológico y microbiológico de aceites esenciales comerciales usados como antisépticos

##### **Delimitante temporal**

La investigación se llevó a cabo en un período de doce meses, periodo comprendido entre el mes de setiembre del año 2023 al mes de setiembre del año 2024.

##### **Delimitante espacial**

Los ensayos microbiológicos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional del Callao y en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Farmacia y bioquímica de la UNMSM



## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

**Al Mijalli et al. 2023.** Explorando los mecanismos antibacterianos de aceites esenciales caracterizados químicamente de hojas y brotes de *Syzygium aromaticum* (L.) contra *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*

El estudio investigó los constituyentes químicos de los aceites esenciales de *Syzygium aromaticum* extraídos de hojas y capullos florales, destacando el eugenol como componente principal. Se demostró su actividad antibacteriana significativa contra diversas bacterias, incluyendo *S. aureus* y *P. aeruginosa*. Los aceites mostraron ser más efectivos que los antibióticos tradicionales, con bajas concentraciones inhibitorias y bactericidas. Se observó la disrupción de la membrana celular bacteriana y la liberación de proteínas, además de efectos notables contra la formación de biopelículas. Los resultados sugieren el potencial de estos aceites como alternativas naturales en industrias alimentarias y farmacéuticas(7).

**Moliva M. et al.2023. Evaluación de las propiedades antibacterianas y antibiofilm de aceites esenciales de *Minthostachys verticillata* frente a cepas bovinas de *Staphylococcus aureus***

El estudio se centró en evaluar la actividad antibacteriana y los efectos inhibidores de biofilm de dos aceites esenciales de *Minthostachys verticillata*, EO1 y EO2, contra *Staphylococcus aureus* bovino. Se determinó la composición química y los efectos citotóxicos de ambos aceites, recolectados de distintas regiones de Argentina. EO1 mostró mayor eficacia antibacteriana y se probó in vivo en vacas lecheras, reduciendo la carga bacteriana. Ambos aceites demostraron actividades antibacterianas y anti-biofilm, sugiriendo su potencial como agentes bactericidas contra *S. aureus*(8).

**Kim,Y et al. 2022. Actividades antibiopelículas de análogos de cinamaldehído contra *Escherichia coli* uropatógena y *Staphylococcus aureus* "**

El estudio exploró los efectos antibiofilm de diez derivados del cinamaldehído y el trans-cinamaldehído en *Escherichia coli* uropatogénica y *Staphylococcus aureus*. Entre ellos, el 4-nitrocinnamaldehído demostró ser el más efectivo, inhibiendo la movilidad y producción de sustancias poliméricas extracelulares en *E. coli*. Además, impidió la formación de biofilms mixtos de *E. coli* y *S. aureus*. Los resultados sugieren que estos compuestos tienen potencial terapéutico contra enfermedades asociadas a biofilms(9).

**Assefa T. Composición química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de especies seleccionadas del género *Cucumis* en Etiopía.**



El estudio analizó la composición química de aceites esenciales de *Cucumis ficifolius*, *Cucumis dipsaceus* y *Cucumis prophetarum*. Se identificaron componentes principales como el 3,7,11,15-tetrametil-1-hexadecanol y el neofitadieno. Se evaluó su actividad antibacteriana contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. pyogenes*, encontrando que el aceite de hojas de *Cucumis dipsaceus* fue el más eficaz. Los resultados respaldan el uso tradicional de estas plantas como agentes(10)

**Ali T. et al. 2022. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de plantas contra Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (MRSA) caracterizado de forma autóctona.**

El estudio evaluó la actividad antimicrobiana de aceites esenciales de plantas contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), obtenidas del Instituto de Microbiología de la UVAS en Lahore, Pakistán. Los aceites de *Cinnamomum verum*, *Eucalyptus globulus* y *Syzygium aromaticum* mostraron inhibición significativa del crecimiento bacteriano. *Eucalyptus globulus*, en particular, presentó el valor mínimo de concentración inhibitoria más bajo y fue sometido a fraccionamiento cromatográfico. La fracción de n-hexano de *E. globulus* demostró ser especialmente efectiva contra MRSA, sugiriendo su potencial como tratamiento alternativo(11).

**Sipahi, N. et al. Efecto in vitro de algunos aceites esenciales contra múltiples bacterias resistentes a antibióticos de perros y gatos.**

El estudio se centró en evaluar la actividad antibacteriana y antibiofilm de cuatro aceites esenciales (*Melissa officinalis*, *Nigella sativa*, *Laurus nobilis* y *Origanum onites*) contra bacterias multirresistentes en gatos y perros. Se utilizó MRSA y cepas de *E. coli* con beta-betalactamasas de espectro extendido. Los aceites mostraron ser eficaces, especialmente el de orégano y melisa, en inhibir el crecimiento bacteriano y la formación de biofilm. Los resultados sugieren que estos aceites son productos naturales prometedores contra patógenos resistentes(12).

**Uzair B. et al. 2017. Aceites esenciales que muestran actividad anti MRSA in vitro y sinérgica con el grupo de antibióticos penicilina.**

El estudio investigó la eficacia de diez aceites esenciales de plantas tradicionales en inhibir el crecimiento in vitro del *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). Utilizando el método de difusión en disco, los aceites de canela (*Cortex cinnamomi*) y tomillo (*Thymus vulgaris* L) demostraron ser los más efectivos. Se observó un efecto sinérgico significativo cuando se combinaron con amoxicilina, especialmente los aceites de orégano y menta poleo. Los resultados sugieren que estos aceites podrían ser agentes antimicrobianos potenciales contra infecciones por MRSA(13).

**Ruiz Duran J et al. 2022.** Realizaron un estudio donde evaluaron la actividad antifúngica y antibiopelícula de aceites esenciales frente a diferentes cepas de *Cándida*. Se evaluaron 50 aceites esenciales (AE) para su actividad antifúngica y antibiofilm contra *Candida*



albicans, *C. parapsilosis* y *C. auris*. Los AE de *Lippia alba* y *L. origanoides* mostraron la mayor actividad contra *C. auris*. Los AE de *L. origanoides* también presentaron actividad contra las tres *Candida* spp. y mostró potencial para combatir infecciones por levaduras con formación de biopelículas y resistencia antimicrobiana. Los AE con altos contenidos de carvacrol, timol y otros metabolitos secundarios exhibieron propiedades antifúngicas y antibiofilm. Los resultados sugieren que los AE colombianos pueden ser una alternativa para nuevas terapias contra *Candida* spp(14).

**Sánchez A.-Tito y otros. 2021** (15). En este estudio, se identificaron los principales componentes del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, que resultaron ser mentana y eucaliptol. Se evaluó la actividad del aceite esencial contra las bacterias *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*. Se descubrió que el aceite esencial fue efectivo para inhibir el crecimiento de ambas bacterias, generando halos de inhibición de aproximadamente  $19,040 \pm 0,883$  mm y  $18,008 \pm 0,861$  mm respectivamente. Sin embargo, se encontró que la clorhexidina al 0,12% fue más efectiva que el aceite esencial para inhibir el crecimiento de *L. acidophilus*.

**Baron Guerreo y Velásquez Espinoza C** (2021) (16) realizaron un trabajo de investigación cuyo objetivo fue demostrar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* Metodología: El estudio de investigación es de tipo analítico, prospectivo, transversal con diseño de investigación experimental con dos grupos control, la población de estudio fue *Minthostachys mollis* (muña), recolectada en la provincia de Santa Cruz departamento de Cajamarca, se obtuvo el aceite de muña mediante la técnica de arrastre por vapor y se determinó la eficacia antibacteriana del aceite mediante la técnica de difusión en pozo, los datos recolectados fueron analizados mediante el software SPSS ver. 26 con un nivel de confianza del 95%. Resultados: El aceite de muña al 50% presenta un halo de inhibición promedio de  $6,02 + 0,21$ mm, para 75% un halo de inhibición de  $11,57 + 0,26$ mm y para la concentración del 100% un halo promedio de  $14,20 + 0,35$ mm; por otro lado, con respecto al control positivo (ciprofloxacino) se encontró un halo promedio de  $31,88 + 0,31$ mm y para el control negativo (DMS) fue de  $6,10 + 0,27$ mm. Conclusión: El aceite de muña a las concentraciones del 75% y 100% presentan eficacia antibacteriana sobre cepas de *Staphylococcus aureus*; sin embargo, no presenta eficacia antibacteriana a la concentración del 50%. Se constató una alta resistencia a quinolonas y ciprofloxacino tanto en ambientes hospitalarios como ambulatorios, lo que sugiere un uso significativo de estos antibióticos entre mujeres fértiles/gestantes, una tendencia ya identificada en estudios anteriores en adultos y niños. Respecto a la amoxicilina-clavulánico, se obtuvo una mayor resistencia en entornos ambulatorios (19,7% vs. 7,1%), posiblemente debido al autoconsumo ya la facilidad de acceso a estos fármacos.



## 2.2 Bases teóricas

### 2.2.1 La medicina tradicional

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la medicina tradicional como:

*“El conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, el diagnóstico, la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales(17)”*

Así mismo la OMS menciona que el termino Medicina Complementaria o “medicina alternativa” es un amplio conjunto de prácticas de atención de salud que no forman parte de la tradición ni de la medicina convencional de un país dado ni están totalmente integradas en el sistema de salud predominante. Por tanto, la Medicina alternativa y complementaria (MAC) es el conjunto de prácticas de atención de salud que no están integradas en el sistema sanitario convencional ni son parte de la propia tradición de un país y cuya utilidad ha sido demostrada científicamente(18).

El binomio salud-enfermedad se estudia desde el contexto de la antropología médica en sus contextos sociales, culturales y económicos; analizando las mediaciones que explican las formas diferenciales de enfermar, atenderse y morir ente individuos y grupos determinados, y considera las características y peculiaridades de las relaciones entre personas y grupos sociales que posibilitan o limitan la resolución de sus problemas de salud(19).

### 2.2.2 Uso de Plantas Medicinales- etnobotánica

Una planta medicinal es una cuyas partes o extractos se emplean como drogas en el tratamiento de alguna afección. La parte de la planta empleada medicinalmente se conoce con el nombre de droga(17).

Harshberger (1896) acuñó el termino etnobotánica para denominar a la disciplina científica que estudia la interacción del hombre con las plantas(20)

La etnobotánica ha permitido a la ciencia occidental acercarse a las comunidades de donde surgen el conocimientos frente al uso de las plantas, tanto para las comunidades que las usan como para la academia(21). El Pionero en el campo de los estudios



etnobotánicos fue Schultes quien durante la II Guerra Mundial viajó a Sudamérica para obtener datos sobre ciertos vegetales de importancia económica, vegetales entre los que se contaba el caucho, este investigador residió en la Amazonia durante 14 años, integrándose en la vida de las tribus locales y reuniendo información sobre cientos de plantas medicinales y alucinógenas(22)

### 2.2.3 La Fitoterapia

La **fitoterapia** es la disciplina que estudia el uso de las plantas medicinales y sus derivados con fines terapéuticos para prevenir, aliviar o curar enfermedades. Desde tiempos inmemoriales, el ser humano ha buscado en la naturaleza soluciones para mitigar sus dolencias y mejorar su calidad de vida. Este enfoque ha sido una constante a lo largo de la historia, presente en diversas civilizaciones y culturas alrededor del mundo(23).

El reino vegetal destaca por su rico y complejo metabolismo, capaz de producir una amplia variedad de compuestos químicos con propiedades medicinales. Aunque solo se conoce en profundidad una fracción de las especies vegetales existentes, las plantas han sido una fuente invaluable de principios activos utilizados en medicina.

Cada región del mundo desarrolló su propia medicina tradicional, basada en el uso de plantas endémicas y conocimientos transmitidos de generación en generación. Estas prácticas conforman la medicina autóctona o aborígen, que incluye no solo las especies utilizadas sino también las formas de preparación, administración y dosificación.

El avance hacia la farmacología moderna se atribuye en gran medida a Paracelso, médico y químico suizo del Renacimiento. Él propuso que las propiedades medicinales de las plantas residían en sus principios activos, los cuales podían ser aislados y estudiados. Esta idea sentó las bases para el desarrollo de la farmacología química. Con el tiempo, y gracias al progreso en la síntesis química, fue posible replicar y mejorar los compuestos naturales, creando medicamentos más selectivos y seguros.

Aunque hoy en día la medicina está dominada por fármacos de origen sintético, es importante reconocer que muchos de estos son derivados o inspirados en moléculas naturales. En las últimas dos décadas, ha habido un renovado interés en los productos naturales y la fitoterapia, especialmente en los países desarrollados. Esto se debe, en



parte, al reconocimiento de los beneficios asociados con el consumo de frutas frescas, vegetales y extractos vegetales ricos en antioxidantes naturales.

Investigaciones recientes sugieren que una mayor ingesta de compuestos antioxidantes de origen vegetal está asociada con un menor riesgo de mortalidad por enfermedades como el cáncer, la hipertensión arterial, la aterosclerosis y la diabetes mellitus. Estas patologías son algunas de las principales causas de muerte en los países industrializados.

La fitoterapia ofrece un enfoque complementario y preventivo en el cuidado de la salud, enfocándose en:

- \_ Prevención de Enfermedades Crónicas: Mediante el consumo de plantas medicinales y compuestos antioxidantes que pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y metabólicas.
- \_ Reducción de Síntomas y Alivio de Dolencias: Utilizando extractos y preparaciones herbales que pueden mitigar síntomas específicos.
- \_ Alternativas Terapéuticas Naturales: Proporcionando opciones basadas en productos naturales que pueden tener menos efectos secundarios que algunos fármacos sintéticos.

## **2.3 Marco conceptual**

### **2.3.1. Aceites esenciales: Propiedades, aplicaciones, perspectivas**

El uso de aceites esenciales ha sido una práctica común en las sociedades humanas desde la antigüedad. Las antiguas civilizaciones de China, India y el Medio Oriente ya estaban utilizando hierbas y aceites en la cocina, la cosmética, la medicina y los rituales religiosos. Estas sustancias derivan del metabolismo secundario de las plantas y están asociadas con varias funciones necesarias para su supervivencia, como la defensa contra microorganismos y depredadores y la atracción de polinizadores. Los aceites esenciales están compuestos por una mezcla compleja de sustancias biológicamente activas, lipofílicas y volátiles, en la mayoría de los casos derivadas de compuestos terpenoides y, en menor medida, fenilpropanoides. En los últimos años, el interés por estas sustancias se ha intensificado debido a las numerosas propiedades asociadas a ellas, como cualidades analgésicas, expectorantes, antimicrobianas, antisépticas, insecticidas, fungicidas y bactericidas. Estas últimas propiedades en particular han



despertado el interés de muchos investigadores en diferentes partes del mundo, que buscan productos alternativos para reemplazar los insecticidas y fungicidas sintéticos, debido a los riesgos que estos últimos representan para la salud y los ecosistemas. Las propiedades de los aceites esenciales los convierten en buenos candidatos para su uso en la producción de medicamentos e insecticidas naturales(24).

### **Localización y composición química**

Los aceites esenciales se encuentran en diversas partes de la planta, como flores, hojas, frutos, corteza, raíces y madera de plantas aromáticas, así como en cavidades secretoras, pelos glandulares, células de la cáscara de cítricos, glándulas, sacos y conductos(25)

La composición química de los aceites esenciales está vinculada a la planta de origen. Por lo general, estos aceites contienen hidratos de carbono, monoterpénicos, sesquiterpénicos, terpenoides, no terpenoides, y otros componentes comunes como fenilpropanoides y bencenoides. En ciertas plantas, los aceites esenciales también pueden contener compuestos azufrados o nitrogenados, entre otros(26).

#### Extracción de aceites esenciales

La destilación es un proceso físico de separación que implica calentar líquidos hasta que sus componentes volátiles se convierten en vapor y, al enfriar ese vapor, se pueden separar nuevamente como líquidos a través de la condensación. Este método se emplea ampliamente para extraer aceites esenciales de diversas partes de las plantas, como flores, frutos, hojas, raíces, semillas y corteza, exponiéndolos al vapor de agua durante el proceso(27).

#### 2.3.2 Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (MRSA)

La meticilina fue introducida en 1959 para tratar infecciones causadas por *Staphylococcus aureus resistente a la penicilina*. En 1961, se reportaron casos de aislamientos de *S. aureus* en el Reino Unido que habían desarrollado resistencia a la meticilina (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, MRSA). Hoy en día, el MRSA es un problema en hospitales a nivel mundial y se encuentra cada vez más en residencias de ancianos y la comunidad en general. El gen de resistencia a la meticilina (*mecA*) codifica una proteína de unión a la penicilina resistente a la meticilina que no está presente en cepas susceptibles y se cree que fue adquirida de una especie relacionada lejana. Muchos aislamientos de MRSA son multirresistentes y solo son susceptibles a antibióticos glicopéptidos como la vancomicina. Varios estudios han caracterizado aislamientos de MRSA de hospitales o países individuales y han identificado cepas bien adaptadas al entorno hospitalario, establecidas en varios hospitales dentro de un país o con presencia internacional (MRSA epidémico) (28).



### 2.3.3 Mecanismos de resistencia en Staphylococcus aureus

Es innegable que Staphylococcus aureus y otras bacterias poseen una destacada habilidad para desarrollar resistencia frente a una amplia variedad de antibióticos a los que han sido expuestas. Inicialmente, este fenómeno se observó a través de la adquisición de  $\beta$ -lactamasas en 'plásmidos de penicilinas', seguida por una adaptación a los derivados estables de  $\beta$ -lactamasa mediante la incorporación de elementos SCCmec por parte de MRSA. En muchos casos, los mecanismos de resistencia altamente eficientes ya existían en los productores naturales de antibióticos o en sus competidores y se transfirieron con facilidad a los estafilococos patógenos mediante la transferencia horizontal de genes de elementos genéticos móviles, originados, por ejemplo, de organismos presentes en el suelo(29).

Los antibióticos utilizados en el tratamiento de infecciones por S. aureus tienen diversos mecanismos de acción. Algunos interfieren en la biosíntesis de la pared celular, como la penicilina, la meticilina y la vancomicina. Otros inhiben la síntesis proteica en las unidades 30S o 50S, como las tetraciclinas, el cloranfenicol y las oxazolidinonas. También hay antibióticos que interfieren en la biosíntesis de ácidos nucleicos, como las quinolonas(30).

La resistencia antibiótica se define como la capacidad de un microorganismo para tolerar la acción de uno o más agentes antimicrobianos. Para determinar tratamientos efectivos y categorizar cepas bacterianas como susceptibles o resistentes a ciertos antibióticos, se establecen puntos de corte clínicos (breakpoints). Estos puntos se derivan de datos proporcionados por organismos competentes como el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) o el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)(30). Los puntos de corte se basan en los valores de la Concentración Inhibitoria Mínima (MIC) del antibiótico para cada cepa. La MIC es la concentración más baja del antibiótico que inhibe completamente el crecimiento visible del microorganismo. Para determinar la sensibilidad de una cepa bacteriana a un antibiótico, se compara la MIC con el breakpoint definido para ese antibiótico específico. Si la MIC es menor o igual al breakpoint, la bacteria se considera sensible al antibiótico. Si la MIC es mayor que este valor, la bacteria se considera intermedia o resistente al antibiótico(30).



## 2.4 Definición de términos básicos

**CMI:** Concentración mínima inhibitoria. Es la concentración más baja (en  $\mu\text{g/ml}$ ) de un antibiótico que inhibe el crecimiento de una determinada cepa bacteriana.

**Microorganismo Multirresistente:** Un microorganismo multirresistente (MDRO) es una bacteria que ha desarrollado resistencia a múltiples antibióticos, lo que dificulta su tratamiento. Los MDRO son gérmenes que no responden a ciertos antibióticos, lo que complica la cura de las infecciones que causan. Esta resistencia limita las opciones de tratamiento y hace que las infecciones por MDRO sean difíciles de controlar y eliminar.

**Inóculo:** Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano

**Principio activo:** Toda materia, cualquiera que sea su origen -humano, animal, vegetal, químico o de otro tipo- a la que se atribuye una actividad apropiada para constituir un medicamento.



### III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

#### 3.1 Hipótesis

##### 3.1.1 Hipótesis general

Los aceites esenciales de venta comercial en estudio inhiben el crecimiento bacteriano in vitro de las cepas de Staphylococcus aureus de resistencia múltiple y el efecto varía de acuerdo con la concentración utilizada.

##### 3.1.2 Hipótesis específicas

1. El componente principal en los aceites esenciales en estudio son los terpenos.
2. La concentración mínima inhibitoria (CMI) es moderada de los aceites esenciales comerciales frente a Staphylococcus aureus de resistencia múltiple

#### 3.2 Operacionalización de variables

Variable independiente (x): Concentraciones de aceites esenciales

Variable dependiente (y): Efecto antibacteriano frente a Staphylococcus aureus de resistencia múltiple

- Concentraciones de aceites esenciales de tipo comercial: Producto obtenido a partir de una materia prima natural de origen vegetal, por destilación al vapor, por procesos mecánicos a partir del epicarpio de frutos cítricos o por destilación en seco, previa separación de la fase acuosa -si la hubiere- por procesos físicos. El aceite esencial puede sufrir tratamientos físicos que no produzcan ningún cambio significativo en su composición (por ejemplo, filtración, decantación, centrifugación)(31)
- Efecto antibacteriano: Es la Inhibición de crecimiento bacteriano por acción de un agente de S. aureus resistentes a antibióticos.

| Variable independiente | Definición conceptual                | Dimensiones                 | Indicador           | Unidad de medida |
|------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|---------------------|------------------|
| Efecto antibacteriano  | Inhibición de crecimiento bacteriano | Difusión en pozo            | Halos de inhibición | mm               |
|                        |                                      | Microdilución colorimétrica | Medida de CMI       | mg/ml            |



## IV. METODOLOGIA DEL PROYECTO

### 4.1 Diseño de la Investigación

Según el manejo de variables es Cuantitativa y Experimental, estableciéndose las relaciones causa/efecto

Experimental: Porque el investigador va a manipular las condiciones de la investigación.

El diseño de la investigación se puede representar de la siguiente manera:

G1 X1 O1

G2 - O2

G3 + O3

G1, G2 y G3: Grupos de cepas

X1: Tratamiento con aceite esencial

O1, O2 y O3: Efecto antibacteriano de *S. aureus*

Control negativo, sin tratamiento. + Control positivo antibacteriano de uso comercial

### 4.2 Método de investigación

Método experimental; ya que el investigador tiene un control directo sobre una o más variables que son objeto de estudio. En este tipo de investigación, se realizan cambios deliberados en el valor de una variable específica, conocida como la variable independiente (concentraciones de aceite esencial y luego se observa cómo estos cambios afectan a otra variable, llamada variable dependiente (actividad antimicrobiana). Estas observaciones se realizan en un entorno altamente controlado y riguroso, con el propósito de comprender de qué manera o por qué razón ocurre una situación o evento particular. En esencia, un experimento experimental se utiliza para probar hipótesis que implican relaciones de causa y efecto entre variables.

### 4.3 Población y muestra

La población de estudio está conformada por tres aceites esenciales de venta comercial en Lima.



Las cepas patógenas multirresistentes recolectadas proporcionadas por un laboratorio de un hospital de la ciudad de Lima.

### **Muestreo**

El tipo de muestreo fue no probabilístico por conveniencia, debido a no ser un muestreo aleatorizado, se obtuvo las muestras de un lugar determinado en atención a la facilidad y disponibilidad de acceso del investigador para su recolección.

### **4.4 Lugar de estudio**

Laboratorio de Microbiología de la FCS de la Universidad Nacional del Callao.

### **4.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.**

Las muestras comerciales de aceites esenciales estudiadas fueron compradas de dos proveedores EOP

- \_ Aceite esencial comercial de Muña (*Minthostachys mollis*)
- \_ Aceite esencial comercial de Clavo de olor (*Eugenia caryophyllata* leaf)
- \_ Aceite esencial comercial de Tomillo (*Thymus vulgaris*)

Respecto a los aceites esenciales comerciales fueron suministrados por la casa comercial "EOP" (se adjunta ficha técnica de aceites) Todos ellos fueron extraídos de manera natural a través de la primera presión en frío, siendo la recolección en el momento óptimo y la extracción por destilación al vapor de agua, obteniéndose un aceite 100% natural.

Se adquirieron de manera comercial y se les ha realizado la marcha fitoquímica de cada uno de ellos:

Aceite esencial comercial de Clavo de olor (*Eugenia caryophyllata* leaf)



Aceite esencial comercial de Muña (*Minthostachys mollis*)



Aceite esencial comercial de Tomillo (*Thymus vulgaris*)



A handwritten signature in black ink, located at the bottom left of the page.

### **Actividad antibacteriana y CMI de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales comerciales *Mintostachys mollis*, *Eugenia caryophyllata L.*, ,  
*Thymus vulgaris*

Para llevar a cabo los ensayos farmacológicos, la sustancia se solubilizó en DMSO y luego diluir con agua destilada. La concentración de DMSO (dimetilsulfóxido) a utilizar debe ser al 0,1% v/v.

#### **Cepa bacteriana**

Los microorganismos utilizados serán cepas clínicas multirresistentes de *S. aureus*, aisladas en el laboratorio de un hospital y cepas ATCC 25923 de *S. aureus* y *Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (MRSA) ATCC 43300M*.

Las cepas se mantendrán en medio Agar Muller Hinton (AMH) a una temperatura de 4 °C, y para los ensayos, se realizaron repiques cada 24 horas en AMH incubados a 35 °C. En el estudio de la actividad antimicrobiana, se utilizó un inóculo bacteriano de aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL, estandarizado de acuerdo con la turbidez del tubo 0,5 en la escala de McFarland.

#### **Actividad antibacteriana según el método de difusión en disco**

Los discos impregnados con AE se colocaron sobre placas de agar inoculadas con las bacterias, y se midió el halo de inhibición después de la incubación. Se añadieron 10 µL del aceite esencial en el centro de un disco de papel estéril de 90 mm colocado en la tapa de una placa de Petri. Se sellaron las placas para evaluar el efecto de los compuestos volátiles.

#### **Actividad antibacteriana según el método de difusión en pozo**

Según el Instituto Nacional de Salud (INS), se procederá de la siguiente manera: se verterán de 15 a 20 ml de agar Müller Hinton en placas Petri estériles y esperar que el agar solidifique.

Aceite esencial - 50%

Aceite esencial -75%

Aceite esencial - 100%

Control negativo (DMSI)

Control positivo (Vancomicina)

#### **Concentración mínima inhibitoria (CMI)(32)**

Se realizó según el método de Microdilución colorimétrica, según el CLSI con algunas modificaciones(33). Para ello el aceite esencial se diluyó en caldo Mueller Hinton (CMH), hasta una concentración de 80ul/ml utilizando tween 80 como agente tensioactivo, a partir esta concentración inicial se procedió a hacer diluciones sucesivas desde 80 a 0.157 ul/ml.

Para preparar la suspensión bacteriana, las cepas se incubaron en TSB por 24h a 37°C para luego diluirlas en solución salina (NaCl 0.9%) estéril hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/ml). Para la

preparación del inoculo de trabajo se realizó una primera dilución con 40ul de la suspensión estandarizada y 1160ul CMH (1:30), para luego adicionarle 4800ul de CMH y 30ul de resazurina (1:5). El control de esterilidad fue preparado con 5ml de CMH y 25ul de resazurina.

Se utilizaron microplacas de poliestireno de fondo plano estériles que constan de 96 pozos. La distribución en la microplaca fue como se detalla a continuación iniciando de izquierda a derecha: en la primera columna el control de esterilidad (CE), que incluyó 200ul de CMH estéril, desde la columna 2 hasta la 11 se adicionaron 100ul de las diluciones sucesivas del aceite esencial (AE) a estudiar más 100ul del inoculo con resazurina, en la columna 12 se adicionó un control de crecimiento (CC) que contenía 100ul del inoculo más resazurina y 100ul de CMH. Todo se realizó por duplicado.

El control utilizado fue vancomicina con diluciones de 128-0.25 ug/ml. Las microplacas se llevaron a incubación a 37°C por 18-24h. El cambio de color se evidencio visualmente. La concentración más baja en el que no se visualizó el cambio de color (purpura a rosa) se tomó como el valor de CMI.

Tabla 1: Diseño de la microplaca

|      | 1      | 2               | 3               | 4               | 5               | 6               | 7               | 8               | 9               | 10              | 11              | 12              |
|------|--------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| [AE] | CE     | 80              | 40              | 20              | 10              | 5               | 2.5             | 1.25            | 0.62            | 0.313           | 0.157           | CC              |
| A    | 200 ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul |
| B    | 200 ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul |
| VAN  |        | 128             | 64              | 32              | 16              | 8               | 4               | 2               | 1               | 0.5             | 0.25            |                 |
| C    | 200 ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul |
| D    | 200 ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul |
| [AE] |        | 80              | 40              | 20              | 10              | 5               | 2.5             | 1.25            | 0.62            | 0.313           | 0.157           |                 |
| E    | 200 ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul |
| F    | 200 ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul |
| VAN  |        | 128             | 64              | 32              | 16              | 8               | 4               | 2               | 1               | 0.5             | 0.25            |                 |
| G    | 200 ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul | 100 ul<br>100ul |

|   |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|   |        | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  |
| H | 200 ul | 100 ul | 100 ul | 100 ul | 100 ul | 100 ul | 100 ul | 100 ul | 100 ul | 100 ul | 100 ul | 100 ul |
|   |        | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  | 100ul  |

AE: Aceite esencial VAN: Vancomicina

Filas A-D: Inoculo con ATCC. ((Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (MRSA) ATCC 43300M y S. aureus ATCC 25923)

Filas E-H: Inoculo con cepa clínica.

Tabla 2: Preparación de las diluciones de aceites esenciales

| Paso | Concentración (µg/ml) | Origen | Volumen (ml) | DMSO (ml) | Concentración intermedia (µl/ml) | Concentración final (µl/ml) con CMH |
|------|-----------------------|--------|--------------|-----------|----------------------------------|-------------------------------------|
| 1    | 1000                  | .....  | ....         | ....      | 1000                             | 80                                  |
| 2    | 1000                  | .....  | ....         | ...       | 1000                             | 40                                  |
| 3    | 1000                  | .....  | ....         | ....      | 1000                             | 20                                  |
| 4    | 1000                  | stock  | 0.1          | 0.1       | 500                              | 10                                  |
| 5    | 1000                  | stock  | 0.1          | 0.3       | 250                              | 5                                   |
| 6    | 1000                  | stock  | 0.1          | 0.7       | 125                              | 2.5                                 |
| 7    | 125                   | Paso 6 | 0.1          | 0.1       | 62.5                             | 1.25                                |
| 8    | 125                   | Paso 6 | 0.1          | 0.3       | 32.5                             | 0.625                               |
| 9    | 125                   | Paso 6 | 0.1          | 0.7       | 16.125                           | 0.313                               |
| 10   | 16.125                | Paso 9 | 0.1          | 0.1       | 8.063                            | 0.157                               |

Tabla 3: Concentración de aceites esenciales

|      | Aceite esencial | Tween 80 | CMH    |
|------|-----------------|----------|--------|
| DF1  | 120ul           | 30ul     | 1350ul |
| DF2  | 60ul            | 30ul     | 1410ul |
| DF3  | 30ul            | 30ul     | 1440ul |
| DF4  | 30ul            | 30ul     | 1440ul |
| DF5  | 30ul            | 30ul     | 1440ul |
| DF6  | 30ul            | 30ul     | 1440ul |
| DF7  | 30ul            | 30ul     | 1440ul |
| DF8  | 30ul            | 30ul     | 1440ul |
| DF9  | 30ul            | 30ul     | 1440ul |
| DF10 | 30ul            | 30ul     | 1440ul |

DF: Dilución final

STOCK: AE

CMH: Caldo Mueller Hinton

#### 4.6 Análisis y procesamiento de datos

Los datos se ordenaron y representaron en gráficos para su análisis e interpretación.



## V. RESULTADOS

### 5.1 Composición Química de los aceites esenciales comerciales

#### Control de calidad de los aceites esenciales:

Para determinar la calidad de los aceites esenciales se evaluaron sus propiedades organolépticas

Tabla 5.1 Características organolépticas de los aceites esenciales comerciales

| Características organolépticas | <i>Minthostachys mollis</i>           | <i>Eugenia caryophylla leaf</i>                          | <i>Thymus vulgaris</i>                |
|--------------------------------|---------------------------------------|--|---------------------------------------|
| Aspecto:                       | Homogéneo                             | Homogéneo  | Homogéneo                             |
| Estado físico                  | Líquido oleoso                        | Líquido oleoso   | Líquido oleoso                        |
| Olor                           | Aromático característico de la planta | Característico   | Fuerte, aromático y característico    |
| Color                          | Ligeramente amarillo                  | Marrón   | Amarillento pálido                    |
| Sabor                          | Amarga, refrescante, picante          | Picante  | Característico picante                |
| Densidad                       | aceitoso                              | aceitoso   | aceitoso                              |
| Solubilidad                    | Insoluble en agua, soluble en alcohol | Insoluble en agua, soluble en vaselina líquida y alcohol | Insoluble en agua, soluble en alcohol |

La consistencia en las características organolépticas, como el olor y color característico, confirma la autenticidad y calidad de los aceites esenciales estudiados.

Tabla 5.2 Composición química de compuestos volátiles por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas del aceite esenciales comerciales.

| Aceite esencial              | Componentes principales | % en muestra |
|------------------------------|-------------------------|--------------|
| <i>Minthostachys mollis</i>  | Menthone                | 21.09%       |
|                              | Pulegone                | 24.04%       |
|                              | Carvacrol               | 11.37%       |
| <i>Eugenia caryophyllata</i> | Eugenol                 | 74.2%        |
|                              | Humuleno                | 9.9%         |
| <i>Thymus vulgaris</i>       | Timol                   | 42.69%       |
|                              | Benceno                 | 28.45%       |

Estos compuestos fueron identificados como los principales componentes del aceite esencial del aceite comerciales estudiados del proveedor EOP lo cual es útil para entender sus propiedades potenciales y aplicaciones.



## 5.2 Sensibilidad antibiótica de las cepas clínicas de S.aureus.

La tabla 5.3 presenta los resultados de sensibilidad antibiótica de dos cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* (M1 y M4) aisladas de secreciones, evaluadas mediante concentración mínima inhibitoria (CMI) e interpretadas como Sensible (S) o Resistente (R). Se incluye la evaluación de 13 antibióticos y la prueba de resistencia inducida a clindamicina.

Tabla 5.3 Sensibilidad antibiótica de cepas de *S. aureus* de muestras clínicas

| Antibiótico                         | S. aures M1                |                | S. aures M4                |                |
|-------------------------------------|----------------------------|----------------|----------------------------|----------------|
|                                     | Resultado (CMI)            | Interpretación | Resultado (CMI)            | Interpretación |
| Resistencia inducida a Clindamicina | Negativo)                  | Negativo       | NEG                        | Negativo       |
| Bencilpenicilina G                  | $\geq 0.5 \mu\text{g/mL}$  | Resistente     | $\geq 0.5 \mu\text{g/mL}$  | R (Resistente) |
| Oxacilina                           | $0.5 \mu\text{g/mL}$       | Sensible       | $\geq 4 \mu\text{g/mL}$    | R (Resistente) |
| Ceftarolina                         | $0.25 \mu\text{g/mL}$      | Sensible       | $0.25 \mu\text{g/mL}$      | S (Sensible)   |
| Ciprofloxacina                      | $\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$  | Sensible       | $\geq 8 \mu\text{g/mL}$    | R (Resistente) |
| Levofloxacina                       | $0.25 \mu\text{g/mL}$      | Sensible       | $\geq 8 \mu\text{g/mL}$    | R (Resistente) |
| Eritromicina                        | $\leq 0.25 \mu\text{g/mL}$ | Sensible       | $\geq 8 \mu\text{g/mL}$    | R (Resistente) |
| Clindamicina                        | $0.25 \mu\text{g/mL}$      | Sensible       | $\geq 4 \mu\text{g/mL}$    | R (Resistente) |
| Linezolid                           | $2 \mu\text{g/mL}$         | Sensible       | $1 \mu\text{g/mL}$         | S (Sensible)   |
| Daptomicina                         | $0.5 \mu\text{g/mL}$       | Sensible       | $0.5 \mu\text{g/mL}$       | S (Sensible)   |
| Vancomicina                         | $\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$  | Sensible       | $\leq 0.5 \mu\text{g/mL}$  | S (Sensible)   |
| Tetraciclina                        | $\leq 1 \mu\text{g/mL}$    | Sensible       | $\geq 16 \mu\text{g/mL}$   | R (Resistente) |
| Rifampicina                         | $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ | Sensible       | $\leq 0.03 \mu\text{g/mL}$ | S (Sensible)   |
| Trimetoprima/Sulfametoxazol         | $\leq 10 \mu\text{g/mL}$   | Sensible       | $160 \mu\text{g/mL}$       | R (Resistente) |

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria.

De la tabla 5.3 se observa que la cepa M1 mostró sensibilidad a la mayoría de los antibióticos evaluados, excepto Bencilpenicilina G, donde fue clasificada como resistente. La cepa M4 mostró resistencia a varios antibióticos, incluyendo Oxacilina, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Eritromicina, Clindamicina, Tetraciclina y Trimetoprima/Sulfametoxazol, mientras mantuvo sensibilidad a Ceftarolina, Linezolid, Daptomicina, Vancomicina y Rifampicina.

Ambas cepas fueron sensibles a Ceftarolina, Daptomicina, Linezolid y Vancomicina, lo que sugiere que estos antibióticos aún son efectivos frente a cepas resistentes de *Staphylococcus aureus*.



### 5.3 Actividad antibacteriana de los aceites esenciales comerciales frente *S. aureus* de resistencia múltiple.

La tabla 5.4 presenta los diámetros de las zonas de inhibición ( $\pm$ SD en mm) de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* (Muña), *Eugenia caryophyllata* (Clavo de Olor) y *Thymus vulgaris* (Tomillo), evaluados contra diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC, MRSA, M1 y M4). Asimismo, se incluyó un control positivo (Vancomicina) y un control negativo (DMSO)

**Tabla 5.4 diámetros de inhibición de aceites esenciales comerciales en agar en difusión en disco**

| Aceite Esencial Comercial                           | Staphylococcus aureus<br>Diámetro de Zona ( $\pm$ SD) (mm) |                  |                  |                  |
|---|--|------------------|------------------|------------------|
|   | ATCC   | MRSA             | M1               | M4               |
| <b><i>Minthostachys mollis</i> (muña)</b>           |  |                  |                  |                  |
| AE Muña 100%  | 18 ( $\pm$ 1)  | 15 ( $\pm$ 1)    | 18 ( $\pm$ 1)    | 15 ( $\pm$ 1)    |
| AE Muña 75%   | 14 ( $\pm$ 1)  | 12 ( $\pm$ 0.57) | 14 ( $\pm$ 0.57) | 12 ( $\pm$ 1)    |
| AE Muña 50 %  | 12 ( $\pm$ 0.57)   | 10 ( $\pm$ 0.57) | 11 ( $\pm$ 1)    | 10 ( $\pm$ 0.57) |
| <b><i>Eugenia caryophyllata</i> (clavo de olor)</b> |  |                  |                  |                  |
| AE Clavo de olor 100%                               | 12 ( $\pm$ 1)  | 10 ( $\pm$ 1)    | 12 ( $\pm$ 0.57) | 12 ( $\pm$ 1)    |
| AE Clavo de olor 75%                                | 10 ( $\pm$ 0.57)   | 8 ( $\pm$ 0.57)  | 10 ( $\pm$ 0.57) | 10 ( $\pm$ 1)    |
| AE Clavo de olor 50%                                | 8 ( $\pm$ 0.57)  | 5 ( $\pm$ 0.57)  | 6 ( $\pm$ 0.57)  | 7 ( $\pm$ 0.57)  |
| <b><i>Thymus vulgaris</i> (Tomillo)</b>             |  |                  |                  |                  |
| AE Tomillo 100%                                     | 5 ( $\pm$ 0.57)  | 5 ( $\pm$ 0.57)  | 6 ( $\pm$ 1)     | 7 ( $\pm$ 0.57)  |
| AE Tomillo 75%                                      | 3 ( $\pm$ 0.57)  | 3 ( $\pm$ 0.57)  | 4 ( $\pm$ 0.57)  | 5 ( $\pm$ 0.57)  |
| AE Tomillo 50%                                      | 2 ( $\pm$ 0.57)  | 2 ( $\pm$ 0.57)  | 3 ( $\pm$ 0.57)  | 3 ( $\pm$ 0.57)  |
| Control Positivo (Vancomicina)                      | 20 ( $\pm$ 1)  | 10 ( $\pm$ 1)    | 18 ( $\pm$ 1)    | 15 ( $\pm$ 1)    |
| Control Negativo (DMSO)                             | 0  | 0                | 0                | 0                |

$\pm$  SD: Desviación estándar mm: milímetros,

El aceite esencial de Muña mostró la mayor actividad antibacteriana, destacándose a concentraciones elevadas (100% y 75%), donde se observaron halos de inhibición más amplios. A concentraciones más bajas (50%), su eficacia fue moderada pero aún aceptable. Por otro lado, el aceite esencial de Clavo de Olor presentó una actividad antibacteriana moderada. Mostró buenos resultados frente a *S. aureus* ATCC y las cepas clínicas (M1 y M4); sin embargo, su eficacia disminuyó considerablemente contra MRSA, evidenciando una menor capacidad inhibitoria frente a esta cepa resistente.

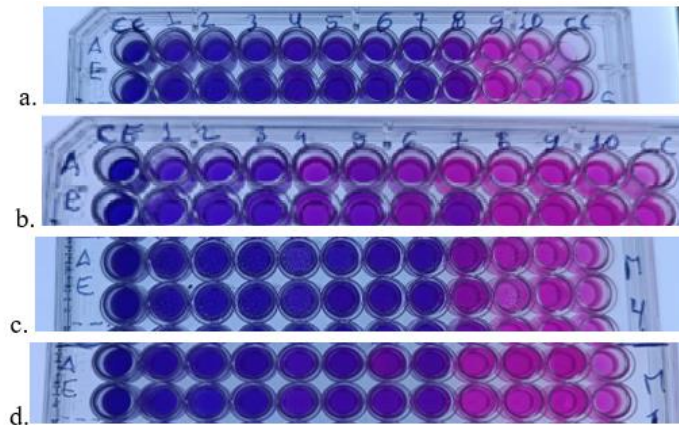
En contraste, el aceite esencial de Tomillo exhibió la menor actividad antibacteriana entre los aceites evaluados. Incluso a su concentración máxima (100%), los halos de inhibición

fueron pequeños, lo que refleja su limitada capacidad para inhibir el crecimiento de las cepas analizadas. El control positivo (Vancomicina) confirmó su eficacia como agente antimicrobiano, aunque su actividad fue reducida frente a MRSA debido a la resistencia de esta cepa. En cambio, el control negativo (DMSO) no mostró actividad antibacteriana, validando la confiabilidad del ensayo.

#### 5.4 Concentración mínima inhibitoria (CMI)

La figura 5.1 muestra los resultados de la evaluación de la CMI del aceite esencial de Muña, dando una CMI de 0.564 ug/ml para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y 1.135 ug/ml para *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) ATCC 43300M como también para las muestras clínicas.

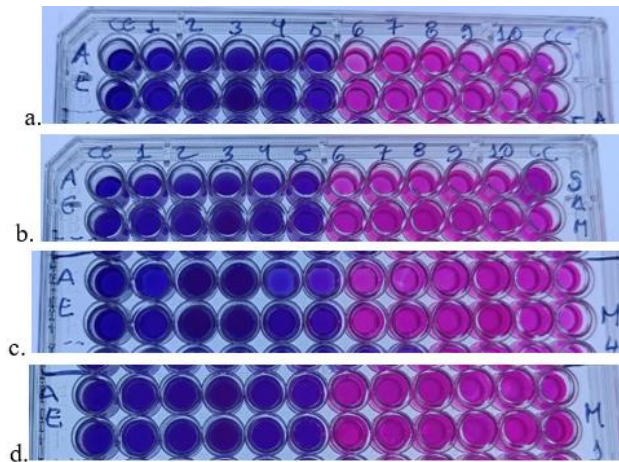
Figuras 5.1. Concentración Mínima inhibitoria del Aceite esencial de Muña



- a. CMI del aceite esencial de muña frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- b. CMI del aceite esencial de muña frente a SAMR: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) ATCC 43300M
- c. CMI del aceite esencial de muña frente a cepa clínica M4
- d. CMI del aceite esencial de muña frente a cepa clínica M1

La figura 5.2 muestran los resultados de la evaluación de la CMI del aceite esencial de tomillo (Densidad promedio a 20°C, 0.915g/ml), dando una CMI de 4.575ug/ml para todas las muestras.

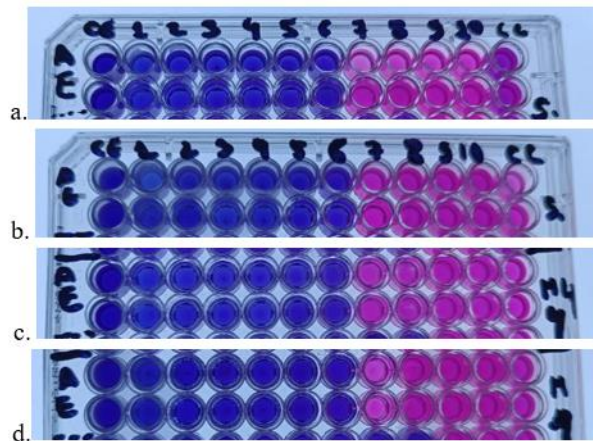
Figura 5.2 Concentración Mínima inhibitoria del Aceite esencial de Tomillo



- a. CMI del aceite esencial de tomillo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- b. CMI del aceite esencial de tomillo a SAMR: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) ATCC 43300M
- c. CMI del aceite esencial de tomillo frente a cepa clínica M4
- d. CMI del aceite esencial de tomillo frente a cepa clínica M1

La figura 5.3 muestran los resultados de la evaluación de la CMI del aceite esencial de tomillo (Densidad promedio a 20°C, 1.022 g/ml, dando una CMI de 2.555 ug/ml para todas las muestras.

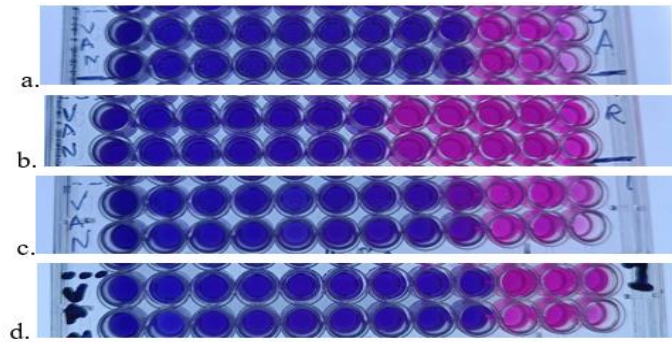
Figura 5.3. Concentración Mínima inhibitoria del Aceite esencial de clavo de olor



- a. CMI del aceite esencial de clavo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- b. CMI del aceite esencial de clavo a SAMR: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) ATCC 43300M
- c. CMI del aceite esencial de clavo frente a cepa clínica M4
- d. CMI del aceite esencial de clavo frente a cepa clínica M1

La figura 5.4 muestra los resultados de la CMI para la vancomicina, dando 2ug/ml en todas las cepas excepto en la cepa *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) ATCC 43300M en la que la CMI fue de 8ug/ml.

Figura 5.4. Concentración Mínima inhibitoria para la Vancomicina



- a. CMI de vancomicina frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- b. CMI de vancomicina SAMR: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) ATCC 43300M
- c. CMI vancomicina frente a cepa clínica M4
- d. CMI de vancomicina frente a cepa clínica M1

La tabla 5.5 presenta la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en microgramos por mililitro ( $\mu\text{g/ml}$ ) de los aceites esenciales de los distintos aceites esenciales y un control con vancomicina, utilizada como frente a *Staphylococcus aureus* clínicas y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA)

Tabla 5.5. Concentración mínima inhibitoria de los aceites esenciales comerciales estudiados.

| Aceite esencial comercial | CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) |       |        |        |
|---------------------------|--------------------------|-------|--------|--------|
|                           | S.a ATCC                 | MRSA  | S.a M1 | S.a M4 |
| <b>Muña</b>               | 0.5644                   | 1.135 | 1.135  | 1.135  |
| <b>Tomillo</b>            | 4.575                    | 4.575 | 4.575  | 4.575  |
| <b>Clavo</b>              | 2.555                    | 2.555 | 2.555  | 2.555  |
| <b>Control</b>            |                          |       |        |        |
| <b>Vancomicina</b>        | 2                        | 8     | 2      | 2      |

El aceite esencial de Muña mostró una CMI constante de  $1.13 \mu\text{g/ml}$  contra todas las cepas resistentes (MRSA, M1 y M4), siendo más efectiva contra *S. aureus* sensible (CMI de  $0.544 \mu\text{g/ml}$ ).

El aceite esencial de Tomillo presentó una CMI uniforme de  $4.575 \mu\text{g/ml}$  contra todas las cepas bacterianas, independientemente de su sensibilidad o resistencia.

El aceite esencial de clavo de olor también tuvo una CMI constante de  $2.555 \mu\text{g/ml}$  frente a todas las cepas estudiadas.

EL CMI de Vancomicina (control positivo) mostró efectividad variable, con una CMI de  $2 \mu\text{g/ml}$  para *S. aureus* sensible y cepas específicas (M1 y M4), pero una menor efectividad contra MRSA (CMI de  $8 \mu\text{g/ml}$ ).

## VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La presente investigación evaluó la actividad antibacteriana de los aceites esenciales comerciales de *Minthostachys mollis* (Muña), *Eugenia caryophyllata* (Clavo de olor) y *Thymus vulgaris* (Tomillo) frente a diversas cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles (ATCC) y resistentes, incluyendo MRSA y cepas clínicas (M1 y M4). Como controles, se utilizaron vancomicina (positivo) y DMSO (negativo). Contrastando la hipótesis de que su efecto inhibitorio varía según la concentración utilizada.

La calidad de los aceites fue validada mediante características organolépticas (Tabla 5.1), confirmando su autenticidad y homogeneidad. Los resultados de cromatografía de gases-espectrometría de masas (Tabla 5.2) identificaron compuestos clave en la Muña: Menthone (21.09%) y Pulegone (24.04%), conocidos por su actividad antimicrobiana. El aceite esencial de Clavo de Olor: Eugenol (74.2%), principal responsable de su efecto inhibitorio y el Tomillo tiene Timol (42.69%) y Benceno (28.45%), asociados a una actividad antimicrobiana.

Esta composición explica, en parte, las diferencias observadas en la actividad antibacteriana, donde la Muña mostró mayor eficacia en comparación con Clavo y Tomillo.

La tabla 5.3 evidenció un perfil variable de resistencia entre las cepas de *S. aureus* evaluadas. La cepa *S. aureus* M1 fue sensible a la mayoría de los antibióticos evaluados, excepto Bencilpenicilina G. En contraste, la cepa M4 mostró resistencia a múltiples antibióticos, incluidos Oxacilina, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Eritromicina, Clindamicina, Tetraciclina y Trimetoprima/Sulfametoxazol. Estos resultados confirman la relevancia de evaluar alternativas naturales, como los aceites esenciales, frente a cepas multirresistentes.

El aceite esencial comercial de Muña presentó la mayor actividad antibacteriana. A concentraciones del 100% y 75%, se observaron halos de inhibición más amplios (18 mm y 15 mm, respectivamente) frente a *S. aureus* ATCC y cepas clínicas. Aunque su actividad disminuyó a 50% de concentración, los halos (10-12 mm) aún fueron aceptables. Estos resultados se relacionan con su baja CMI (0.564 µg/ml para *S. aureus* ATCC y 1.135 µg/ml para MRSA y cepas clínicas), lo que sugiere una alta potencia antibacteriana incluso frente a cepas resistentes. Cabe destacar que el aceite de Muña superó la actividad



de la vancomicina, cuya CMI fue de 8  $\mu\text{g/ml}$  frente a MRSA. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Barón Guerrero y Velásquez (2021), quienes identificaron halos de inhibición significativos asociados a los compuestos fenólicos y monoterpenos presentes en este aceite. Dichos compuestos son conocidos por alterar la membrana celular bacteriana y afectar procesos metabólicos esenciales, lo que explicaría su eficacia.

Por otro lado, el aceite esencial de Clavo de olor mostró una actividad antibacteriana moderada. A concentración del 100%, los halos de inhibición oscilaron entre 10-12 mm, disminuyendo progresivamente a concentraciones del 75% y 50%. Además, la CMI se mantuvo constante en 2.555  $\mu\text{g/ml}$  para todas las cepas, lo que refleja una eficacia intermedia en comparación con Muña y Tomillo. Estudios previos, como el de Al Mijalli et al. (2023), respaldan estos resultados al atribuir la actividad antimicrobiana del Clavo de olor a su componente principal, el eugenol, conocido por su capacidad para afectar la permeabilidad de la membrana bacteriana. Si bien su efectividad es inferior a la de Muña, su homogeneidad frente a cepas resistentes sugiere que podría ser utilizado en estrategias terapéuticas específicas.

En contraste, el aceite esencial de Tomillo fue el menos efectivo de los tres evaluados. A concentración del 100%, los halos de inhibición fueron pequeños (5-7 mm), y disminuyeron aún más al 75% y 50% (3-5 mm). La CMI fue la más alta entre los aceites esenciales evaluados (4.575  $\mu\text{g/ml}$ ), lo que confirma su menor potencia antimicrobiana. Estos resultados coinciden con lo observado por Uzair et al. (2017), donde el aceite de Tomillo mostró una actividad limitada en comparación con aceites como el de Clavo o Canela. La presencia de timol y carvacrol, compuestos con propiedades antimicrobianas conocidas, explicaría su efecto inhibitorio. No obstante, su alta concentración requerida sugiere que podría ser más adecuado como complemento en terapias combinadas para potenciar su actividad.

Por su parte, el control positivo (Vancomicina) validó la eficacia del ensayo al presentar halos de inhibición amplios en cepas sensibles (*S. aureus* ATCC, M1 y M4) con CMI de 2  $\mu\text{g/ml}$ , aunque su actividad fue limitada frente a MRSA (10 mm y CMI de 8  $\mu\text{g/ml}$ ). Este resultado evidencia la creciente resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales, reforzando la necesidad de alternativas terapéuticas como los aceites esenciales.

Los resultados sugieren que el aceite esencial de Muña es el más prometedor como agente antimicrobiano, debido a su alta eficacia incluso a bajas concentraciones frente a cepas resistentes y sensibles de *Staphylococcus aureus*. Por otro lado, los aceites de Clavo de



olor y Tomillo, aunque menos efectivos, podrían ser utilizados en combinación con otros agentes antimicrobianos para optimizar su actividad.

Por tanto, los aceites esenciales representan una prometedora línea de investigación para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos. Estos hallazgos respaldan el uso potencial de los aceites esenciales en aplicaciones médicas y farmacéuticas, ofreciendo alternativas naturales a los antibióticos convencionales. Sin embargo, se requiere más investigación para comprender completamente su mecanismo de acción y garantizar su seguridad y eficacia en aplicaciones clínicas.

## 6.2 Responsabilidad ética de acuerdo con los reglamentos vigentes

Toda la información expuesta en este trabajo fue correctamente citada y se respetando la autoría de éstos.

## VII. CONCLUSIONES

1. El aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) mostró la mayor actividad antibacteriana, con halos de inhibición amplios a concentraciones del 100% y 75%, y una eficacia moderada al 50%. En comparación, el aceite de *Eugenia caryophyllata* (Clavo de Olor) presentó una actividad moderada, mientras que el aceite de *Thymus vulgaris* (Tomillo) fue el menos efectivo.
2. Las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) fueron más bajas para el aceite de Muña (0.564–1.135 µg/ml), seguido del aceite de Clavo de Olor (2.555 µg/ml) y del aceite de Tomillo (4.575 µg/ml), demostrando la mayor eficacia de la Muña frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* evaluadas.
3. Los principales componentes químicos identificados fueron Menthone (21.09%), Pulegone (24.04%) y Carvacrol (11.37%) en Muña; Eugenol (74.2%) y Humuleno (9.9%) en Clavo de Olor; y Timol (42.69%) y Benceno (28.45%) en Tomillo, lo que explica, en parte, su actividad antimicrobiana.



## VIII. RECOMENDACIONES

- \_ Es fundamental considerar la variabilidad en la composición química de los aceites esenciales, la cual puede estar influenciada por factores como el método de extracción, las condiciones de almacenamiento y el proveedor del producto.
- \_ Por ello, se recomienda que futuros estudios realicen un análisis exhaustivo y comparativo de los perfiles químicos de los aceites esenciales provenientes de diferentes proveedores y regiones geográficas. Esto permitirá establecer estándares claros sobre su composición, pureza y seguridad, asegurando que cumplan con criterios de aceptabilidad y no toxicidad, especialmente para su uso en aplicaciones terapéuticas y médicas.



---

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 1 de febrero de 2008;46(2):446-75.
2. Kenia Barrantes Jiménez, Luz Chacón Jiménez, María Arias Andrés. El impacto de la resistencia a los antibióticos en el desarrollo sostenible. *Población y Salud en Mesoamérica*. 1 de noviembre de 2021;(19).
3. Molinero A, Carbajal De Lara JA, Cantalapedra Fernández F, Eguilleor Villena A, Gutiérrez Ríos P. Análisis de la demanda de antibióticos en farmacia comunitaria con receta privada, prescripción irregular y sin receta (automedicación): perfil de las farmacias y los farmacéuticos comunitarios participantes. *FC*. 30 de marzo de 2018;10(1):18-32.
4. González Mendoza J, Maguiña Vargas C, de María González Ponce F. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. (Spanish): Resistance to antibacterial agents: A serious problem. (English). *Acta Médica Peruana*. abril de 2019;36(2):145-51.
5. Verlet N. The World Herbs And Essential Oils Economy - Analysis Of The Medium Term Development. *Acta Horti*. mayo de 1992;(306):474-81.
6. Cowan MM. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev*. octubre de 1999;12(4):564-82.
7. Al-Mijalli SH, El Hachlafi N, Abdallah EM, Jeddi M, Assaggaf H, Qasem A, et al. Exploring the antibacterial mechanisms of chemically characterized essential oils from leaves and buds of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Industrial Crops and Products*. 1 de diciembre de 2023;205:117561.
8. Moliva MV, Cariddi LN, Pereyra ER, Raviolo JM, Sambuceti N, Posadaz A, et al. Evaluation of antibacterial and antibiofilm properties of *Minthostachys verticillata* essential oils against bovine *Staphylococcus aureus* strains. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 1 de julio de 2023;50.
9. Kim Y, Kim S, Cho KH, Lee JH, Lee J. Antibiofilm Activities of Cinnamaldehyde Analogs against Uropathogenic *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*. julio de 2022;23(13):7225-N.PAG.
10. Assefa T, Tesso H, Abdisa E, Guta L, Melaku Y. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils from Selected Species of the Genus *Cucumis* in Ethiopia. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*. julio de 2023;37(3):703-15.
11. Ali T, Anjum AA, Sattar MMK, Ali MA, Kamran M, Tariq M, et al. Antibacterial activity of plant essential oils against indigenously characterized methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Trop Biomed*. 1 de marzo de 2022;39(1):17-25.



12. Sipahi N, Kekeç AI, Halaç B. In Vitro Effect of Some Essential Oils against Multiple Antibiotic-Resistant Bacteria from Cats and Dogs. *Pakistan Veterinary Journal*. octubre de 2022;42(4):561-5.
13. Uzair B, Niaz N, Bano A, Khan BA, Zafar N, Iqbal M, et al. Essential oils showing in vitro anti MRSA and synergistic activity with penicillin group of antibiotics. *Pak J Pharm Sci*. septiembre de 2017;30(5(Supplementary)):1997-2002.
14. Ruiz-Duran J, Torres R, Stashenko EE, Ortiz C. Antifungal and Antibiofilm Activity of Colombian Essential Oils against Different Candida Strains. *Antibiotics*. abril de 2023;12(4):668.
15. Sánchez-Tito M, Cartagena-Cutipá R, Collantes-Díaz I. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Griseb) L. frente a *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*: Antibacterial effect of *Minthostachys mollis* (Griseb) L. essential oil against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. julio de 2021;40(3):1-14.
16. Baron Guerrero, Velásquez Espinoza C. EFICACIA ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (*Minthostachys mollis*) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* [Internet] [Tesis de Título de Químico Farmacéutico]. [Huancayo]: Universidad Roosevelt; 2021. Disponible en: [https://repositorio.uoosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/682/TESIS\\_YOMAR-CHRISTIAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uoosevelt.edu.pe/bitstream/handle/ROOSEVELT/682/TESIS_YOMAR-CHRISTIAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
17. WHO [Internet]. [citado 8 de mayo de 2019]. OMS | Medicina tradicional: definiciones. Disponible en: [https://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/definitions/es/](https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/)
18. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023 [Internet]. [citado 8 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://apps.who.int/medicinedocs/es/m/abstract/Js21201es/>
19. Del curanderismo a la influenza aviaria: viejas y nuevas perspectivas de la antropología médica [Internet]. [citado 8 de mayo de 2019]. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1607-050X2006000100001](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1607-050X2006000100001)
20. Arthur JC, Barnes CR, Coulter JM, Coulter MS, University of Chicago. *Botanical gazette*. [Internet]. Chicago [etc.] University of Chicago Press [etc.]; 1875 [citado 23 de febrero de 2019]. 427 p. Disponible en: <http://archive.org/details/mobot31753002216957>
21. Hidalgo PCC. La Etnobotánica Y Su Importancia Como Herramienta Para La Articulación Entre Conocimientos Ancestrales Y Científicos. :44.
22. Álvarez B. La etnobotánica. Breve historia de una ciencia interdisciplinar. «De plantas, cultura e interdisciplinaridad. Etnobotánica+». 2016.
23. Avello L M, Cisternas F I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. *Revista médica de Chile*. octubre de 2010;138(10):1288-93.



24. Peters M. Essential Oils : Historical Significance, Chemical Composition, and Medicinal Uses and Benefits [Internet]. Hauppauge, New York: Nova Science Publishers, Inc; 2016 [citado 7 de septiembre de 2023]. (Chemistry Research and Applications). Disponible en: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&AuthType=ip,sso&db=nlebk&AN=1286299&lang=es&site=eds-live&scope=site>
25. González Villa ÁA. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. abril de 2004 [citado 2 de octubre de 2023]; Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/2800>
26. Antonio Sánchez-Tito M, Collantes-Díaz I. Actividad antimicrobiana de fracciones obtenidas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a patógenos orales: Antimicrobial activity of fractions obtained from essential oil of *Minthostachys mollis* against oral pathogens. *Revista Habanera de Ciencias Medicas*. 7 de agosto de 2021;20(4):1-6.
27. Balboa Laura MH. Equipo Experimental Para La Destilación Por Arrastre De Vapor (Dav) De Aceites Esenciales, Caso: Cáscara De Naranja Dulce (*Citrus Sinesis*). *Revista Tecnológica*. /;12.
28. Enright MC, Robinson DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 28 de mayo de 2002;99(11):7687-92.
29. Nesme J, Simonet P. The soil resistome: a critical review on antibiotic resistance origins, ecology and dissemination potential in telluric bacteria. *Environ Microbiol*. abril de 2015;17(4):913-30.
30. Foster TJ. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. *FEMS Microbiol Rev*. 1 de mayo de 2017;41(3):430-49.
31. ISO 9235:2021(es), Materias primas naturales aromáticas. Vocabulario [Internet]. [citado 28 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.iso.org/obp/ui/en/#iso:std:78908:en>
32. Weinstein MP, Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 2019.
33. Liu M, Seidel V, Katerere DR, Gray AI. Colorimetric broth microdilution method for the antifungal screening of plant extracts against yeasts. *Methods*. 1 de agosto de 2007;42(4):325-9.



## ANEXO 1

### MATRIZ DE CONSISTENCIA

#### TITULO: EFECTO ANTIMICROBIANO DE ACEITES ESENCIALES COMERCIALES FRENTE A *Staphylococcus aureus* DE RESISTENCIA MÚLTIPLE

| PROBLEMA   | OBJETIVOS  | HIPÓTESIS   | VARIABLES  | METODOLOGÍA            |                       |             |           |                  |                       |                                      |                  |                     |    |                             |               |       |  |
|--|--|---|--|------------------------|-----------------------|-------------|-----------|------------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------|---------------------|----|-----------------------------|---------------|-------|--|
| <p><b>1.2.1 Problema general</b><br/>¿Cuál es el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de uso comercial contra <i>Staphylococcus aureus</i> de resistencia múltiple?</p> <p><b>1.2.2 Problemas específicos</b></p> <p>1. ¿Cuáles son las características organolépticas de los aceites esenciales comerciales en estudio?</p> <p>2. ¿Cuál es la susceptibilidad antibiótica de <i>Staphylococcus aureus</i> aisladas de procesos infecciosos en pacientes tratados en un hospital?</p> <p>3. ¿Cuál es la actividad antibacteriana de los aceites esenciales seleccionados al 100% ,75% y 50% frente <i>Staphylococcus aureus</i> de resistencia múltiple?,</p> <p>4. ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales comerciales en <i>Staphylococcus aureus</i> de resistencia múltiple?</p> | <p><b>Objetivo general:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Determinar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de uso comercial contra <i>Staphylococcus aureus</i> de resistencia múltiple</li> </ul> <p>▪ <b>Objetivos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– Identificar las características organolépticas de los aceites esenciales comerciales en estudio.</li> <li>– Identificar la susceptibilidad antibiótica de <i>Staphylococcus aureus</i> de resistencia múltiple aisladas de procesos infecciosos en pacientes tratados en un hospital.</li> <li>– Evaluar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales al</li> </ul> | <p>3.1.1 Hipótesis general</p> <p>Los aceites esenciales de venta comercial en estudio inhiben el crecimiento bacteriano in vitro de las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> de resistencia múltiple y el efecto varía de acuerdo con la concentración utilizada.</p> <p>3.1.2 Hipótesis específicas</p> <p>1.El componente principal en los aceites esenciales en estudio son los terpenos.</p> <p>2.La concentración mínima inhibitoria (CMI) es moderada de los aceites esenciales</p> | <p>Variable independiente (x): Concentraciones de aceites esenciales</p> <p>Variable dependiente (y): efecto antibacteriano frente a <i>Staphylococcus aureus</i> de resistencia múltiple</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">Variable independiente</th> <th style="width: 15%;">Definición conceptual</th> <th style="width: 15%;">Dimensiones</th> <th style="width: 15%;">Indicador</th> <th style="width: 15%;">Unidad de medida</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">Efecto antibacteriano</td> <td rowspan="2">Inhibición de crecimiento bacteriano</td> <td>Difusión en pozo</td> <td>Halos de inhibición</td> <td>mm</td> </tr> <tr> <td>Microdilución colorimétrica</td> <td>Medida de CMI</td> <td>mg/ml</td> </tr> </tbody> </table> | Variable independiente | Definición conceptual | Dimensiones | Indicador | Unidad de medida | Efecto antibacteriano | Inhibición de crecimiento bacteriano | Difusión en pozo | Halos de inhibición | mm | Microdilución colorimétrica | Medida de CMI | mg/ml | <p>Según el manejo de variables es Cuantitativa y Experimental, estableciéndose las relaciones causa/efecto</p> <p>Experimental: Porque el investigador va a manipular las condiciones de la investigación.</p> <p>El diseño de la investigación se puede representar de la siguiente manera:</p> <p style="margin-left: 20px;">G1   X1   O1</p> <p style="margin-left: 20px;">G2   -   O2</p> <p style="margin-left: 20px;">G3   +   O3</p> <p>G1, G2 y G3: Grupos de cepas</p> |
| Variable independiente   | Definición conceptual  | Dimensiones   | Indicador  | Unidad de medida       |                       |             |           |                  |                       |                                      |                  |                     |    |                             |               |       |  |
| Efecto antibacteriano  | Inhibición de crecimiento bacteriano   | Difusión en pozo  | Halos de inhibición  | mm                     |                       |             |           |                  |                       |                                      |                  |                     |    |                             |               |       |  |
|  |  | Microdilución colorimétrica   | Medida de CMI  | mg/ml                  |                       |             |           |                  |                       |                                      |                  |                     |    |                             |               |       |  |



|  |   |  |  |  |
|--|---|--|--|--|
|  | <p>100% ,75% y 50% frente <i>Staphylococcus aureus</i> de resistencia múltiple.</p> <p>– Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales en <i>Staphylococcus aureus</i> de resistencia múltiple</p> | <p>comerciales frente a <i>Staphylococcus aureus</i> de resistencia múltiple</p> |  | <p>X1: Tratamiento con aceite esenciales</p> <p>O1, O2 y O3: Efecto antibacteriano</p> |
|--|---|--|--|--|





## Ficha Técnica de Producto

|                   |                                  |
|-------------------|----------------------------------|
| Nombre Comercial  | Aceite Esencial de Clavo de olor |
| Nombre Científico | <i>Eugenia caryophyllata</i>     |
| ID Producto       | EOP - 23-9118                    |

### INFORMACIÓN GENERAL

|        |                                |
|--------|--------------------------------|
| N° CAS | 8015-97-2                      |
| INCI   | EUGENIA CARYOPHYLLATA LEAF OIL |

### ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

|                              |                                   |
|------------------------------|-----------------------------------|
| Parte de la planta utilizada | Hojas                             |
| Método de Extracción         | Destilación por arrastre de vapor |

### CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

|         |                 |
|---------|-----------------|
| Color   | Amarillo pálido |
| Olor    | Picante         |
| Aspecto | Líquido         |

### CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

|                           |                    |
|---------------------------|--------------------|
| Densidad a 20° C (g/ml)   | 1.002 - 1.042 g/ml |
| Índice de Refracción 20°C | 1.530 - 1.535      |

### ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

GUARDAR EN RECIPIENTES LLENOS Y CERRADOS, EN LUGAR FRESCO Y SECO Y AL ABRIGO DE LA LUZ DIRECTA. SUPERADOS LOS 24 MESES DE ALMACENAJE, SE DEBERÁ CONTROLAR LA CALIDAD ANTES DE USAR.



## Ficha Técnica de Producto

|                   |                            |
|-------------------|----------------------------|
| Nombre Comercial  | Aceite Esencial de Tomillo |
| Nombre Científico | <i>Thymus vulgaris</i>     |
| ID Producto       | EOP - 27-9118              |

### INFORMACIÓN GENERAL

|        |                          |
|--------|--------------------------|
| N° CAS | 84929-51-1               |
| INCI   | THYMUS VULGARIS LEAF OIL |

### ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

|                              |                                   |
|------------------------------|-----------------------------------|
| Parte de la planta utilizada | Hojas                             |
| Método de Extracción         | Destilación por arrastre de vapor |

### CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

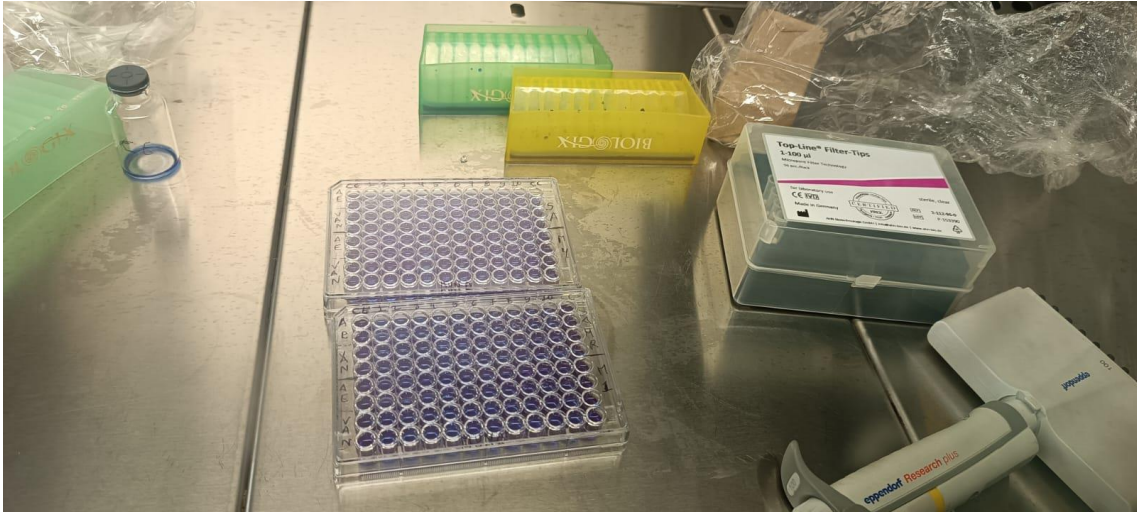
|         |                                |
|---------|--------------------------------|
| Color   | Transparente a amarillo pálido |
| Olor    | Herbáceo, picante              |
| Aspecto | Líquido                        |

### CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

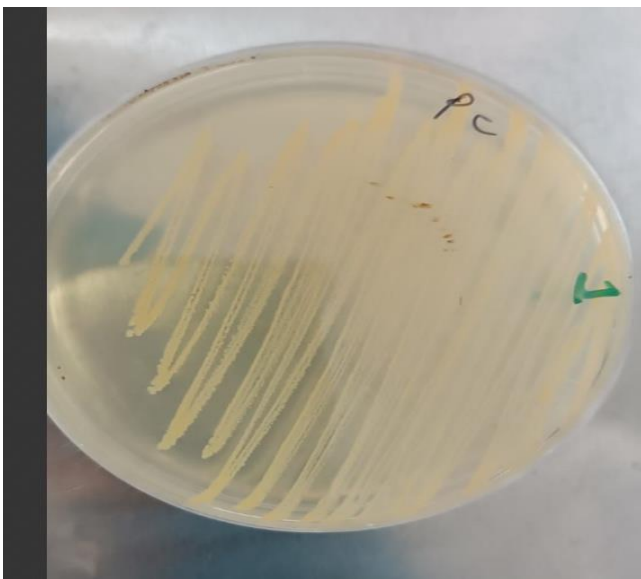
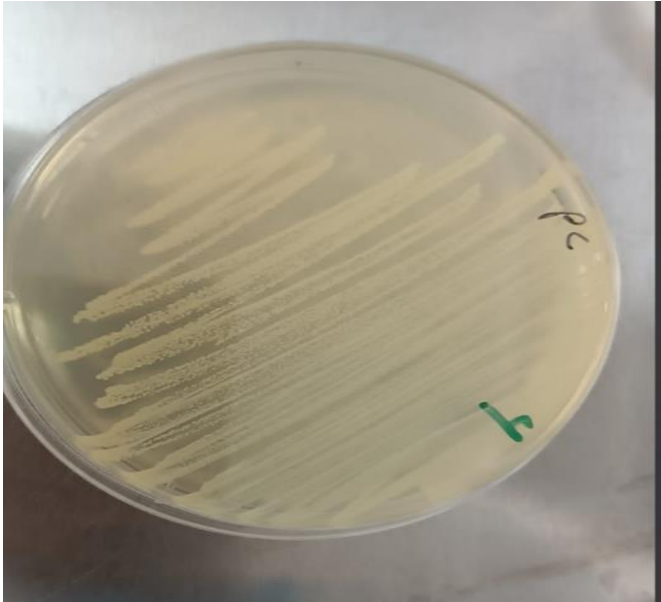
|                           |                  |
|---------------------------|------------------|
| Densidad a 20° C (g/ml)   | 0.88 - 0.95 g/ml |
| Índice de Refracción 20°C | 1.480 - 1.535    |

### ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

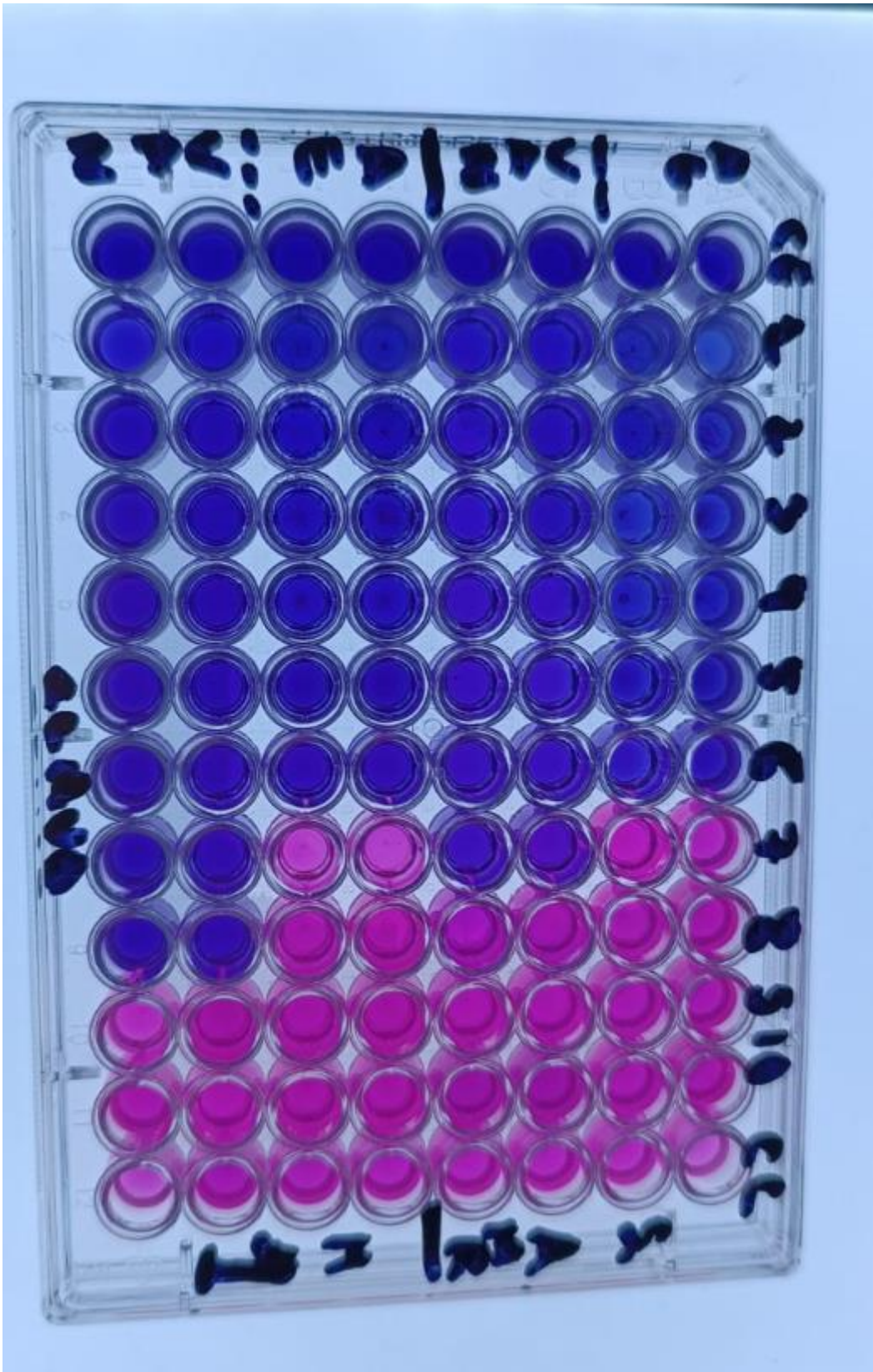
GUARDAR EN RECIPIENTES LLENOS Y CERRADOS, EN LUGAR FRESCO Y SECO Y AL ABRIGO DE LA LUZ DIRECTA. SUPERADOS LOS 24 MESES DE ALMACENAJE, SE DEBERÁ CONTROLAR LA CALIDAD ANTES DE USAR.



*Handwritten signature*



*Handwritten signature*



*Dr. [Signature]*

## UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

### Informe de resultados

---

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| Solicitante:                    | Noemi Zuta<br>Universidad Nacional del Callao  |
| Muestra:                        | 1 muestra de aceite esencial   |
| Análisis:                       | Composición química de compuestos volátiles por<br>Cromatografía de gases acoplada a espectrometría<br>de masas. |
| Fecha de entrega de Resultados: | 09 de abril de 2024  |

---

### RESULTADOS

En la página 2 a 3 del presente informe.

Atentamente,



**Dr. Billy Cabanillas Amado**

Unidad de Investigación en Productos Naturales LID-Laboratorio 209

e-mail: rosario.rojas@upch.pe

<https://investigacion.cayetano.edu.pe/catalogo/productosnaturales/uiipn>

Teléfono: 51-1-3190000 Anexo 233227



---

## Reporte de resultados

**Código de muestra:** Aceite esencial de muña

Se identificaron 32 compuestos que comprenden el 100% de la composición total

| Número | Nombre del compuesto (NIST 08.L)              | t <sub>R</sub> (min) | % en la muestra (áreas relativas) |
|--------|---|----------------------|-----------------------------------|
| 1      | β-Cymene                                      | 19.38                | 1.14                              |
| 2      | D-Limonene                                    | 19.63                | 0.37                              |
| 3      | γ-Terpinene                                   | 21.04                | 0.90                              |
| 4      | β-Linalool                                    | 23.01                | 0.43                              |
| 5      | Menthone                                      | 26.05                | 21.09                             |
| 6      | Isomenthone                                   | 26.49                | 2.48                              |
| 7      | Isopulegone                                   | 26.98                | 1.14                              |
| 8      | α-Terpineol                                   | 27.92                | 0.26                              |
| 9      | cis-Dihydrocarvone                            | 28.08                | 3.94                              |
| 10     | trans-Dihydrocarvone                          | 28.44                | 0.52                              |
| 11     | Desconocido C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O | 28.60                | 0.33                              |
| 12     | Desconocido C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O | 29.02                | 0.22                              |
| 13     | Desconocido                                   | 29.10                | 0.45                              |
| 14     | β-Citronellol                                 | 29.28                | 0.35                              |
| 15     | Pulegone                                      | 30.26                | 24.04                             |
| 16     | Carvone                                       | 30.52                | 3.12                              |
| 17     | Piperitone                                    | 31.14                | 2.51                              |
| 18     | Thymol  | 33.09                | 4.72                              |
| 19     | Carvacrol                                     | 33.68                | 11.37                             |
| 20     | Piperitenone                                  | 36.41                | 1.04                              |
| 21     | Thymol acetate                                | 36.54                | 1.61                              |
| 22     | Carvacrol acetate                             | 37.70                | 7.76                              |
| 23     | Geranyl acetate                               | 38.36                | 1.72                              |
| 24     | α-Copaene                                     | 38.62                | 0.54                              |
| 25     | β-Bourbonene                                  | 39.12                | 0.47                              |
| 26     | β-Caryophyllene                               | 41.13                | 2.84                              |
| 27     | α-Caryophyllene                               | 43.02                | 0.64                              |

Página 2 de 3



|    |                          |       |      |
|----|--------------------------|-------|------|
| 28 | Germacrene D             | 44.28 | 1.07 |
| 29 | $\beta$ -Cyclogermacrane | 44.99 | 0.34 |
| 30 | $\delta$ -Cadinene       | 45.97 | 0.75 |
| 31 | Spathulenol              | 48.83 | 0.98 |
| 32 | Caryophyllene oxide      | 49.12 | 0.91 |

**Cromatograma de GC-MS:**

