



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Thymus vulgaris* sobre
Staphylococcus aureus y *Escherichia coli*: una revisión
sistemática

TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL
DE MÉDICO CIRUJANO

AUTOR:

Silva Rodríguez, Diego 0000-0001-5201-2474

ASESOR:

Dr. William Gil Castro Paniagua 0000-0001-5817-8053

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

TRUJILLO – PERÚ

2021

DEDICATORIA

Dedicado a mis
padres y hermanos
sin los cuales no
podría haber llegado
tan lejos, gracias por
la unión y apoyo
incondicional.

Dedicado a todas aquellas personas que me
enseñaron el camino y me ayudaron crecer como
persona

Diego Silva Rodríguez

AGRADECIMIENTO

A mi madre por su comprensión y paciencia que ha tenido conmigo tanto como su amor incondicional que me ha brindado.

A mi padre por todos los consejos y apoyo que me ha brindado siempre buscando lo mejor para nosotros como familia.

A mi asesor: William Gil Castro Paniagua por compartir sus conocimientos conmigo siempre en búsqueda de mejorar nuestra formación como profesionales.

A la universidad Cesar Vallejo que me brindo la oportunidad de realizar mi carrera y me puso una multitud de personas inolvidables en mi camino.

Contenido

I.	INTRODUCCIÓN	3
II.	MARCO TEÓRICO.....	7
III.	METODOLOGÍA	16
IV.	RESULTADOS	20
V.	DISCUSIÓN	24
VI.	CONCLUSIONES	28
VII.	RECOMENDACIONES	29

RESUMEN

Escherichia coli y *Staphylococcus aureus* son patógenos con alta prevalencia de infección y mortalidad. Debido a su gran importancia, se ha estudiado la acción de diferentes aceites esenciales para analizar sus acciones contra estos patógenos. En esta revisión sistemática, se discute la acción antibacteriana que el aceite esencial de tomillo tuvo en una multitud de estudios, analizando la concentración inhibitoria mínima (CIM) y halos de inhibición; así como también la composición química de estos. Cuatro bases de datos fueron revisados sistemáticamente mediante el uso de palabras claves: aceite de tomillo, efecto antibacteriano, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Se aplicaron los criterios de inclusión para descartar los artículos que no serán utilizados. Posteriormente se utilizaron los criterios del Cochrane Library para analizar el riesgo de sesgo de los artículos seleccionados. La mayoría de los artículos encontrados se basan en estudios in vitro donde predomina *E. coli*. Los resultados obtenidos son muy variables para ambos patógenos (*E. coli*: CIM: 0.001 - 3.125 mg/mL halos de inhibición: 7 - 35 mm) (*S. aureus*: CIM: 0.0005 - 6.25 mg/mL halos de inhibición: 8 - 45 mm). Se demostró que al tener mayor concentración de timol se tuvo mayor efecto antibacteriano.

Palabras claves:

Aceite de tomillo, efecto antibacteriano, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Escherichia coli and *Staphylococcus aureus* are pathogens with a high prevalence of infection and mortality. Due to its great importance, the action of different essential oils has been studied to analyze their actions against these pathogens. In this systematic review, the antibacterial action that thyme essential oil had is discussed in a multitude of studies analyzing the minimum inhibitory concentration (MIC) and inhibition halos; The chemical composition of these essential oils was also analyzed. Four databases were systematically reviewed using keywords: thyme oil, antibacterial effect, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. After this, the articles were evaluated and the inclusion criteria of the study were applied to discard the excess articles. Subsequently, the remaining articles were assessed using the Cochrane Library criteria to analyze the risk of bias. Most of the articles found are based on in vitro studies, with a higher amount found for *E. coli*. The results obtained are highly variable for both pathogens (*E. coli*: MIC: 0.001 - 3.125 mg / mL inhibition halos: 7 - 35 mm) (*S. aureus*: MIC: 0.0005 - 6.25 mg / mL inhibition halos: 8 - 45 mm). It was shown that having a higher concentration of thymol had a greater antibacterial effect.

Key words:

Thyme oil, antibacterial effect, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

Al nivel mundial hay un incremento de la resistencia bacteriana frente al tratamiento convencional, lo cual pone en peligro la eficacia de los antibióticos que se ha utilizado para salvar las vidas de millones de personas. Esto se debe a una multitud de factores entre los cuales, los más resaltantes son el uso inadecuado de medicamentos así como la falta de desarrollo de nuevas terapias antibacterianas por parte de las empresas farmacéuticas. (1) Debido al incremento de incidencia de casos de infecciones por patógenos resistentes a tratamiento antibacteriano, el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos clasificaron los patógenos según el peligro que presentan para formar cepas resistentes a tratamiento farmacológico. Entre los patógenos de amenaza seria podemos encontrar patógenos como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. (2)

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) es un agente oportunista que puede ocasionar un amplio rango de enfermedades. Este patógeno es una de las causas principales de bacteriemia y está asociado con infecciones severas como endocarditis infecciosa, artritis séptica, osteomielitis, sepsis y shock séptico. Se estima que, en países desarrollados, la incidencia de bacteriemia por *S. aureus* puede variar desde 38.2 - 45.7 por 100 000 personas en EEUU hasta alcanzar 80 - 190 casos por 100 000 habitantes en otros países. (3,4)

En Latinoamérica, la prevalencia de infección por *S. aureus* es variable, se estima que alrededor de 12 - 17.1% del personal de salud es portador de *S. aureus*, sin embargo, se puede llegar a valores hasta un 72% según estudios realizados en Colombia. Sin embargo, se ha encontrado que la tasa de infección es mayor en *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) llegando hasta un 36.4% del personal de salud. Esto es de suma importancia ya que se ha visto debido a una multitud de factores de riesgo, hay una tasa alta de infecciones intrahospitalaria causada por este patógeno lo cual conlleva a una alta tasa de mortalidad debido a estas infecciones. (5)

Entre los años 2017 - 2018 en el hospital Cayetano Heredia del Perú, se encontró que la incidencia de bacteriemia por *S. aureus* fue de 120 casos, de los cuales, el 53.4% de estos patógenos fueron sensibles a meticilina mientras el 46.6% de estos patógenos presentaron una resistencia a meticilina. Se encontró

que los pacientes que presentaron estos patógenos resistentes a fármacos a la vez requerían un mayor tiempo de hospitalización y requerían administración en la unidad de cuidados intensivos en un 61.9% en comparación con 38.1% para aquellos con patógenos sensibles a meticilina. (6)

La bacteriemia por *S. aureus* causa una carga significativa al sector salud debido a su alta tasa de mortalidad de alrededor de 20 - 30%, tanto como una alta tasa de morbilidad. Esta, a su vez, está empeorando debido a las complicaciones potencialmente mortales como infecciones metastásicas las cuales requieren una admisión a la unidad de cuidado intensivos (UCI) y que presentan una mala prognosis debido al sitio anatómico que está afectando o la dificultad de llegar a un diagnóstico precoz.(7)

Escherichia coli es el agente bacteriano más estudiado, éste coloniza el tracto gastrointestinal y es uno de los patógenos de mayor importancia en los humanos. Es la bacteria gram negativa más frecuentemente aislada en casos de infecciones del torrente sanguíneo tanto como en infecciones del tracto urinario (ITU). *E. coli* es el bacilo aislado con mayor frecuencia en el tracto genital en las mujeres, el cual puede ocasionar colonización vaginal o endocervical tanto como diferentes complicaciones en mujeres embarazadas como infecciones intraamnióticas, puerperales u otras infecciones neonatales como sepsis. (8)

Escherichia coli productora de toxina shiga (STEC) es una causa importante de diarrea al nivel mundial debido a la severidad de enfermedad que ocasiona. Datos de la incidencia al nivel mundial son limitados, pero según la información recopilado en estudios y la información de 10 de 14 subregiones de la Organización Mundial de salud se estima que presenta una incidencia de alrededor de 2.8 millones de casos por año. En los EEUU, la CDC reportó en 2019 una incidencia de 6.3 por cada 100 000 personas lo cual equivale a un aumento de 34% de la incidencia del 2016 al 2018. (9)

En el Perú, se aisló STEC en pacientes pediátricos menores de 5 años de edad, lo cual tuvo como resultado: 0,8% de las 4240 muestras de niños con diarrea y 0.5% de 3760 niños sin diarrea. En otro estudio realizado en el Hospital Nacional Cayetano Heredia, en 131 niños menores de 5 años con disentería, se encontró STEC en el 9.2% confirmado por PCR. (10)

La diarrea es la tercera causa de mortalidad en niños menores de 5 años de edad y a la vez, es una de las principales causas de morbilidad. Según un análisis global se concluyó que aproximadamente el 10.41% de los niños menores de 5 años mueren debido a deshidratación por diarrea y a la vez se ve que en otro porcentaje se complica el crecimiento y desarrollo de los niños generando a mayores secuelas. (10)

Estas dos bacterias son agentes de gran impacto en las infecciones comunitarias tanto como intrahospitalarias en el Perú. Debido a diferentes factores se ha visto el incremento de la resistencia de estos patógenos frente al tratamiento convencional lo cual lleva como complicación llevar un inadecuado tratamiento del paciente, dificulta el manejo y lleva a mayores gastos al sector salud y el paciente.

Es por esto que se planteó el siguiente problema para la investigación; ¿Cuál es la eficacia del efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Thymus vulgaris* sobre el *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*?

La revisión sistemática se elabora con la finalidad de determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas del *Thymus vulgaris* sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, los cuales son agentes bacterianos con alta tasa de morbilidad y mortalidad. Para lograr una comparación definitiva del efecto antibacteriano, se hará una búsqueda bibliográfica estructurada y posteriormente se va a extraer la información relevante a la dosis, el halo de inhibición y la concentración de timol y carvacrol.

Debido a diversos factores, se ha notado un incremento de la resistencia microbiana frente a distintos tipos de antibióticos a nivel mundial. Esto es especialmente alarmante ya que hay diversas cepas bacterianas las cuales pueden ocasionar enfermedad mortal. Por lo tanto, es importante evaluar y analizar las diferentes terapias disponibles en el Perú que nos podrían dar un beneficio en el manejo de enfermedades graves. El tomillo se ha estudiado anteriormente y se ha documentado un amplio espectro antimicrobiano, por lo cual en esta oportunidad buscamos enfocarnos más en agentes etiológicos de una alta tasa de formar resistencia al tratamiento farmacológico.

Actualmente existen estudios sobre la eficacia del *Thymus vulgaris* frente al *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, sin embargo, no hay revisiones sistemáticas sobre el tema lo cual podría facilitar los estudios sobre su uso antibacteriano. Por lo tanto, los resultados obtenidos de la investigación podrían ser útil para futuros investigadores y empresas farmacéuticas los cuales podrían fabricar nuevos tratamientos.

Objetivo general:

G1: Determinar la concentración inhibitoria mínima y la composición química del aceite esencial de *Thymus vulgaris* como efecto antibacteriano en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

G2: Determinar los halos de inhibición y la composición química del aceite esencial de *Thymus vulgaris* como efecto antibacteriano en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

II. MARCO TEÓRICO

Semeniuc C et al(11) realizaron un estudio experimental in vitro en cinco cepas bacterianas entre las cuales se encontró *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Analizaron los efectos antibacterianos de cuatro aceites esenciales: perejil, apio, albahaca y tomillo; así como diferentes combinaciones de estos aceites esenciales. Midieron los efectos antibacterianos de estos aceites esenciales mediante el análisis de las zonas de inhibición y su concentración inhibitoria mínima (CIM). Se concluyó que el aceite esencial del tomillo tuvo efectos inhibitorios altos contra *E.coli* (36.41 mm / MIC: 10.80 ul/mL).

Messaoudi et al(12) realizaron un estudio experimental in vitro en siete cepas bacterianas (cinco gram negativos y dos gram positivos), entre las cuales se encontraba *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus*. Se busco evaluar los efectos antibacterianos inhibitorios de los extractos etanolicos y metanólicos del *Thymus algeriensis* en estos agentes. Para evaluar sus efectos inhibitorios, se determinó CIM y la zona inhibitoria (mm) tanto en extracto metanólico como etanólico, siendo los siguientes los resultados (CIM / ZI): *S. aureus*: (19mm/40µg mL) / (15.5mm/65 µg/mL), *E. coli*: (13mm/220µg mL) / (10mm/270µg mL. Se notó que ambas presentaciones no tuvieron acción contra *K. pneumoniae*.

Sakkas, et al(13) realizaron un estudio experimental in vitro en 29 cepas bacterianas consistiendo en cepas de *Staphylococcus aureus* metecilino resistente (MRSA), *Enterococcus* spp. Resistente a vancomicina y *Streptococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), buscando evaluar la eficacia de la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de la albahaca, manzanilla, *origanum*, té de árbol y tomillo. Para evaluar la eficacia, determinaron la CIM y CBM de estos aceites. Los resultados obtenidos para el tomillo fueron los siguientes (CIM/CBM): MRSA (0.06 - 1/0.06 - 1), VRE (0.5 -2/0.32 - 4), *S. aureus* (0.25 - 0.5/ 0.25), *S. epidermidis* (0.12 - 0.25/ 0.12 - 0.25) y *Enterococcus faecalis* (0.25 - 0.5/ 0.25 - 0.5).

Lengyel et al(14) realizaron un estudio in vitro en cepas de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), con aceite esencial (AE) del tomillo (*Thymus vulgaris*) proveniente de distintas áreas geográficas con el fin de evaluar y establecer sus

composiciones químicas y sus efectos antibacterianos utilizando el método Kirby-Bauer. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: AE de India y China: 31 - 34 mm, AE de Europa: 23, 24 y 27 mm. El estudio concluyó que los efectos antibacterianos del tomillo fueron atribuidos al timol, α -terpineol e γ -terpinen, los cuales pueden variar según la región donde el tomillo fue cultivado y los factores ambientales de la misma. Se concluyó que el aceite esencial de tomillo es útil en casos en que no se puede administrar antibióticos convencionales.

Shree et al(15) realizaron un estudio experimental in-vitro en cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas con el fin de evaluar la eficacia antimicrobiana en estos agentes bacterianos proporcionado por el *Thymus vulgaris*. Para evaluar los efectos antimicrobianos del *Thymus vulgaris* se analizó tanto la zona inhibitoria como la concentración inhibitoria mínima (CIM) del aceite esencial sobre los agentes bacterianos. Se encontró que hubo un alto efecto inhibitorio proporcionado por el aceite esencial de tomillo (rango: 27.5 - 45 mm) sobre los agentes sometidos a la prueba, con una mayor acción sobre agentes Gram positivos.

Iseppi et al(16) realizaron un estudio experimental in vitro en 60 muestras de cuatro cepas bacterianas que presentaban una alta resistencia a antibióticos entre los cuales se incluyó *E. coli*, con el fin de evaluar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales (AE) de diferentes plantas incluyendo *Thymus vulgaris*. El método utilizado para obtener la acción antibacteriana fue mediante el método de Kirby-Bauer tanto como el análisis de la CIM de los aceites esenciales frente a los agentes, lo cual presentó que el *Thymus vulgaris* obtuvo un área de inhibición en un rango de 21 -40 mm dependiendo al agente y una CIM de 1 - 16 $\mu\text{g/mL}$. Se concluyó que los AE con mayor actividad ante estos agentes fueron *M.alternifolia* seguido por *Thymus vulgaris*.

Guenane et al(17) realizaron un estudio experimental in vitro en cinco cepas bacterianas dentro de las cuales se encontraron *S. aureus* y *E. coli* con el fin de evaluar los efectos antibacterianos de los extractos de *Thymus vulgaris*, entre otras plantas. Para evaluar los efectos antibacterianos de estos compuestos, se le extrajo aceites esenciales y se analizó los efectos de estos sobre los agentes mediante el método de Kirby-Bauer y a la vez se concluyó sus Concentraciones Inhibitorias Mínimas (CIM) y Concentración Bactericida Mínima (CBM). Se

concluyó que los compuestos con mayor actividad fueron aquellos extraídos del *Aremisia absinthium* seguido por el extracto fenólico del *Thymus vulgaris*.

Teixeria et al(18) realizaron un experimento in vitro con siete cepas bacterianas causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, dentro de los cuales se encontró *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Salmonella typhimurium*; con la finalidad de analizar los efectos antibacterianos y antioxidantes de diecisiete diferentes aceites esenciales provenientes de diferentes plantas entre cuales se encontró el *Thymus vulgaris*. Para analizar su efecto antibacteriano de los aceites esenciales se realizó el método de difusión en disco, y se midió el radio de la zona de inhibición y a la vez se determinó la concentración inhibitoria mínima del aceite esencial. Se encontró que el *Thymus vulgaris* inhibió el crecimiento de todas las cepas bacterianas analizadas y a la vez tuvo unos de los efectos antioxidante más potentes.

Amatiste et al(19) realizaron un estudio experimental in vitro en placas Petri tanto como en queso fresco con cepas de *Staphylococcus aureus* con el fin de evaluar los efectos antibacterianos de los aceites esenciales (AE) del *Thymus vulgaris* y *Origanum vulgare*. El método realizado para determinar el efecto antibacteriano fue mediante el ensayo en difusión de agar midiendo los halos de inhibición, determinando la concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM). Mediante los estudios in vitro, se obtuvo los resultados de una CIM de 4 µL/mL y una CBM de 8 µL/mL con un halo inhibitorio de 18 mm para ambos AE. Estos resultados demuestran que el AE de *Thymus vulgaris* si tienen una acción contra *S. aureus* in vitro.

Santurio et al(20) realizaron un estudio in vitro con 20 diferentes cepas de *Escherichia coli* (*E. coli*) mediante la técnica de micro dilución en caldo con el fin de evaluar los efectos antibacterianos tanto del aceite esencial (AE) del *Thymus vulgaris* como del componente timol. Para analizar su actividad antibacteriana, se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM) de ambas soluciones, lo cual tuvo como resultado respectivamente: AE (627.7 µg/mL y 990.2 µg/mL) / Timol (2786 µg/mL y 2540 µg/mL). Según los resultados obtenidos, ambas soluciones tenían una actividad contra *E. coli*, sin embargo, el AE tuvo una actividad superior y requiere mayor estudio.

Perez et al(21) realizaron un estudio in vitro con cepas de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (ATCC 25923) y cuatro cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina, con el fin de evaluar la efectividad antibacteriana del aceite esencial (AE) del tomillo en forma de nano vesícula. Para evaluar esto, se determinó la concentración inhibitoria mínima de las diferentes nano partículas creadas conteniendo AE del *Thymus vulgaris*. Se demostró que las nano partículas nanoarqueosomas (A80-T) obtuvieron la mayor efectividad contra las biopelículas de *S. aureus*.

Sienkiewicz et al(22) realizaron un estudio in vitro en cepas bacterianas resistentes y no resistentes a antibióticos de *S. aureus* y *E. coli* entre otras bacterias, con el fin de evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial (AE) del *Thymus vulgaris*. Para analizar el efecto del aceite esencial frente a las diferentes cepas bacterianas, se realizó el método de difusión en agar y posteriormente se evaluó la concentración inhibitoria mínima (CIM) del AE frente a las diferentes cepas bacterianas. Se concluyó que el AE del tomillo tuvo una CIM de 0.25 µl/ mL en la cepa no resistente y de 0.5µl/ mL en la cepa resistente de *S. aureus*, aunque solo se logró la inhibición en 17/30 cepas resistentes. En caso de las cepas de *E. coli* su CIM fue de 0.25µl/ mL en las cepas sensibles y 0.25 - 0.5µl/mL en cepas resistentes. Se concluyó que el AE del tomillo tuvo una buena actividad contra las cepas sensibles y la mayoría de las cepas resistentes.

Tural, Turhan(23) realizaron un estudio experimental en cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *E. coli* y *Listeria Monocytogenes* con el fin de evaluar los efectos antibacterianos y antioxidantes del aceite esencial (AE) del tomillo, romero y laurel, tanto como diferentes combinaciones de estos AE. El método utilizado para evaluar los efectos antibacterianos fue mediante difusión en agar y posteriormente se analizó su halo de inhibición para determinar su efectividad. Se concluyó que el AE con mayor efectividad fue el del *Thymus vulgaris* teniendo una mayor efectividad en *S. aureus* (39.33 mm) seguido por *L. monocytogenes* y *E. coli* (30.67 mm) y (28.00 mm) respectivamente con un $p < 0.05$. Se concluyó que el AE de tomillo tuvo mayor efectividad solo que en combinación con otros aceites esenciales.

Micucci et al(24) realizaron un estudio experimental ex vivo e in vitro con la finalidad de evaluar los efectos antiespasmódicos y la actividad antibacteriana

del aceite esencial de *Thymus vulgaris* tanto en su forma líquida como en su forma sólida. La porción in vitro se realizó con cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* entre otras mediante el método de Kirby-bauer y a su vez, se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) mediante el método de micro dilución. Se encontró que el aceite esencial tuvo mayor efectividad antibacteriana en la presentación líquida que en la sólida, con una mayor efectividad que el medicamento de control frente a *P. aeruginosa*.

Burgos(25) realizó un estudio in vitro en cepas de *Escherichia coli* con finalidad de comparar el efecto antibacteriano del aceite esencial proveniente del *Thymus vulgaris* con el medicamento de control que fue la oxacilina. Para lograr esta comparación se utilizó el método de Kirby-bauer y se midió los halos de inhibición del aceite esencial en sus diferentes concentraciones y a la vez, la del medicamento de control. Se concluyó que la concentración de mayor actividad antibacteriana fue el de 100% llegando a un halo de inhibición de 15,20 mm, lo cual indica que, si es eficaz según los patrones establecidos por el CLSI, sin embargo, su eficacia es menor de la observado por la oxacilina.

Luna M et al(26) realizaron un estudio experimental en cual inocularon tomates con cepas de *E. coli* y posteriormente lo bañaron con el aceite esencial del tomillo y orégano. Según los resultados obtenidos, se concluyó que las desinfecciones individuales y mixtas con el orégano tuvieron mayor eficacia, sin embargo, si se demostró una acción antibacteriano significativo con el aceite esencial del tomillo logrando un halo de inhibición de 2.10 mm \pm 0.1 en cinco minutos y este incrementando a 2.89 \pm 0.01 en diez minutos.

Almasi L et al(27) realizaron un estudio experimental en cual buscaron evaluar la eficacia de agregar ácido acético y ácido propiónico como un surfactante en micro dilución del aceite esencial del *Thymus vulgaris* en cepas bacterianas de *E. coli*, *S. aureus* y *S. typhi*. Para evaluar la actividad antibacteriana frente a estas cepas bacterianas se obtuvo la CIM, CBM y halo de inhibición de las diferentes presentaciones de AE de tomillo. Se concluyó que el aceite esencial en su forma libre presentó la mayor actividad antibacteriana frente a todas las bacterias estudiados en este experimento con una CIM de 0.007 \pm 0.000 en cepas de *E. coli* y *S. aureus* y una CBM de 0.02 \pm 0.00 y 0.03 \pm 0.00 respectivamente. El halo

de inhibición de mayor tamaño fue en *E. coli* con 50.00 ± 1.15 . Los resultados concluyeron una actividad significativa del AE libre ($p < 0.05$).

Según la Organización mundial de salud (OMS), la medicina complementaria y alternativa (MAC) se puede definir como el conjunto de prácticas de la atención de la salud, los cuales no forman parte de la cultura y tradición del país y a la vez no forman una parte integral del sistema sanitario principal de la medicina convencional. Dentro de este tipo de medicina, se encuentra los medicamentos herbarios, los cuales abarca aquellos medicamentos compuestos por materiales a partir de hierbas, plantas o vegetales, buscando utilizar sus principios activos de forma terapéutica. Para esto se puede utilizar en forma de preparaciones herbarias (jugos frescos, gomas, aceites esenciales, etc.) o en preparaciones (extractos, bebidas alcohólicas, aceites grasos, etc.).(28)

Uno de los aspectos más estudiados en los últimos años de la MAC es su efectividad contra agentes microbiológicos. Uno de los eventos que tuvieron mayor impacto en el desarrollo humano y la historia de la medicina es el descubrimiento de los antibióticos, gracias a estos, se dice que la esperanza de vida humana ha incrementado una década. Sin embargo, se ha notado que en los años anteriores ha habido un incremento brusco de la resistencia bacteriana y las bacterias resistentes a los antibióticos, los cuales provocan cientos de miles de muertes anuales y está proyectado llegar a más de 10 millones de muertes para el año 2050. Por lo tanto, es de gran importancia buscar e implementar el uso de métodos alternativos para el tratamiento de estas bacterias tanto para eliminar las bacterias, como para disminuir el uso de estos antibióticos y de tal manera disminuir el aumento de la resistencia bacteriana.(29)

La MAC contribuye a la reducción del uso de antibióticos mediante distintas formas, entre estos se ha demostrado que actúa mediante la promoción primaria de la salud, fortaleciendo las capacidades de autocuidado del organismo. Esta es una forma indirecta a las propiedades antimicrobianas que podría tener un producto y se ve en la medicina antroposófica. La otra forma que podría intervenir contra los agentes bacterianos es mediante una acción directa ejercido por sus propiedades bactericidas o bacteriostáticos. (29)

El *S. aureus* es una bacteria coco grampositivo que crece en forma de racimo de uva los cuales producen catalasa lo que facilita la distinción con otros patógenos y a la vez se ha notado que es el patógeno más virulento de la familia de *Staphylococcus*. (30) El *S. aureus* tiene un diámetro de 0.5 - 1.5 μm , de forma oval y por lo general tienen una morfología variable al formarse en colonias y con una variedad de condiciones de crecimiento tanto aerobio como anaerobio. Este patógeno se encuentra en la flora bacteriana de las narinas anteriores en personas saludables con alrededor de 10 - 30% de la población general portando esta bacteria en cualquier momento. Por lo general *S. aureus* no ocasiona enfermedad, sin embargo, en cuanto hay un desequilibrio de la homeostasis del huésped pueden ocasionar enfermedades oportunistas. Estas enfermedades pueden ser variables tanto intrahospitalarias como extrahospitalarias.(31,32)

E. coli es un miembro de las enterobacterias que presentan un tamaño variable de 2 - 4 μm . Es un bacilo gram negativo, el cual tiende a formar colonias de forma circular que presenta un borde bien definido. Estas bacterias se encuentran en la flora bacteriana del colon en personas saludables por lo cual obtuvo su nombre *coli*. En ocasiones estas bacterias pueden obtener factores de virulencia nuevos los cuales pueden ocasionar enfermedades del tracto gastrointestinal o enfermedad extraintestinal. Este patógeno es altamente virulento siendo el bacilo gram negativo mayormente aislado en pacientes con sepsis, responsable para alrededor del 80% de todas las infecciones del tracto urinario (ITU) y un patógeno encontrado muy frecuentemente en pacientes hospitalizados(31,32)

El medio para realizar un cultivo de estas bacterias requiere un medio altamente específico y a la vez hay que tener precauciones en el manejo de estos medios ya que al cambiar factores se podría inhibir el crecimiento de estas cepas bacterianas. (33)

El tomillo (*Thymus vulgaris*) es parte del género *Thymus* el cual contiene alrededor de 400 diferentes especies, entre los cuales se han utilizado varias de estas plantas en la medicina tradicional durante la historia. El tomillo es un arbusto aromático ramoso de aproximadamente 10 - 40 cm con hojas ovaladas de color verde-gris, proveniente de la familia *Lamiaceae*. Estas plantas son de

origen de la zona mediterránea, aunque hoy en día se puede encontrar por todo el mundo. (34)

Las condiciones óptimas para el crecimiento del tomillo son ambientes bien iluminados con tierra de pH básico. Al ser expuesta a la luz solar en cantidades adecuadas, facilita la síntesis de aceite esencial en mayores cantidades. Por el otro lado, las plantas de *Thymus vulgaris* tienden a contractar diferentes tipos de enfermedades en condiciones con mucha humedad, por lo cual no se recomienda sembrar en estos ambientes. (35)

Esta planta se ha utilizado popularmente de manera medicinal en forma de infusión o de manera tópica. En caso de las preparaciones en infusión, estas se han utilizado para tratar enfermedades provenientes del tracto gastrointestinal (cólicos, diarrea, dispepsia, etc.) y vías respiratorias (amigdalitis, laringitis, bronquitis, etc.), mientras que su aplicación tópica se utiliza para enfermedades cutáneas (psoriasis, cicatrización, eczemas, etc.). (36)

Otra utilidad del tomillo que se ha investigado últimamente es su propiedad antimicrobiana. Según estudios se ha demostrado que el tomillo contiene propiedades que cumplen funciones antibacterianas, antifúngico, antiviral y anti helmínticos. Esto es debido al aceite esencial del tomillo el cual contiene componentes volátiles, los de mayor importancia para su efecto antibacteriano siendo el timol y el carvacrol. Estos compuestos ejercen sus efectos antibacterianos al integrarse a la capa lipídica de la membrana celular lo cual tiene como consecuencia la desestabilización de la capa lipídica, disminución de la elasticidad y un incremento de la fluidez de la membrana. Estos por lo tanto conllevan a un incremento de la permeabilidad de potasio e iones de hidrógeno, mientras que ocasionan interacciones con las proteínas internas de la membrana. (37)

El aceite esencial del *Thymus vulgaris* (también conocido como aceite detomillo), se adquiere mediante el proceso de destilación de vapor de las partes aéreas en flor seca de la planta. Este aceite posee un aspecto líquida la cual puede variar de color al ser claro, amarillo o marrón rojizo oscuro y una freganciaparecida al timol. Está compuesto principalmente por timol (37 - 55%), p-cimeno(14 - 28%) y Carvacrol (0.5 - 5.5%).(38)

Es importante tener en cuenta que la bioactividad de los componentes del aceite de tomillo puede variar según múltiples factores, entre los cuales se observan las porciones de la planta utilizadas (hojas, semillas o raíces), la etapa de crecimiento en cual se encuentra la planta, la localización geográfica de donde viene la planta utilizada para extraer el aceite, los métodos para el secado y preservación de la plantas que se utilizará y la técnica utilizado para el extracción del aceite de tomillo. Entre todas las etapas de crecimiento hay una mayor cantidad de aceite esencial en plantas que se encuentran entre el comienzo y la mitad de su temporada de floración. (39,40)

Debido a estos diferentes factores que contribuyen a su acción antibacteriana de los diferentes aceites esenciales, es difícil estandarizar un valor para reconocer si hay un adecuado efecto de estos compuestos. Debido a esto, muchos estudios optan para usar la concentración inhibitoria mínima (CIM) con valores de 0.01 - 0.1 mg/mL como criterios para concluir que un extracto tiene una acción significativa o potente. (41)

La acción antimicrobiana del aceite de tomillo es debido principalmente a los componentes fenoles y terpenoides que lo constituye, aunque todos estos actúan de forma sinérgica para cumplir esta acción. El timol y el carvacrol son componentes fenoles los cuales ocasionan cambios estructurales y lesiones funcionales en la membrana citoplásmica de los microorganismos.(42)

Entre el grupo de terpenoides, los más conocidos se encuentra el timol y el carvacrol. Su acción antimicrobiana está debido a su grupo funcional y su grupo hidroxilo fenólico tanto como la presencia de electrones deslocalizados. Timol y carvacrol al tener estos componentes ejercen sus acciones y desintegra la membrana exterior de las bacterias, sin embargo, esto no es mediante una acción directa. (43)

El Timol ejerce su acción antimicrobiana mediante cambios al nivel estructural, funcional al nivel de la membrana citoplasmática y al ocasionar daño a nivel de las membranas internas y externas. El timol se integra entre los grupos de cabezas polares de la bicapa lipídica lo cual ocasiona cambios en esta misma y a la vez interactúa con proteínas de la membrana. Todas estas interacciones entre la membrana con el timol ocasionan un aumento de la permeabilidad de

este y tiene como resultado como una fuga de iones de potasio y ATP. A la vez, se ha visto que el timol puede inducir la liberación de polisacáridos, pero no afectan a los cationes quelantes. (43)

El carvacrol al igual que el timol ocasiona cambios estructurales y daño funcionales de las membranas lo cual ocasiona un aumento de la permeabilidad. El carvacrol es uno de los pocos componentes de los aceites esenciales que se demostró tener un efecto en la membrana externa de las bacterias gram negativas. El carvacrol ocasiona la liberación de lipopolisacáridos y a la vez actúa sobre la membrana citoplasmática lo cual conlleva a una alteración en el transporte de iones. La actividad del carvacrol está ligado a la presencia del grupo hidroxilo lo cual funciona transportando iones de hidrogeno hacia el citoplasma de células mientras transporta potasio hacia afuera de las células. Estos cambios culminan en un incremento de la permeabilidad y fluidez de las membranas y a la misma vez un cambio en la composición de los ácidos grasos.(43)

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

Tipo de investigación: Aplicada porque se busca utilizar conocimientos adquiridos según la revisión bibliográfica después de sistematizar la búsqueda para llegar a una conclusión sobre el uso antibacteriano del aceite de tomillo sobre las bacterias: *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. (44)

Diseño de investigación: Descriptivo simple ya que se buscará describir los hechos reales de una manera sistematizada con el fin de llegar a conclusiones sobre los fenómenos del efecto antibacteriano del aceite de tomillo sobre el *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. (44)

$M \rightarrow O$

Donde:

M= Muestra

O = Observación

3.2. Variables y operacionalización

- V1: Agente antimicrobiano
 - a) Tratamiento con el aceite esencial del *Thymus vulgaris*
- V2: *Staphylococcus aureus*
- V3: *Escherichia coli*

3.3 Población, muestra y muestreo

Población: Artículos científicos sobre el efecto antibacteriano del *Thymus vulgaris* frente a *S. aureus* y *E. coli* proveniente de revistas académicas. Fueron la población de estudio ya que de estos se obtuvo la información sobre el efecto antibacteriano del aceite de tomillo sobre el *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, los cuales fueron evaluados e interpretados. (44)

- Criterios de inclusión:
 - Artículos científicos con las palabras claves: Thyme oil, antibacterial effect, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*
 - Artículos científicos no mayor de 15 años
 - Experimentos in vitro con aceites esenciales
 - Ensayos clínicos, Revisiones sistemáticas, Artículos originales.
- Criterios de exclusión
 - Artículos que no especifican los resultados
 - Experimentos que utilicen otros tipos de extracto
 - Artículos que no expresan valores de halo de inhibición en mm
 - Artículos que expresan valor de CIM en % v/v

Muestra: literatura recopilada mediante la búsqueda bibliográfica que cumplieron con los criterios establecidos. (44)

Muestreo: no probabilístico debido a que se seleccionaron según los criterios determinados por el investigador. (44)

Unidad de análisis: artículos que cumplieron con los criterios establecidos

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Técnica: Se utilizó la técnica de la revisión bibliográfica recopilando artículos científicos de los bases de datos: Pubmed, EBSCOhost, Scopus y Proquest .

Para realizar la búsqueda bibliográfica se utilizó los DeCS:

Thyme oil, antibacterial effect, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli*

Para la selección de datos, se realizó una lectura completa de los estudios recopilados, extrayendo la información relevante para el estudio según los criterios establecidos y se pasó a hacer una evaluación con docentes metodológicos de la UCV para evaluar si se incluye el estudio en la revisión sistemática.

3.5 Procedimientos:

- 1) Se realizó la búsqueda bibliográfica en las bases de datos con las palabras claves: Thyme oil, antibacterial effect, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.
- 2) Se evaluaron los títulos y resúmenes de los estudios para descartar los estudios que no contienen los sujetos del estudio.
- 3) Se analizaron los estudios restantes y aplicar los criterios de inclusión y exclusión para descartar los estudios no aplicables y seleccionar los estudios que cumplen el criterio deseado
- 4) Revisión por parte de los asesores metodológicos para establecer que estudios entraron en la revisión y cuales fueron descartados.
- 5) Se extrajeron los datos relevantes de los artículos seleccionados y se separaron según el agente bacteriano
- 6) Se organizaron los datos en la tabla PRISMA
- 7) Se interpretaron los datos extraídos y se procedió a formar la discusión y conclusiones del estudio realizado.

3.6 Método de análisis de datos:

El análisis de datos fue realizado mediante la revisión bibliográfica, según criterios establecidos buscando la relevancia de los artículos, las palabras claves y utilizando los criterios de inclusión y exclusión. Una vez ya escogidos los artículos que se consideraron para el estudio, se aplicaron los criterios presentados por el Cochrane Library para evaluar el riesgo de sesgos de los

artículos. Después de garantizar que los artículos fueron libres de sesgos, se organizó la información de manera ordenada según las diferentes concentraciones del aceite esencial, su halo de inhibición y las concentraciones de timol y carvacrol. Los datos de los resultados fueron ingresados a Microsoft Excel 2016 y se hizo el análisis el cual fue presentado mediante gráficos y tablas.

3.7 Aspectos éticos:

La revisión sistemática se realizó sin necesidad de interactuar con pacientes humanos ni animales, los aspectos éticos de los estudios revisados fueron expuestos en los artículos originales. Sin embargo, se consideró las implicaciones que la información recopilada podría causar y de esta manera se presentó la data sin parcialidad.

Por otra parte, se tomó en cuenta los aspectos del anti plagio según el artículo 9 del “Código de ética en la investigación” establecidos por la Universidad Cesar Vallejo, por lo cual se hizo una investigación original citando los autores y artículos revisados en la revisión sistemática. (45)

IV. RESULTADOS

Utilizando el procedimiento descrito anteriormente, aplicando los términos MESH y criterios preliminares tuvo como resultado un total de 259 artículos de los cuatro bases de datos, siendo el base de datos Proquest el que tuvo mayores resultados (184 artículos). De los 259 artículos, en los bases de datos al descartar los artículos duplicados se quedó 248 artículos. De estos artículos, tras realizar una revisión breve del resumen se descartaron 218 artículos, dejando 30 artículos restantes a los cuales se les aplicaron los criterios de inclusión dando como resultado 11 artículos para la fase de extracción de datos.

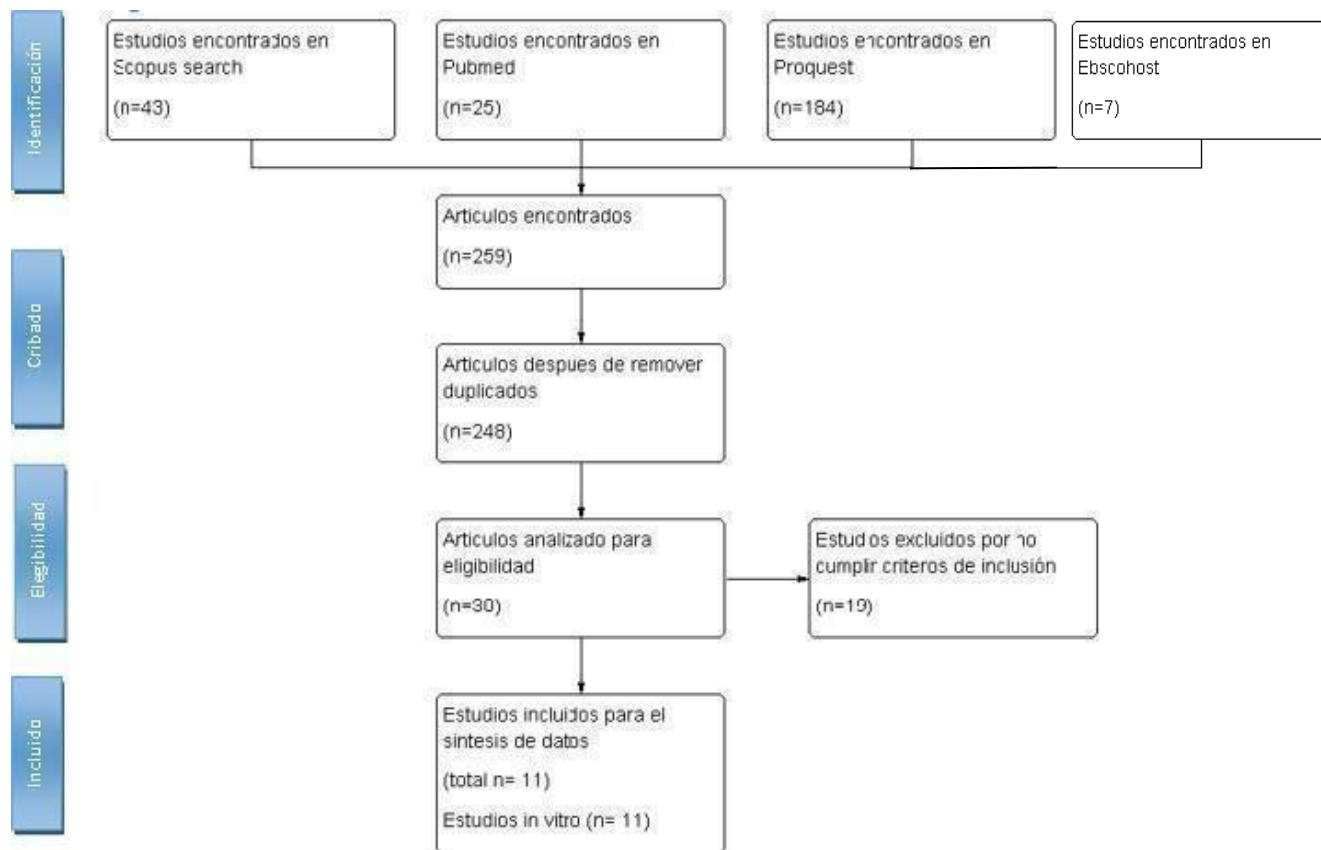


Diagrama de flujo de la estrategia de búsqueda que comprende la identificación de material relevante, tamizaje preliminar y selección final de los estudios incluidos en esta revisión.

De los artículos que fueron analizados para la elegibilidad, pero últimamente descartados, se pudieron clasificar en 6 diferentes categorías. Entre estas categorías se encontró: uso de aceite esencial en combinación con otros compuestos, uso de otros tipos de extractos, artículos sin la composición química del aceite esencial, resultados en % concentración, artículos duplicados y el uso

de otra especie de *Thymus*. (Anexo 4) El número total de estudios analizados y descartados fueron 19, la principal razón por la exclusión siendo que los resultados no fueron expresados correctamente (se usó el %). El resumen de estudios excluidos se puede encontrar en el anexo 3.

Luego se aplicaron los criterios del Cochrane Library para riesgo de sesgos en los 11 artículos seleccionados. Al analizar los criterios de riesgo de sesgo, se pudo observar que la mayoría de estudios realizados presentaban bajo riesgo de sesgo con la mayoría de los estudios solo presentando dos o tres criterios de “sesgo poco conocido” según el manual Cochrane para la elaboración de investigaciones.

Figura 1. Riesgo de sesgo de los estudios incluidos

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Blinding of outcome assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Other bias
Bogavac 2015	?	+	+	+	+	+	?
Cáceres 2020	?	?	+	+	+	+	?
Celikel 2008	?	+	+	?	+	?	?
Ebani 2018	?	+	+	?	+	+	+
Gedikoğlu 2019	+	?	?	+	+	+	?
Jaber 2021	+	?	+	+	+	+	+
Kerekes 2019	?	+	+	?	?	+	+
Kovac̃ević 2021	+	?	?	+	+	+	+
Paiano 2020	+	?	+	+	+	?	?
Shree 2019	+	?	+	+	+	+	+
Soković 2010	+	+	?	?	+	+	?

En relación a la concentración inhibitoria mínima (CIM), se pudo observar que los estudios presentaron un amplio rango de actividad tanto para *E. coli* como para *S. aureus*. En cuanto la mayor eficacia de CIM, se observó que el estudio realizado por Soković, et al. el cual obtuvo la CIM de menor cantidad con 0.001mg/mL para *E. coli* y 0.0005mg/mL para *S. aureus*. Los otros resultados recopilados fueron los siguientes (*E.coli* / *S. aureus*): Bogovac, et al. (0.0028 - 0.0227 mg/mL / 0.0114 - 0.00227 mg/mL), Ebani, et al. (0.146 - 0.585 mg/mL), Kerekes, et al. (0.34 ± 0.02 / 1.22 ± 0.16 mg/mL) y Caceres, et al. (0.75 ± 0.01) A la vez se puede observar que el estudio que presento la menor eficacia según la CIM fue el estudio realizado por Kovac'evic', et al. obteniendo una CIM de 3.125 mg/mL para *E. coli* y 6.25 mg/mL en caso de *S. aureus*. Algo que si se puede notar es que al haber una concentración más alta de Timol se encontró un mayor efecto contra *el E. coli* y *S. aureus*. El resumen de los resultados se puede encontrar en la tabla 1.

Tabla 1. Concentración inhibitoria mínima (CIM) y composición química del aceite esencial de *Thymus vulgaris*

Autor / año	CIM <i>E. coli</i> (mg/mL)	CIM <i>S. aureus</i> (mg/mL)	Composición química
Soković / 2010 (46)	0.001	0.0005	TIMOL: 64.5% / p-cimeno: 19% / carvacrol: 3.5%
Bogovac / 2015 (47)	0.0028 - 0.0227	0.0114 - 0.0227	TIMOL: 56.6% / p-cimeno: 12.3% / CARVACROL: 8.7% / LINALOOL: 4.6%
Ebani / 2018 (48)	0.146 - 0.585	-	THYMOL 52.6% / p-cimeno: 15.3%
Caceres / 2020 (49)	0.75 ± 0.01	-	TIMOL: 23% / p-cimeno: 20% / γ -Terpinene: 9.5% / LINALOOL: 4.7%
Kerekes / 2019 (50)	1.0	0.8	THYMOL 51%
Kovac'evic' / 2021 (51)	3.125	6.25	THYMOL: 45.22% / p-cimeno: 23.83% / Trans β -caryophyllene: 4.04% / γ -terpentine: 3.12%

Con respecto a la los halos de inhibición, se pudo observar un rango de 7 - 35mm de halo de inhibición ocasionado por el aceite de tomillo frente a *E. coli*, mientras en caso de *S. aureus* se nota un efecto aun mayor con un rango de 8 - 45 mm de halo de inhibición. El estudio con mayor halo de inhibición se realizó por Shree et al(15) tanto para las cepas de *E. coli* como para aquellas cepas de *S. aureus* en lo cual se encontró halos de inhibición de 35mm y 45mm respectivamente. El estudio realizado por Celikel et al(52) obtuvo los halos de inhibición de menor cantidad para ambas bacterias *E. coli* / *S. aureus* (7 - 28mm / 8 - 30mm). Los otros resultados encontrados mediante la revisión son los siguientes (*E. coli*/ *S. aureus*): Gedikoğlu et al(53) (14.5 ± 0.87mm / 24.5 ± 2.96mm), Jaber et al(54) (>20mm), Soković (22mm / 28mm) y Paiano et al(55) (22.67 ± 1.29mm / 36 ± 0.75mm). El resumen de los resultados de halos de inhibición se puede observar en la tabla 2.

Tabla 2. Halos de inhibición y composición química del aceite esencial de *Thymus vulgaris*

Autor / año	Halo de inhibición <i>E. coli</i>	Halo de inhibición <i>S. aureus</i>	Composición química
Celikel (52) 2008	7 - 28mm	8 - 30mm	CARVACROL: 51.8% / LINALOOL: 15.4% / y-terpentine: 5.2%
Gedikoğlu 2019 (53)	14.5 ± 0.87mm	-	THYMOL: 50.53 - 55.3% / p-cimeno: 11.2 11.79% / CARVACROL: 6.65 .. 8.7%
Jaber (54) 2021	>20mm	-	THYMOL: 41.39% / CAMFOR: 38.5%
Soković (46) 2010	22mm	28mm	TIMOL: 64.5% / p-cimeno: 19% / carvacrol: 3.5%
Paiano (55) 2020	22.67 ± 1.29mm	36 ± 0.75mm	TIMOL: 48.8% / p-Cimeno: 26.43%
Shree (15) 2019	35mm	45mm	y-terpinene: 32.6% / Timol: 29.1% / p-cymene: 23.56%

Con respecto a las composiciones químicas de los aceites esenciales utilizadas en los estudios analizados, se puede observar una gran variedad de presentaciones, con 9 de los estudios teniendo Timol como su componente principal, 1 estudio con Carvacrol como el componente principal y 1 estudio con y-terpinene como el componente principal del aceite esencial. Se pudo observar que para la mayoría de los estudios hubo una relación directa el cual, al encontrar mayor composición de timol, hubo mayor efecto antibacteriano. Sin embargo, es

importante recalcar que la mayoría de estos estudios se realizaron con aceites esenciales de composición mixta. Se pudo observar que las composiciones con mejor acción antibacteriana fueron aquellos que utilizaron una concentración de timol al $50 \pm 2\%$ agregado con una cantidad significativa de p-cimeno.

V. Discusión

El objetivo de esta revisión fue evaluar el efecto antibacteriano del aceite de tomillo sobre dos patógenos de alta importancia clínica: *E. coli* y *S. aureus*. Según los estudios realizados sobre este tema se puede observar que el aceite de tomillo si posee un efecto significativo contra estos patógenos. La información presentada en esta revisión sugiere que el aceite esencial del *Thymus vulgaris* y sus componentes deberían ser estudiado más extensamente como ingredientes bioactivos para formulaciones antibacterianas. Sin embargo, las bibliografías revisadas están compuestas por revisiones in vitro, por lo cual no se pudo analizar el uso potencial de su uso en humanos.

Al analizar los datos que se obtuvo, se puede observar que el aceite esencial de *Thymus vulgaris* tuvo mayor efecto sobre *S. aureus* que *E. coli* en la mayoría de los estudios que se revisó. Estos resultados concuerdan con los resultados de las bibliografías descritas anteriormente, (11,12,15,17,23,27) la razón por que el aceite de tomillo posee menor eficacia contra el *E. coli* es debido a que este tiene una membrana externa rica en péptido glucanos lo cual lo hace menos permeable a moléculas hidrofóbicas que las bacterias gram (+) y por ende dificultan la acción del aceite esencial de *Thymus vulgaris*.(15,31) Sin embargo, al tener un alto contenido de componentes fenólicos, el aceite de tomillo si posee una acción sobre estas bacterias Gram (-) debido a su naturaleza hidrofóbica lo cual desencadena incremento de permeabilidad de la membrana y últimamente ocasionan una lisis celular. (47)

Debido a esta acción que posee el aceite esencial de *Thymus vulgaris*, se ha notado que tiene un amplio espectro contra *E. coli* y *S. aureus* mostrando una CIM desde 0.001 y 0.0005 mg/mL respectivamente en el estudio realizado por Soković hasta 3.125 y 6.25 mg/mL en el estudio realizado por Kovac̆ević. (46,51) Estos valores concuerdan con los datos obtenidos en la revisión

bibliográfica previa encontrando valores desde 0.00025 mg/mL para *S. aureus* y *E. coli*, y alcanzando hasta 0.625 y 2.9 mg/mL respectivamente. (17,18).

Por otra parte, se puede observar que el aceite de tomillo posee un amplio rango con respecto a los halos de inhibición que se presentaron en los diversos estudios con un rango de 7 - 35 mm para *E. coli* y 8 - 45 mm para *S. aureus*. (15,46,52-55). Esto concuerda con la revisión realizada previamente lo cual presentó un rango de 8.71 ± 0.25 hasta 47 mm en *E. coli* y 7.45 ± 0.23 mm hasta 39.33 mm en *S. aureus*. (17,18,23) Una cosa que se debe considerar es que, aunque los valores eran mayores para los estudios realizados en *E. coli*, en aquellos estudios que se realizó con ambas bacterias, los halos de inhibición eran mayores para *S. aureus*.

El análisis de los resultados de las CIM del aceite esencial frente a *E. coli* presentó un amplio rango. Lo más resaltante que se pudo observar fue los resultados presentados por Kovac̃ević et al(51) en cual se obtuvo un CIM de 3.125 mg/mL. Este estudio obtuvo una CIM mucho mayor a los otros estudios que se realizaron con el siguiente estudio con la más alta concentración siendo el estudio por Cáceres et al(49) el cual tuvo una CIM de 0.75 ± 0.01 . Otro dato que se debe resaltar en el estudio realizado por Kovac̃ević et al(51) es que el aceite de tomillo obtuvo un efecto mayor contra *E. coli* que *S. aureus*, lo cual es contrario según la revisión bibliográfica que se realizó anteriormente. (12,22,23) Esto puede ser debido a una multitud de factores, sin embargo, es importante tomar en cuenta que las cepas de *S. aureus* utilizados en el estudio fueron resistentes frente a la gran mayoría de antibióticos que se utilizó como control, lo cual nos puede indicar una razón por cual se presentó este resultado.

Según múltiples estudios realizados utilizando la CIM como un marcador para la eficacia de un aceite esencial, se considera que aquellos que obtienen una CIM < 0.1 mg como significativa o un potente efecto antibacteriano, Guenane et al(17) clasificaron los efectos antibacterianos de la siguiente forma: < 0.1 mg/mL - significativo, $0.1 - \leq 0.625$ mg/mL - moderado y > 0.625 mg/mL - débil. (17,41) Tomando estos valores en cuenta, se pudo clasificar los resultados de la revisión en dos estudios de efecto significativo, un estudio de efecto moderado y tres estudios de efecto débil. Los dos estudios con efecto significativo fueron aquellos realizados por Soković et al(46) y Bogovac et al(47) con valores de CIM (*E.coli* /

S. aureus) de : (0.001 mg/mL / 0.0005 mg/mL) y (0.0028 - 0.0277 mg/mL / 0.0114 - 0.0227 mg/mL) respectivamente.

El único estudio que se pudo observar que obtuvo una concentración inhibitoria mínima en un nivel moderado fue aquello realizado por Ebani et al(48) el cual obtuvo como resultado una CIM de 0.146 - 0.585 mg/mL. Sin embargo, este estudio solo se realizó en cepas de *E. coli* por lo cual no se puede analizar como serio su efecto frente a *S. aureus*. Por otro lado, según los resultados obtenidos, se pueden clasificar tres estudios analizados en el grupo de acción antibacteriana débil frente a estos dos patógenos, estos siendo los estudios realizados por Cáceres et al(49), Kerekes et al(50) y Kovac̃evic´ et al(51).

Según los estudios revisados, se puede observar que la composición química mayormente utilizada consiste de una alta concentración de timol, seguido por p-cimeno y carvacrol. La farmacopea europea ha planteado una estándar en cuanto la composición del aceite de tomillo con timol en un rango de 37 - 55%, p-cimeno de 14 -28% y carvacrol de 0.5 - 5.5%. (38,51) Utilizando estos criterios, podemos observar que la gran mayoría de estudios analizados en la revisión sistemática cumplió con los criterios descrito anteriormente. Se puede observar que el estudio con CIM de menor cantidad fue aquella realizado por Soković et al(46) en cual utilizaron alta concentraciones de timol (64.5%), p-cimeno (19%) y carvacrol (3.5%). (46) Este estudio utilizó un aceite esencial que coincidía con los componentes escrito por la farmacopea europea, sin embargo, se utilizó una composición mayor de timol, lo cual resulto en mayor efecto antibacteriano que los otros estudios. (47-51)

Según los resultados encontrados mediante la revisión, aquellos estudios que utilizaron un aceite esencial con una mayor composición química de timol que carvacrol obtuvieron una mejor acción antibacteriano, esto se puede notar al analizar los resultados obtenidos por Celikel et al(52) los cuales se puede observar tuvo el menor halo de inhibición en comparación a las otras preparaciones. (52) Sin embargo, en la revisión realizada solo se pudo analizar un estudio el cual tuvo el carvacrol como su componente principal, lo cual hace la información recopilada insuficiente para sacar conclusiones sobre su efectividad en comparación con timol.

Se encontró el mismo problema con el estudio realizado por Shree et al(15) en cual se obtuvo el mayor halo de inhibición, sin embargo, este fue el único estudio con el componente principal de γ -terpinene con una cantidad menor de timol. Debido a esto no se pudo analizar el verdadero impacto que tiene el γ -terpinene como composición principal. (15) Esto puede ser debido a diferentes razones, se conoce que γ -terpinene tiene un efecto propio el cual ocasiona una inflamación de la membrana citoplasmática, sin embargo, también se ha encontrado que este componente tiene una acción sinérgica con el carvacrol, permitiendo que este sea transportado hacia el interior de la célula, lo cual incrementa sus efectos inhibitorios al ser usados juntos. Por lo tanto, se sugiere realizar mayor investigación sobre estudios in vitro del aceite de tomillo con otras composiciones químicas principales. (51)

Otros factores que se deben considerar al interpretar los resultados es la gran variedad de composiciones de aceite esencial que se pueden encontrar, lo cual hace difícil una estandarización este como una medicina. En el mismo compuesto puede haber diferentes factores que influyen su actividad antibacteriana tal como la tierra que se utilizó para sembrar la planta y el método que se utilizó para la extracción del aceite esencial.(16)

VI. CONCLUSIONES

1. El aceite esencial de *Thymus vulgaris* demostró tener una amplia actividad contra *Staphylococcus aureus* presentando una CIM significativo desde 0.0005 mg/mL hasta una acción débil 6.25 mg/mL. Con respecto a *Escherichia coli* se obtuvo un rango de CIM desde 0.0028 mg/mL hasta 3.125 mg/mL. En cuanto los halos de inhibición se obtuvo un rango de 8 - 45 mm. El timol se encontró en un rango de 23% - 64.5%.
2. El aceite de tomillo presento un halo de inhibición contra *S. aureus* en un rango de 8 - 45 mm. Los halos de inhibición encontrados contra *E. coli* fue en un rango de 7 - 35 mm. El rango de la concentración de timol se encontró entre 29.1 - 64.5%.
3. En cuanto mayor era la concentración de timol en el aceite esencial utilizado se demostró mayor efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Sin embargo, no todos los estudios demostraron esto, por lo cual se requiere mayor análisis de estudios de diferentes composiciones.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar revisión con cepas bacterianas iguales (ATCC) para estandarizar los patógeno y así tener mayor uniformidad en los resultados.
2. Realizar búsqueda en mayor cantidad de aceite de tomillo con componentes principales diferentes para comparar su acción con aquellas a base de timol.
3. Promover la búsqueda de tratamientos alternativos para combatir estos patógenos de alta importancia.
4. Elaborar mayores estudios in vivo para analizar los efectos en un ambiente clínico.

Anexo 1: Matriz de consistencia

	Formulación del problema	Objetivo	Variables	Método
G1	¿Cuál es la concentración inhibitoria mínima y la composición química del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> como efecto antibacteriano en <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Determinar la concentración inhibitoria mínima y la composición química del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> como efecto antibacteriano en <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .	<ul style="list-style-type: none"> • Tratamiento con aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> • <i>S. aureus</i> • <i>E. coli</i> 	Revisión bibliográfica de literatura científica en bases de datos: <ul style="list-style-type: none"> • Pubmed • Scopus • Ebsco host • Proquest
G2	¿Cuáles son los halos de inhibición y la composición química del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> como efecto antibacteriano en <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> ?	Determinar los halos de inhibición y la composición química del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> como efecto antibacteriano en <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .		

Anexo 2: Estudios incluidos en la revisión

Kerekes, et al. en Hungría (2019)	
Diseño	Experimental
Participantes	Cepas bacterianas de <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> (SZMX 110007), <i>E. coli</i> (SZMC 0582) y <i>P. putida</i>
Intervención	Uso de aceites esenciales de distintas plantas entre los cuales se encuentra <i>thymus vulgaris</i> para evaluar efecto antibacteriano
Resultados	- <i>E. coli</i> : 0.34 ± 0.02b - <i>S. aureus</i> : 1.22 ± 0.16b - p<0.05

Ebani, et al. en la Italia (2018) (48)	
Diseño	Experimental
Participantes	Siete cepas de <i>E. coli</i> y ocho cepas de <i>Enterococcus spp.</i>
Intervención	Uso de aceites esenciales de distintas plantas para evaluar efecto antibacteriano
Resultados	-CIM del aceite de tomillo oscilo entre un rango de 0.146 - 0.585 mg/mL o un .0.07 - 0.3% - p score no descrito

Celikel y Kavas en la República Checa (2008) (52)	
Diseño	Experimental
Participantes	Cepas bacterianas de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>L. monocytogenes</i> y una cepa de <i>C. albicans</i>
Intervención	Uso de aceites esenciales de distintas plantas para evaluar efecto antibacteriano ↓(5µl) - (10µl) ↑(20 µl)
Resultados	- <i>E. coli</i> : [] ↓(7mm) [] - (14mm), [] ↑ (28mm) - <i>S. aureus</i> : [] ↓ (8mm), [] - (14mm), [] ↑ (30mm) - p score no descrito

Jaber, et al. en Morocco (2021) (56)	
Diseño	Experimental
Participantes	82 colonias de <i>E. coli</i> extraído de los organos de pavo
Intervención	Uso de aceite esenciales de diferentes plantas para evaluar inhibicion de crecimiento
Resultados	- <i>Thymus vulgaris</i> fue separado con una media de inhibicion de >20 mm - p<0.01 analizado por ANOVA

Gedikoglu, et al. en Turquia (2019)(53)	
Diseño	Experimental
Participantes	3 cepas Gram (-): <i>B. cereus</i> , <i>S. aureus</i> y <i>S. epidermidis</i> 3 Cepas Gram (+): <i>S. enteritidis</i> , <i>S. typhimurium</i> y <i>E. coli</i>
Intervención	Uso de aceite esenciales de diferentes plantas para evaluar inhibición de crecimiento
Resultados	- <i>S. aureus</i> : HD: 24.5c ± 2.96 mm; MAE: 29b ± 2.24 - <i>E coli</i> : 14.5b ± 0.87 MAE: 15b ± 1.66 - p<0.05 (Test de Fisher)

Kovac̃evic', et al. en Serbia (2021)	
Diseño	Experimental
Participantes	16 distintas cepas bacterianas entre las cuales se encontraba <i>E. coli</i> y <i>Staphylococcus spp.</i>
Intervención	Uso de aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>
Resultados	- <i>E coli</i> : CIM: 3.125 mg/mL. CBM: 6.25 mg/mL - <i>Staphylococcus spp.</i> : CIM: 6.25 mg/mL CBM: 12.5 mg/mL

Shree, et al. en la India (2019)	
Diseño	Experimental
Participantes	Bacterias Gram (+): <i>B. cereus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. aureus</i> . Bacterias Gram (-): <i>E. coli</i> , <i>S. typhi</i> , etc.
Intervención	Uso de aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i>
Resultados	- La zona de inhibición de mayor tamaño fue contra <i>S. aureus</i> (45mm) <i>E. coli</i> (32mm) - MIC: <i>S. aureus</i> (400 ppm) <i>E. coli</i> (1500 ppm)

Bogavac M, et al. en Serbia (2015)	
Diseño	Experimental
Participantes	12 diferentes cepas bacterianas entre las cuales se encuentran: <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>
Intervención	Uso de aceites esenciales entre los cuales está <i>Thymus vulgaris</i> para observar efecto antibacteriano
Resultados	- <i>S. aureus</i> : MIC: 11.4 - 22.7 µl/ml MBC: 22.7 - 45.4 - <i>E. coli</i> : MIC: 2.8 - 22.7 µl/ml MBC: 22.7 - 45.4 µl/ml - Anova p<0.05.

Soković, et al. en Netherlands (2010)	
Diseño	Experimental
Participantes	Diferentes cepas bacterianas entre las cuales se encuentran: <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>
Intervención	Uso de aceites esenciales entre los cuales está <i>Thymus vulgaris</i> para observar efecto antibacteriano
Resultados	- MIC de <i>thymus vulgaris</i> : 0.25 - 1 µg/mL y MBC: 0.5 - 1.5 µg/mL Halo de inhibición (MIC/MBC): <i>E. coli</i> : 22 mm (1,0/1.5 µg/mL) <i>S. aureus</i> : 28 mm (0.5/1.0 µg/mL)

Paiano, et al. en Brasil (2020)	
Diseño	Experimental
Participantes	4 diferentes cepas bacterianas entre las cuales se encuentran: <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>
Intervención	Uso de aceites esenciales entre los cuales está <i>Thymus vulgaris</i> para observar efecto antibacteriano
Resultados	- Zona de inhibición de AE de <i>thymus vulgaris</i> - <i>E. coli</i> : 26.67 ± 1.29 mm - <i>S. aureus</i> : 36 ± 0.75 mm

Cáceres, et al. en Colombia (2020)	
Diseño	Experimental
Participantes	Diferentes cepas bacterianas entre las cuales se encuentran: <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>
Intervención	Uso de aceites esenciales entre los cuales está <i>Thymus vulgaris</i> para observar efecto antibacteriano
Resultados	- <i>E. coli</i> : MIC50: 0.75 ± 0.01 MBC: 1.5 ± 0.12 - p < 0.05 por ANOVA seguido por test de Tukey

Anexo 3: artículos excluidos por no cumplir criterios de inclusión

estudio	Confirmar la elegibilidad para la revisión	Motivo de exclusión
Gibriel / Egipto	NO	uso de AE en combinación (1)
Liu / China	NO	AE se uso con otros componentes (1)
Guenane / Italia	NO	uso de extracto fenolico (2)
Semeniuc / Rumania	NO	No tiene composición de AE (5)
Sakkas / Grecia	NO	Resultados en % concentración (3)
Radünza / Brazil	NO	aceite esencial no en forma liquida (4)
Eldien / Egipto	NO	Resultados en % concentración (3)
Barbosa / Brasil	NO	Resultados en % concentración (3)
Sweda / Serbia	NO	Resultados en % concentración (3)
Kovac̃evic' / Serbia	NO	Articulo duplicado (4)
El-Shenawy / Egipto	NO	Resultados en % concentración (3)
Man / Romania	NO	Resultados en % concentración (3)
Sweda / Serbia	NO	Resultados en % concentración (3)
Barbosa / Brasil	NO	Articulo duplicado (4)
Perez / Argentina	NO	No tiene composición de AE (5)
Miucci / Italia	NO	No tiene composición de AE (5)
Ebani / Italia	NO	Articulo duplicado (4)
Thompson / Reino Unido	NO	Uso de otra especie de Thymus
Man / Romania	NO	articulo duplicado (4)

I - 2

II - 2

III - 7

IV - 4

V - 3

VI - 1

Referencias Bibliográficas

1. Ventola CL. The Antibiotic Resistance Crisis. *Pharm Ther.* abril de 2015;40(4):277-83. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>
2. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.). Antibiotic resistance threats in the United States, 2019 [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention (U.S.); 2019 nov [citado 2 de junio de 2021]. Disponible en: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/82532>
3. Pérez-Montarelo D, Viedma E, Larrosa N, Gómez-González C, Ruiz de Gopegui E, Muñoz-Gallego I, et al. Molecular Epidemiology of *Staphylococcus aureus* Bacteremia: Association of Molecular Factors With the Source of Infection. *Front Microbiol* [Internet]. 2018 [citado 3 de junio de 2021];9. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.02210/full>
4. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* bacteremia in adults - UpToDate [Internet]. [citado 8 de junio de 2021]. Disponible en: https://bibvirtual.upch.edu.pe:2050/contents/epidemiology-of-staphylococcus-aureus-bacteremia-in-adults?search=Epidemiology%20of%20Staphylococcus%20aureus%20bacteremia%20in%20adults&source=search_result&selectedTitle=1~140&usage_type=default&display_rank=1#references
5. Delgado LCA, López YE, Vivas MC. Prevalência de *Staphylococcus aureus* que coloniza o pessoal de saúde de um hospital da cidade de Cali. *Rev Cienc Salud.* 2016;14(01):9-19. DOI: 10.12804/revsalud14.01.2016.01
6. Balmaceda Nieto MP, Verástegui Albites RS, Guardia Márquez CE. Bacteriemia por *Staphylococcus aureus* en el Hospital Cayetano Heredia entre junio 2017 - diciembre 2018. 2019 [citado 16 de junio de 2021]; Disponible en: <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/6373>
7. Yilmaz M, Elaldi N, Balkan I, Arslan F, Batirel AA, Bakıcı MZ, et al. Mortality predictors of *Staphylococcus aureus* bacteremia: a prospective

multicenter study. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 9 de febrero de 2016;15(1):7. DOI: 10.1186/s12941-016-0122-8

8. Vila J, Sáez-López E, Johnson JR, Römling U, Dobrindt U, Cantón R, et al. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiol Rev.* 1 de julio de 2016;40(4):437-63. DOI: 10.1093/femsre/fuw005
9. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: Microbiology, pathogenesis, epidemiology, and prevention - UpToDate [Internet]. [citado 18 de junio de 2021]. Disponible en: https://bibvirtual.upch.edu.pe:2050/contents/shiga-toxin-producing-escherichia-coli-microbiology-pathogenesis-epidemiology-and-prevention?search=escherichia%20coli%20epidemiology&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
10. Riveros M, Ochoa TJ. Enteropatógenos de importancia en salud pública. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* enero de 2015;32(1):157-64. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342015000100022
11. Semeniuc CA, Pop CR, Rotar AM. Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *J Food Drug Anal Phila.* abril de 2017;25(2):403-8. DOI: 10.1016/j.jfda.2016.06.002
12. Messaoudi M, Link to external site this link will open in a new window, Benregueig M, Merah M, Messaoudi ZA. Antibacterial effects of *Thymus algeriensis* extracts on some pathogenic bacteria. *Acta Sci Biol Sci Mar* [Internet]. 2019 [citado 13 de octubre de 2020];41. Disponible en: <https://search.proquest.com/docview/2439656405/abstract/566B0053E7FA4F35PQ/19>
13. Sakkas H, Economou V, Gousia P, Bozidis P, Sakkas VA, Petsios S, et al. Antibacterial Efficacy of Commercially Available Essential Oils Tested Against Drug-Resistant Gram-Positive Pathogens. *Appl Sci Basel* [Internet]. noviembre de 2018 [citado 13 de octubre de 2020];8(11).

Disponibile en:

<https://search.proquest.com/docview/2250340027/abstract/5DAAAEAE8A524B28PQ/18>

14. Lengyel E, Panaitescu M. Chemical Compounds from *Thymus Vulgaris* and their Antimicrobial Activity. *Manag Sustain Dev Sibiu*. 2019;11(1):25-8. DOI:10.2478/msd-2019-0017
15. Shree P, N H, Mehta N, Chatli MK, Wagh RV, Panwar H. In-vitro Evaluation of Antimicrobial and Antioxidant Efficacy of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Essential Oil. *J Anim Res New Delhi*. junio de 2019;9(3):443-9. DOI: 10.30954/2277-940X.03.2019.9
16. Iseppi R, Link to external site this link will open in a new window, Cerbo AD, Link to external site this link will open in a new window, Aloisi P, Manelli M, et al. In Vitro Activity of Essential Oils Against Planktonic and Biofilm Cells of Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)/Carbapenamase-Producing Gram-Negative Bacteria Involved in Human Nosocomial Infections. *Antibiot Basel*. 2020;9(5):272. DOI: 10.3390/antibiotics9050272
17. Guenane H, Mechraoui O, Bakchiche B, Djedid M, Gherib A, Benalia M. Antibacterial, Antioxidant Activities and Mineral Content from the Algerian Medicinal Plants. *Sci Study Res Chem Chem Eng Biotechnol Food Ind Bacau*. 2020;21(2):175-94. Disponible en: <https://search.proquest.com/docview/2437906656/abstract/32AE8E44164C4A73PQ/8>
18. Teixeira B, Marques A, Ramos C, Neng NR, Nogueira JMF, Saraiva JA, et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Ind Crops Prod*. mayo de 2013;43:587-95. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.07.069
19. Amatiste S, Sagrafoli D, Giacinti G, Rosa G, Carfora V, Marri N, et al. Antimicrobial Activity of Essential Oils Against *Staphylococcus aureus* in Fresh Sheep Cheese. *Ital J Food Saf [Internet]*. 28 de octubre de 2014

[citado 10 de mayo de 2021];3(3). Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5076718/>

20. Santurio DF, Jesus FPK de, Zanette RA, Schlemmer KB, Fraton A, Fries LLM. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Thyme and of Thymol against *Escherichia coli* Strains. *Acta Sci Vet.* 2014;42(1):1-4. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=289029240052>
21. Perez AP, Perez N, Lozano CMS, Altube MJ, de Farias MA, Portugal RV, et al. The anti MRSA biofilm activity of *Thymus vulgaris* essential oil in nanovesicles. *Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm.* abril de 2019;57:339-51. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.12.025
22. Sienkiewicz M, Łysakowska M, Denys P, Kowalczyk E. The antimicrobial activity of thyme essential oil against multidrug resistant clinical bacterial strains. *Microb Drug Resist Larchmt N.* abril de 2012;18(2):137-48. DOI: 10.1089/mdr.2011.0080
23. Tural S, Turhan S. ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF THYME (*Thymus vulgaris* L.), ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis* L.) AND LAUREL (*Lauris nobilis* L.) ESSENTIAL OILS AND THEIR MIXTURES. *KEKİK Thymus Vulgaris BBERİYE Rosmarinus Off VE DEFNE Lauris Nobilis UÇUCU YAĞLARININ VE KARIŞIMLARININ ANTIMİKROBİYAL VE ANTOKSİDAN ÖZELLİKLERİ.* septiembre de 2017;42(5):588- 96. DOI: 10.15237/gida.GD17030
24. Micucci M, Protti M, Aldini R, Frosini M, Corazza I, Marzetti C, et al. *Thymus vulgaris* L. Essential Oil Solid Formulation: Chemical Profile and Spasmolytic and Antimicrobial Effects. *Biomolecules.* 4 de junio de 2020;10(6):860. DOI: 10.3390/biom10060860
25. Burgos Chipana V. Efecto Antibacteriano del Aceite Esencial del *Thymus Vulgaris* (Tomillo) comparado con Oxacilina, sobre *Escherichia Coli* ATCC25922. *Repos Inst - UCV [Internet].* 2018 [citado 12 de mayo de 2021]; Disponible en: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/25969>

26. Luna Guevara ML, Luna Guevara JJ, Ruiz Espinosa H, Leyva Abascal L, Díaz González CB. Eficiencia de la desinfección con aceites esenciales y ultrasonido sobre *Escherichia coli* inoculada en frutos de tomate y el impacto sobre la actividad antioxidante. *Rev Argent Microbiol*. 1 de julio de 2015;47(3):251-5. DOI: 10.1016/j.ram.2015.04.004
27. Almasi L, Radi M, Amiri S, Torri L. Fully dilutable *Thymus vulgaris* essential oil:acetic or propionic acid microemulsions are potent fruit disinfecting solutions. *Food Chem*. 1 de mayo de 2021;343:128411. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128411
28. OMS | Medicina tradicional: definiciones [Internet]. WHO. World Health Organization; [citado 20 de octubre de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/
29. Kok ET, Jong MC, Gravendeel B, Leeuwen WBV, Baars EW. Resistance to Antibiotics and Antifungal Medicinal Products: Can Complementary and Alternative Medicine Help Solve the Problem in Common Infection Diseases? The Introduction of a Dutch Research Consortium. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM* [Internet]. 2015 [citado 1 de diciembre de 2020];2015. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4619906/>
30. Cynthia Comelissen, Hobbs M. Lippincott Illustrated Reviews Microbiología. 4a ed. Barcelona, España: Wolters Kluwer; 2019.
31. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. *Medical Microbiology*. 9th ed. USA: Elsevier; 2021.
32. Ahmad N, Alspaugh A, Lawrence J, Lagunoff M, Pottinger P, Reller L, et al. *SHERRIS MEDICAL MICROBIOLOGY*. 7th ed. Ryan K, editor. New York: McGraw-Hill Education; 2018.
33. Yeh S. Epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, and treatment of *Haemophilus influenzae* - UpToDate [Internet]. UpToDate. 2020 [citado 16 de diciembre de 2020]. Disponible en: <https://bibvirtual.upch.edu.pe:2050/contents/epidemiology-clinical->

manifestations-diagnosis-and-treatment-of-haemophilus-influenzae?search=Epidemiology,%20clinical%20manifestations,%20diagnosis,%20and%20treatment%20of%20Haemophilus%20influenzae&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1

34. Fani M, Kohanteb J. In Vitro Antimicrobial Activity of Thymus vulgaris Essential Oil Against Major Oral Pathogens. J Evid-Based Complement Altern Med. octubre de 2017;22(4):660-6. DOI: 10.1177/2156587217700772
35. Mehta AD. Review on Thymus Vulgaris. 30 de diciembre de 2020;2020:6. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/347997246_Review_on_Thymus_Vulgaris
36. Libro guía de 103 plantas en Chile sobre propiedades medicinales, agronómica y culinaria - Territorio Ancestral [Internet]. [citado 21 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.territorioancestral.cl/2020/03/20/libro-guia-de-103-plantas-en-chile-sobre-propiedades-medicinales-agronomica-y-culinaria/>
37. Kowalczyk A, Przychodna M, Sopata S, Bodalska A, Fecka I. Thymol and Thyme Essential Oil—New Insights into Selected Therapeutic Applications. Molecules [Internet]. 9 de septiembre de 2020 [citado 24 de noviembre de 2020];25(18). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7571078/>
38. Anonymous. Thymi aetheroleum [Internet]. European Medicines Agency. 2018 [citado 13 de mayo de 2021]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/thymi-aetheroleum>
39. Zarshenas MM, Krenn L. A critical overview on Thymus daenensis Celak.: phytochemical and pharmacological investigations. J Integr Med. marzo de 2015;13(2):91-8. DOI: 10.1016/S2095-4964(15)60166-2
40. Nieto G. A Review on Applications and Uses of Thymus in the Food Industry. Plants. 30 de julio de 2020;9:961. DOI: 10.3390/plants9080961

41. Kuete V. Medicinal Plant Research in Africa Pharmacology and Chemistry. 1st ed. Elsevier; 2013.
42. Improving the Efficacy of Essential Oils as Antimicrobials in Foods: Mechanisms of Action | Annual Review of Food Science and Technology [Internet]. [citado 12 de junio de 2021]. Disponible en: <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-food-032818-121727#article-denial>
43. Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*. 25 de noviembre de 2013;6(12):1451-74. DOI: 10.3390/ph6121451
44. Parra E. Las Fases Del Proyecto De Investigación [Internet]. 1er ed. Medellín, Colombia: INGES; 2018. Disponible en: <https://sites.google.com/view/semillero>
45. Vicerrectorado de Investigación. Código de Ética en Investigación [Internet]. Investigación UCV; Disponible en: <https://www.ucv.edu.pe/wp-content/uploads/2020/11/RCUN%C2%B00262-2020-UCV-Aprueba-Actualizaci%C3%B3n-del-C%C3%B3digo-%C3%89tica-en-Investigaci%C3%B3n-1-1.pdf>
46. Soković M, Glamočlija J, Marin PD, Brkić D, van Griensven LJLD. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Mol Basel Switz*. 27 de octubre de 2010;15(11):7532-46. DOI: 10.3390/molecules15117532
47. Bogavac M, Karaman M, Janjušević L, Sudji J, Radovanović B, Novaković Z, et al. Alternative treatment of vaginal infections - in vitro antimicrobial and toxic effects of *Coriandrum sativum* L. and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *J Appl Microbiol*. septiembre de 2015;119(3):697-710. DOI: 10.1111/jam.12883
48. Ebani VV, Nardoni S, Bertelloni F, Pistelli L, Mancianti F. Antimicrobial Activity of Five Essential Oils against Bacteria and Fungi Responsible for

Urinary Tract Infections. *Molecules*. julio de 2018;23(7):1668. DOI: 10.3390/molecules23071668

49. Cáceres M, Hidalgo W, Stashenko E, Torres R, Ortiz C. Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Anti-Biofilm and Anti-Quorum Sensing Activities against Pathogenic Bacteria. *Antibiotics*. abril de 2020;9(4):147. DOI: 10.3390/antibiotics9040147
50. Kerekes EB, Vidács A, Takó M, Petkovits T, Vágvölgyi C, Horváth G, et al. Anti-Biofilm Effect of Selected Essential Oils and Main Components on Mono- and Polymicrobial Bacterial Cultures. *Microorganisms*. 12 de septiembre de 2019;7(9):345. DOI: 10.3390/microorganisms7090345
51. Kovačević Z, Radinović M, Čabarkapa I, Kladar N, Božin B. Natural Agents against Bovine Mastitis Pathogens. *Antibiotics*. febrero de 2021;10(2):205. DOI: 10.3390/antibiotics10020205
52. Celikel N, Kavas G. Antimicrobial properties of some essential oils against some pathogenic microorganisms. *Czech J Food Sci*. 2008;26(3):174-81. DOI: 10.17221/1603-CJFS
53. Gedikoğlu A, Sökmen M, Çivit A. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Sci Nutr*. mayo de 2019;7(5):1704-14. DOI: 10.1002/fsn3.1007
54. Jaber H, Oubihi A, Ouryemchi I, Boulamtat R, Oubayoucef A, Bourkhiss B, et al. Chemical Composition and Antibacterial Activities of Eight Plant Essential Oils from Morocco against *Escherichia coli* Strains Isolated from Different Turkey Organs. *Biochem Res Int*. 2021;2021:6685800. DOI: 10.1155/2021/6685800
55. Paiano R, Bonilla J, Sousa RL, Moreno A, Baruselli P. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils against pathogens often related to cattle endometritis. *J Infect Dev Ctries*. 29 de febrero de 2020;14:177-83. DOI: 10.3855/jidc.12076

56. Chemical Composition and Antibacterial Activities of Eight Plant Essential Oils from Morocco against Escherichia coli Strains Isolated from Different Turkey Organs [Internet]. [citado 18 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8009720/>