Rev Inv Vet Perú 2023; 34(1): e24598
https://doi.org/10.15381/rivep.34i1.24598

Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Staphylococcus aureus* en carne de pollo

Antimicrobial effect of essential oil of oregano (*Origanum vulgare*) against *Staphylococcus aureus* in chicken meat

Lesly Grande V.[1]*, Rosa González V.[2], Juan Lucas L.[1], Andrea Carhuallanqui P.[1], José Guevara F.[3], Daphne Ramos D.[1]

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en carne de pollo. Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de microdilución en pocillos y la concentración mínima bactericida (CMB) para determinar la supervivencia de las bacterias expuestas a diferentes concentraciones del aceite esencial. Además, se evaluó la capacidad del aceite esencial de orégano de inhibir el crecimiento de *S. aureus* en filetes de pollo. Se obtuvo una CMI de 0.5% y una CMB de 4%. Las concentraciones e»1% de aceite esencial de orégano redujeron significativamente ($p<0.05$) los recuentos de *S. aureus* en la carne de pollo, en niveles relacionados directamente con la concentración aplicada. Los resultados demostraron que el aceite de orégano posee un efecto antimicrobiano contra *S. aureus* ATCC 25923.

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

[1] Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú
[2] Laboratorio de Patología Aviar, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú
[3] Departamento Académico de Ciencia Animal y Conservación del Hábitat, Universidad Autónoma de Baja California Sur, México
** E-mail: leslygv.9@gmail.com*

Recibido: 26 de mayo de 2022
Aceptado para publicación: 26 de noviembre de 2022
Publicado: 27 de febrero de 2023

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

Abstract

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of essential oil of oregano (*Origanum vulgare*) against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in chicken meat. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined by the microdilution method in wells and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) to determine the survival of bacteria exposed to different concentrations of essential oil. In addition, the ability of oregano essential oil to inhibit the growth of *S. aureus* in chicken fillets was evaluated. A MIC of 0.5% and a CMB of 4% were obtained. Concentrations e»1% of oregano essential oil significantly ($p<0.05$) reduced *S. aureus* counts in chicken meat at levels directly related to the applied concentration. The results showed that oregano oil has an antimicrobial effect against *S. aureus* ATCC 25923.

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

Introducción

El aumento de patógenos bacterianos resistentes a antibióticos se ha convertido en un problema grave de salud pública a nivel mundial (Munita y Arias, 2016). Esto incluye a los patógenos transmitidos por alimentos que han desarrollado resistencia antimicrobiana (O'Bryan *et al*., 2018). Uno de estos microrganismos es *Staphylococcus aureus*, que suele estar presente en las superficies externas del cuerpo del humano y especies animales, sea como comensal o patógeno, por lo que tiene el potencial de causar múltiples enfermedades infecciosas (Weese y Duijkeren, 2010). *S. aureus* también es un importante agente causal de enfermedades transmitidas por alimentos (Seo y Bohach, 2013), y puede ser transmitido por diversos productos como la carne de ave (Weese y Duijkeren, 2010; Ribeiro *et al*., 2018). En las últimas décadas, debido a la evolución de esta bacteria y al abuso de los antibióticos, *S. aureus* ha mostrado un aumento gradual de su resistencia a los fármacos, generando cepas peligrosas como *S. aureus* resistente a la meticilina (Guo *et al*., 2020). Sudamérica registra la mayor prevalencia en el mundo de cepas *S. aureus* resistentes, lo cual implica a la carne de ave como un latente riesgo para la salud pública (Ribeiro *et al*., 2018).

En los alimentos, el crecimiento de *S. aureus* y otros patógenos se ha limitado por el empleo de sustancias químicas conocidas como preservantes o conservantes (Faleiro, 2011; Abu-Ghazaleh, 2013; Aminzare *et al*., 2014). Sin embargo, el uso de conservantes químicos ha tenido consecuencias negativas en la salud de los consumidores, de allí que la industria alimentaria está en la búsqueda de compuestos naturales con propiedades similares (Fratianni *et al.*, 2010; Kumari *et al*., 2019). Los conservantes naturales que comúnmente se utilizan son los extractos de plantas, chitosán, bacteriocinas, péptidos bioactivos y aceites esenciales, entre otros (Olatunde y Benjakul, 2018).

Los aceites esenciales son complejos compuestos naturales y volátiles producidos por plantas aromáticas (Bakkali *et al*., 2008). Su aplicación como aditivos alimentarios es una alternativa natural que ha demostrado actividad antimicrobiana frente a patógenos transmitidos por alimentos (Burt, 2004). Esta actividad antimicrobiana no puede atribuirse a un único mecanismo de acción, debido a la gran variedad de compuestos presentes en los aceites esenciales (Burt, 2004); por lo que, en general, se cree que componentes como los terpenos, terpenoides, fenilpropenos, y algunos otros, como la alicina y los isotio-

cianatos, son los que tienen la mayor actividad antimicrobiana (Gavahian *et al*., 2020).

El aceite esencial de orégano presenta compuestos antimicrobianos de tipo terpenoides como el timol y carvacrol, y puede ser aplicado en los alimentos con el fin de inhibir el crecimiento de *S. aureus,* suprimiendo además la síntesis de enterotoxinas estafilocócicas (de Souza *et al.*, 2010; Cui *et al*., 2019). Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en carne de pollo.

Materiales y Métodos

Aceite Esencial de Orégano

Se utilizó un aceite esencial de orégano extraído previamente por el Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM), Lima, Perú. El orégano (*Origanum vulgare*) fresco provenía del departamento de Junín. El proceso de extracción del aceite esencial de orégano (AO) y su composición química determinada mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas ha sido previamente publicado (Carhuallanqui *et al*., 2020).

Cepa de *Staphylococcus aureus*

La cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Microbiologics, Francia) fue cultivada en Agar Tripticasa soya (TSA) a 37 °C por 24 h.

Ensayo de Difusión en Disco (DDA)

La evaluación preliminar de la actividad antimicrobiana del AO se realizó mediante el DDA. Se sembró un inóculo de la cepa de *S. aureus*, previamente ajustado a una turbidez de 0.5 ml en la escala de McFarland, con un hisopo estéril sobre toda la superficie del agar Müeller-Hinton (García *et al.*, 2000). Posteriormente, discos de AO a 13 concentraciones (0.01, 0.03, 0.06, 0.12, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 y 100%) fueron colocados sobre la superficie del agar. Finalmente, se incubaron a 37 °C por 24 h y se midió el halo de inhibición que rodeaba a cada disco. Esta evaluación se realizó por triplicado. Según Espina *et al.* (2011), la actividad antimicrobiana del AO se clasifica como no inhibitoria cuando los halos son menores a 10 mm.

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La CMI es la menor concentración de AO que inhibe el crecimiento bacteriano y se determinó mediante microdiluciones en microplacas estériles de 96 pocillos, según lo descrito por García *et al*. (2000) y Sharafati Chaleshtori y Sharafati Chaleshtori (2017). Es decir, se añadió 95 µl de Caldo Soja Tripticaseína (TSB) a trece pocillos de una misma fila, al primer pocillo de esa fila se le agregó 100 µl del AO a una concentración del 32% y a partir de este se realizaron diluciones seriadas 1:2 hasta el pocillo 12, el pocillo 13 fue el control positivo (no contenía AO). Posteriormente, se añadió un inóculo bacteriano de 5 µl a cada pocillo, resultando en una población microbiana final de 5×10^4 bacterias/pocillo. Finalmente, las microplacas se incubaron a 37 °C por 22 h. Para evidenciar la variación en la turbidez se determinaron las densidades ópticas mediante un espectrofotómetro a 450 nm a las 0 y 22 h (Sharafati Chaleshtori y Sharafati Chaleshtori, 2017).

Concentración Mínima Bactericida (CMB)

La CMB se realizó mediante la determinación de la supervivencia de las bacterias expuestas a las concentraciones de AO. Para ello, se tomó una muestra de 10 µl de cada pocillo utilizado en la prueba del CMI, incluyendo el control, y se sembró en placas con

agar Baird Parker (Boskovic *et al.*, 2015). Las placas se incubaron a 37 °C por 24 h, y se observó el crecimiento de colonias redondas de color negro brillante, típicas de *S. aureus*. La concentración más baja de AO en la que no se observó desarrollo bacteriano se denominó CMB.

Actividad Antimicrobiana en Carne de Pollo

Se adquirieron pechugas de pollo del mercado del distrito de San Luis, Lima, que fueron colocadas en bolsas de polietileno de primer uso y transportadas al Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la FMV-UNMSM en una caja térmica conteniendo geles refrigerantes (4 °C). La carne fue lavada con agua corriente y se realizaron cortes asépticos para obtener filetes de aproximadamente 25 g, que fueron sometidos a radiación ultravioleta por 25 min. Se descartó la presencia de *S. aureus* mediante siembra en agar Baird Parker, y se evalúo la presencia de residuos de antimicrobianos mediante el test microbiológico conocido como «prueba *in situ* con torundas» (prueba stop), siguiendo el protocolo descrito por Moreno (2003) usando como indicador la cepa de *S. aureus* ATCC 25923.

Se inoculó 1 ml de cada concentración de AO (0.01, 0.03, 0.06, 0.12, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 32%) diluido con Tween 80, similar a lo descrito por Sharafati Chaleshtori y Sharafati Chaleshtori (2017), sobre las superficies de los filetes, con excepción de las muestras control. De forma similar, todas las muestras fueron contaminadas directamente con un inóculo de 1 ml de *S. aureus* ATCC 25923 conteniendo aproximadamente 2.5 x 10^5 bacterias/ml, consiguiendo en los filetes una carga microbiana de aproximadamente 10^4 UFC/g (4.4 Log UFC/g). Las muestras contaminadas fueron envasadas a vacío (Selladora Foodsaver V2240) en bolsas estériles de polietileno y se mantuvieron a temperatura ambiente (aproximadamente 20 °C) por 2 h, simulando un abuso de temperatura durante el traslado desde el lugar de expendio al domicilio, y a 4 °C durante 12 h, como un tiempo probable de almacenamiento antes de su uso a nivel doméstico. Luego, se realizaron los recuentos microbiológicos por duplicado. Para ello, se homogenizó 25 g de la muestra con 225 ml de agua peptonada al 0.1% y se realizaron diluciones decimales hasta obtener concentraciones de 10^{-2} y 10^{-3}. Las diluciones se sembraron en agar Baird Parker y tras su incubación a 37 °C por 45 h se realizaron los recuentos de *S. aureus* según lo descrito por Da Silva *et al.* (2019), con un nivel de detección de 2 Log UFC/g.

Análisis Estadístico

Los recuentos se expresaron como Log UFC/g. Las reducciones decimales alcanzadas en la carga de *S. aureus* de los filetes de pollo se obtuvieron de restar el valor del recuento de la muestra control (sin tratamiento) del recuento obtenido en cada muestra. Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la normalidad de los datos. Se hizo el análisis de varianza y comparaciones múltiples de Tukey para determinar el efecto de la concentración de AO sobre las reducciones decimales alcanzadas. Los análisis se realizaron con el software IBM SPSS Statistics v. 23.0 para Windows (SPSS Inc., USA).

Resultados

El AO mostró actividad antimicrobiana contra *S. aureus* en la prueba de difusión en disco en concentraciones $\geq$16% (Cuadro 1).

El Cuadro 2 muestra la turbidez generada por el crecimiento bacteriano a través de la variación de las densidades ópticas (DO) tomadas a las 0 y 22 h de incubación. Las DO fueron mayores a las 22 h comparado con las 0 h en las concentraciones de AO de 0.01% hasta 0.25%, por lo que se consideró como CMI a la concentración de 0.5%. Asimismo, el AO de orégano demostró poseer un efecto bactericida a concentraciones de 32, 16, 8 y 4, puesto que no se observó creci-

Cuadro 1. Resultados del ensayo difusión en disco de diferentes concentraciones del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) en un cultivo de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

AO (%)	Zona de inhibición (mm)
100	26
32	12
16	10
≤8	<10

AO: Concentración del aceite esencial de orégano

Cuadro 2. Densidades ópticas de las pruebas de concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

AO (%)	Densidad óptica	
	0 h	22 h
32	0.21	0.20
16	0.21	0.19
8	0.20	0.17
4	0.17	0.16
2	0.17	0.16
1	0.17	0.16
0.5	0.16	0.16
0.25	0.15	0.26
0.12	0.16	0.33
0.06	0.14	0.32
0.03	0.16	0.41
0.01	0.15	0.39
Control	0.14	0.40

AO: Concentraciones de aceite esencial de orégano

miento de *S. aureus*, considerándose, por lo tanto, que el CMB fue de 4%.

En general, todas las concentraciones de AO de 1% a más lograron reducir de forma significativa los recuentos de *S. aureus* en la carne de pollo (Figura 1). La muestra control presentó un recuento de 4.48±0.08 Log UFC/g, por lo que el efecto del manejo de tiempo y temperatura tras la inoculación y previo al recuento no fue significativo. En las muestras tratadas con 32 y 16% de AO no se detectó la cepa patógena inoculada, por lo que el tratamiento habría reducido los recuentos en al menos 2.5 Log UFC/g, considerando que el nivel de detección de la metodología es de 2 Log UFC/g. Los recuentos obtenidos en las muestras tratadas con 8, 4, 2 y 1% fueron 4.18±0.2, 4.30±0.1, 4.18±0.1 y 4±0.2 Log UFC/g, respectivamente, por lo que las reducciones decimales obtenidas oscilaron entre 0.5 a 0.2 Log UFC/g. Los recuentos obtenidos en las muestras tratadas con concentraciones 0.5, 0.25 y 0.125% no mostraron diferencias significativas respecto al control.

Discusión

Los resultados evidencian un efecto antimicrobiano del AO frente a *S. aureus* en carne de pollo. Esta actividad antimicrobiana se debe principalmente al carvacrol y timol del orégano, ya que tienen la capacidad de alterar la permeabilidad de la membrana celular bacteriana, produciendo daño estructural y funcional (Lambert *et al.*, 2001; Burt, 2004; Govaris *et al.*, 2010). Asimismo, se ha descrito que el carvacrol puede alterar la estructura del ADN del *S. aureus*, afectando con ello la replicación, transcripción y traducción del ADN (Cui *et al*., 2019). Además, el AO puede causar en *S. aureus* la inhibición del ciclo del ácido tricarboxílico y sus enzimas clave (Cui *et al*., 2019). Carhuallanqui *et al*. (2020) determinaron que el orégano del que se extrajo el AO utilizado en este estudio presentaba 11.9 y 1.7% de timol y carvacrol, respectivamente.

La composición química del AO explica en gran medida la intensidad de su efecto antimicrobiano. Así, los valores altos de CMI y CMB se pueden relacionar de forma inversa con los niveles de carvacrol y timol del AO empleado. Por ejemplo, Ortega (2018)

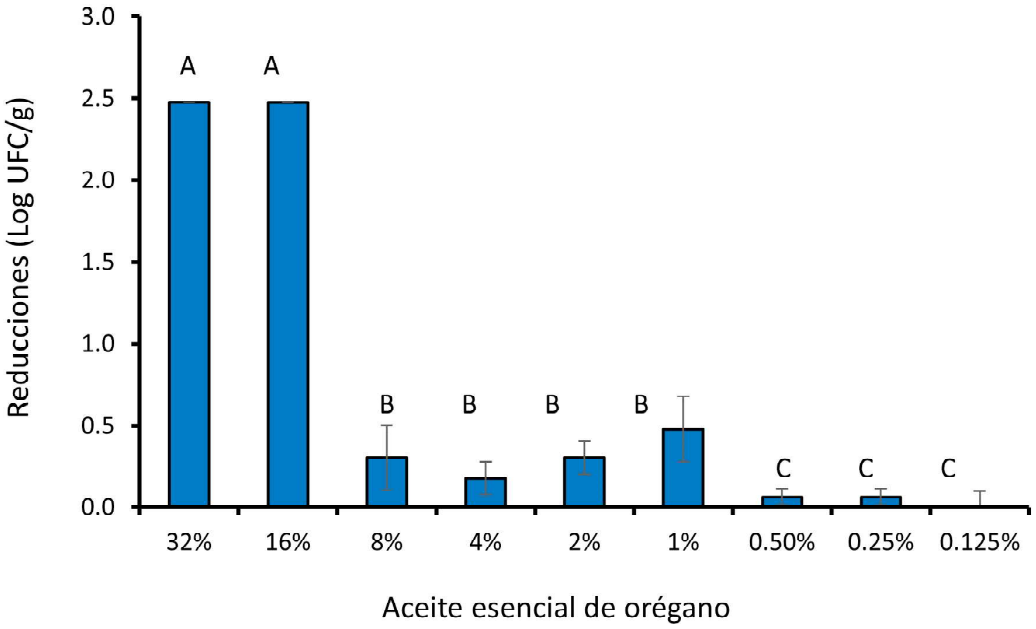


Figura 1. Reducciones (Log UFC/g) en la carga microbiológica de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 de filetes de pollo tratados con diferentes concentraciones de aceite esencial de orégano. Letras distintas (A, B, C) indican diferencias significativas ($p<0.05$). Las barras muestran la desviación estándar

obtuvo una CMI de 0.12% del AO frente a *S. aureus*, menor a la obtenida por este estudio, pero la composición del AO usado por estos autores presentaba una alta concentración de carvacrol (73.3%). Asimismo, Nostro *et al.* (2007) reportaron una CMI de 0.06-0.12% en aislados de *S. aureus* proveniente de infecciones oculares, empleando un AO con 14% de carvacrol y 24.7% de timol. Lu *et al*. (2018) obtuvieron un CMI de 0.32% en aislados clínicos de *S. aureus* resistentes a la metacilina, cuando las enfrentaron a un AO con 6.6 y 72.3% de timol y carvacrol, respectivamente. Man *et al.* (2019) describieron una CMI de 0.4% contra *S. aureus*, similar al obtenido en este estudio (0.5%), pero con un AO conteniendo 80.5% de carvacrol. Por tanto, si bien el timol y carvacrol son los componentes del AO que son determinantes en su actividad antimicrobiana, no se puede descartar el posible efecto sinérgico que pueden presentar otros componentes del AO (Ultee *et al.*, 2002; Burt, 2004; Gavahian *et al*., 2020).

La CMB 4% del presente estudio es similar al reporte de Oyarzabal *et al.* (2011), quienes evaluaron la acción antimicrobiana del AO frente a bacterias aisladas de la leche bovina y cepas estándares ATCC de *S. aureus*. Estos autores emplearon orégano de origen peruano y reportaron una baja concentración de carvacrol y timol en su AO.

Las condiciones medioambientales como el clima o la altitud pueden influenciar en la cantidad y la calidad de los componentes de la planta, asimismo, el método de extracción del AO puede afectar a estos componentes (Arcila-Lozano *et al.*, 2004; Reyes-Jurado *et al.*, 2015). Según Simirgiotis *et al.* (2020), el carvacrol puede constituir del 12.6 al 88.7% en el AO, en tanto que Sakkas y Papadopoulou (2017) indican que el timol puede presentarse hasta en 64%. Sin embargo, Tellez y Nolazco (2017) encontraron concentraciones bajas de carvacrol (2.24%) y timol (18.8%) en AO proveniente de plantas de Tacna (Perú). Por otro lado, Tellez (2017)

analizó seis ecotipos de AO provenientes de Cusco (Perú) determinando concentraciones menores de carvacrol (0.20-2.04%) y timol (2.3-18.3%), atribuyendo estos valores al estrés hídrico de la planta cultivada a más de 3000 msnm. El orégano empleado en el presente estudio provino de la región de Junín, lugar con similar altitud a la zona del estudio de Tellez (2017), lo que podría explicar las concentraciones similares de carvacrol y timol. Otros estudios también reportan bajos niveles de carvacrol y timol (Asensio, 2013; Simirgiotis *et al.*, 2020).

En el presente estudio, se simuló un manejo deficiente de la temperatura (20 °C) durante el traslado de los filetes de pollo desde el lugar de expendio hacia el domicilio. Este manejo no influyó significativamente sobre los recuentos microbianos, ya que tanto el inóculo como las muestras control presentaron cantidades similares (4.4 Log UFC/g). Rodriguez-Caturla *et al*. (2012) describieron que la constante específica de velocidad de crecimiento máxima de *S. aureus* en carne de pollo a 20 °C es de 0.04-0.16. Considerando estas condiciones, el crecimiento de este microorganismo durante 2 h oscilaría entre 0.03-0.13 Log UFC/g. Así mismo, Chaichi *et al*. (2021) determinaron crecimientos menores a 0.1 Log UFC/g de *S. aureus* en pechugas de pollo cuando se almacenaron a 37 °C durante 2 h. Por otro lado, el almacenamiento durante 12 h a 4 °C no tendría repercusión sobre los recuentos, ya que *S. aureus* no es capaz de crecer en refrigeración (Seo y Bohach, 2013).

La aplicación de AO a los filetes de pollo contaminados con *S. aureus* ATCC 25923 disminuyó los recuentos microbianos de esta bacteria, siendo los efectos antimicrobianos más significativos en las concentraciones más altas. Al respecto, Pesavento *et al*. (2015) consiguieron reducciones <2 Log UFC/g de *S. aureus* con concentraciones de 0.5-2% de AO en albóndigas de vacuno, AO que contenía 71.8% de carvacrol. Asimismo, Dos Santos Rodrigues *et al*. (2017) obtuvieron reducciones de 1-2 log UFC/ml en los recuentos de *S. aureus* en superficies de acero inoxidable usando AO en concentraciones de 0.25 y 0.125% (67% de carvacrol y 16% de timol). En general, se describe que los aceites esenciales y otros conservantes naturales consiguen un efecto bactericida entre 1-4 Log UFC/g contra bacterias transmitidas por alimentos cuando son aplicados en carne y productos cárnicos (Yu *et al*., 2021).

Para que *S. aureus* produzca enterotoxinas en cantidades capaces de causar enfermedad en el hombre, es necesario que alcance una concentración mayor a 5 Log UFC/g (ICMSF, 2002; Erkmen y Bozoglu, 2016). Además, *Staphylococcus aureus* suele estar presente en pequeñas cantidades en los alimentos, y en los casos más desfavorables se estima que presentaría cantidades máximas de 4 Log UFC/g, las cuales se mantienen constantes si los alimentos son almacenados en refrigeración (Seo y Bohach, 2013). Por tanto, la aplicación de AO en las concentraciones utilizadas en este estudio no garantizaría la higienización completa la carne de pollo. A pesar de ello, la aplicación de AO en proporciones desde tan solo 1% reduce las cantidades de este microorganismo, pudiendo usarse como una alternativa a los conservantes y para actuar de forma sinérgica junto con otros tratamientos.

Literatura Citada

1. ***Abu-Ghazaleh BM. 2013.*** Effects of ascorbic acid, citric acid, lactic acid, NaCl, potassium sorbate and *Thymus vulgaris* extract on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Afr J Microbiol Res 7: 7-12. doi: 10.5897/AJMR12.042
2. ***Aminzare M, Razavi Rohani SM, Raeisi M, Hosseini SJ, Hashemi M. 2014.*** Antibacterial effects of monolaurin, sorbic acid and potassium sorbate on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. J Food Qual Hazards Control 1: 52-55

3. ***Arcila-Lozano CC, Loarca-Piña G, Lecona-Uribe S, González De Mejía E. 2004.*** El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. Arch Latinoam Nutr 54: 100-111.
4. ***Asencio C. 2013***. Utilización de aceites esenciales de variedades de orégano como conservante antimicrobiano, antioxidante y de las propiedades sensoriales de alimentos: quesos cottage, ricota y aceite de oliva. Tesis Doctoral. Córdoba, Argentina: Univ. Nacional de Córdoba. 228 p.
5. ***Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008.*** Biological effects of essential oils - a review. Food Chem Toxicol 46: 446-75. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106
6. ***Boskovic M, Zdravkovic N, Ivanovic J, Janjic J, Djordjevic J, Starcevic M, Baltic MZ. 2015.*** Antimicrobial activity of thyme (*Tymus vulgaris*) and oregano (*Origanum vulgare*) essential oils against some food-borne microorganisms. Proc Food Sci 5: 18-21. doi: 10.1016/j.profoo.2015.09.005
7. ***Burt S. 2004.*** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. Int J Food Microbiol 94: 223-253. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
8. ***Carhuallanqui A, Salazar ME, Ramos D. 2020.*** Efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. Rev Investig Altoandinas 22: 25-33. doi: 10.18271/ria.2020.530
9. ***Chaichi M, Mohammadi A, Badii F, Hashemi M. 2021.*** Triple synergistic essential oils prevent pathogenic and spoilage bacteria growth in the refrigerated chicken breast meat. Biocatal Agric Biotechnol 32: 101926. doi: 10.1016/j.bcab.2021.101926
10. ***Cui H, Zhang C, Li C, Lin L. 2019.*** Antibacterial mechanism of oregano essential oil. Ind Crop Pr
11. ***Da Silva N, Taniwaki MH, Junqueira V, Silveira N, Okazaki MM, Gomes R. 2019.*** Microbiological examination methods of food and water. 2nd ed. London, UK: CRC Press. 526 p.
12. ***De Souza EL, de Barros JC, de Oliveira CEV, da Conceição ML. 2010.*** Influence of *Origanum vulgare* L essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. Int J Food Microbiol 137: 308-331. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.-11.025
13. ***Dos Santos JB, de Carvalho RJ, de Souza NT, de Sousa Oliveira K, Franco OL, Schaffner D, de Souza EL, et al. 2017.*** Effects of oregano essential oil and carvacrol on biofilms of *Staphylococcus aureus* from foodcontact surfaces. Food Control 73: 1237-1246. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.-10.043
14. ***Erkmen O, Bozoglu TF. 2016.*** Food microbiology: principles into practice. Vol 1. New Jersey, USA: John Wiley. 446 p.
15. ***Espina L, Somolinos M, Lorán S, Conchello P, García D, Pagán R. 2011.*** Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. Food Control 22: 896-902. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.11.021
16. ***Faleiro ML. 2011.*** The mode of antibacterial action of essential oils. In: Méndez-Vilas A (ed). Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. Vol 2. Spain: Formatex Research Center. p 1143-1156.
17. ***Fratianni F, De Martino L, Melone A, De Feo V, Coppola R, Nazzaro F. 2010.*** Preservation of chicken breast meat treated with thyme and balm essential oils. J Food Sci 75: M528-M535. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.-01791.x
18. ***García JA, Cantón R, García E, Gomez-Lus ML, Martínez L, Rodríguez-Avial C, Vila J. 2000.*** Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. España: Sociedad Española de Enfermedades

Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). 54 p.

19. ***Gavahian M, Chu Y-H, Lorenzo JM, Mousavi Khaneghah A, Barba FJ. 2020.*** Essential oils as natural preservatives for bakery products: understanding the mechanisms of action, recent findings, and applications. Crit Rev Food Sci 60: 310-321. doi: 10.1080/10408398.-2018.1525601
20. ***Govaris A, Solomakos N, Pexara A, Chatzopoulou PS. 2010.*** The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella* Enteritidis in minced sheep meat during refrigerated storage. Int J Food Microbiol 137: 175-180. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro
21. ***Guo Y, Song G, Sun M, Wang J, Wang Y. 2020.*** Prevalence and therapies of antibiotic-resistance in *Staphylococcus aureus*. Front Cell Infect Mi 10: 107. doi: 10.3389/fcimb.2020.00107
22. ***[ICMSF] International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 2002.*** Microorganisms in foods 7: microbiological testing in food safety management. Nueva York, USA: Kluwer Academic. 362 p.
23. ***Kumari PVK, Akhila S, Rao Y S, Devi BR. 2019.*** Alternative to artificial preservatives. Syst Rev Pharm 10: 99-102.
24. ***Lambert RJ, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJ. 2001.*** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J Appl Microbiol 33: 453-462. doi: 10.1046/j.1365-2672.2001.01428.x
25. ***Lu M, Dai T, Murray CK, Wu MX. 2018.*** Bactericidal property of oregano oil against multidrug-resistant clinical isolates. Front Microbiol 9: 2329. doi:10.3389/fmicb.2018.02329
26. ***Man A, Santacroce L, Jacob R, Mare A, Man L. 2019.*** Antimicrobial activity of six essential oils against a group of human pathogens: a comparative study. Pathogens 8: 15. doi: 10.3390/pathogens-8010015
27. ***Moreno B. 2003.*** Higiene e inspección de carnes. Vol 2. Madrid, España: Ediciones Diaz de Santas. 493 p.
28. ***Munita JM, Arias CA. 2016.*** Mechanisms of antibiotic resistance. Microbiol Spectr 4: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015. doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015
29. ***Nostro A, Roccaro AS, Bisignano G, Marino A, Cannatelli MA, Pizzimenti FC, Cioni PL, et al. 2007***. Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. J Med Microbiol 56: 519-523. doi: 10.1099/jmm.0.46804-0
30. ***O'Bryan CA, Crandall PG, Ricke SC. 2018.*** Antimicrobial resistance in foodborne pathogens. In: Ricke SC, Atungulu G, Rainwater C, Park SH (eds). Food and feed safety systems and analysis. p 99-115.
31. ***Olatunde OO, Benjakul S. 2018.*** Natural preservatives for extending the shelf-life of seafood: a revisit. Compr Rev Food Sci F 17: 1595-1612. doi: 10.1111/1541-4337.12390
32. ***Ortega A. 2018.*** Determinación del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*) y orégano (*Origanum vulgare*) frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* ATCC: 12600. Tesis de Ingeniero en Biotecnología de Recursos Naturales. Cuenca, Ecuador: Univ. Politécnica Salesiana. 81 p.
33. ***Oyarzabal ME, Schuch LF, Prestes L, Schiavon DB, Rodrigues MR, de Mello JR. 2011.*** Antimicrobial action of *Origanum vulgare* L essential oil against bacteria isolated from bovine milk. Rev Cubana Plantas Med 16: 260-266.
34. ***Pesavento G, Calonico C, Bilia AR, Barnabei M, Calesini F, Addona R, Mencarelli L, et al. 2015.*** Antibacterial activity of oregano, Rosmarinus and thymus essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. Food Control 54: 188-199. doi: 10.1016/j.foodcont.-2015.01.045

35. ***Reyes-Jurado F, Franco-Vega A, Ramírez-Corona N, Palou E, López-Malo A. 2015.*** Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. Food Eng Rev 7: 275-297. doi: 10.1007/s12393-014-9099-2
36. ***Ribeiro C, Stefani L, Lucheis S, Okano W, Cruz JC, Souza G, Casagrande T, et al. 2018.*** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry and poultry meat: a meta-analysis. J Food Protect 81: 1055-1062. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-17-445
37. ***Rodriguez-Caturla MY, Valero Díaz A, Vallejo JLR, García-Gimeno RM, Cosano GZ. 2012.*** Effect of pre-incubation conditions on growth and survival of *Staphylococcus aureus* in sliced cooked chicken breast. Meat Sci 92: 409-416. doi: 10.1016/j.meatsci.-2012.05.003
38. ***Sakkas H, Papadopoulou C. 2017.*** Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. J Microbiol Biotechn 27: 429-438. doi: 10.4014/jmb.1608.08024
39. ***Seo KS, Bohach GA. 2013.*** *Staphylococcus aureus*. In: Doyle MP, Buchanan RL (eds). Food microbiology: fundamentals and frontiers. 4th ed. Washington DC: ASM Press. p 547-574.
40. ***Sharafati Chaleshtori F, Sharafati Chaleshtori R. 2017.*** Antimicrobial activity of chitosan incorporated with lemon and oregano essential oils on broiler breast meat during refrigerated storage. Nutr Food Sci 47: 306-317. doi: 10.1108/NFS-08-2016-0123
41. ***Simirgiotis MJ, Burton D, Parra F, López J, Muñoz P, Escobar H, Parra C. 2020.*** Antioxidant and antibacterial capacities of *Origanum vulgare* L essential oil from the arid Andean region of Chile and its chemical characterization by GC-MS. Metabolites 10: 414. doi:10.3390/metabo10100414
42. ***Tellez L. 2017.*** Caracterización de los aceites esenciales de seis ecotipos de orégano (*Origanum vulgare* spp) procedentes del Valle de Urubamba - Cusco; Perú. Tesis de Maestría. Lima, Perú: Univ. Nacional Agraria La Molina. 42 p.
43. ***Tellez LA, Nolazco DM. 2017.*** Study on chemical composition of the oregano essential oil (*Origanum vulgare* spp) from Tacna. Ingeniería Industrial 35: 195-205.
44. ***Ultee A, Bennik MHJ, Moezelaar R. 2002.*** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Appl Environ Microb 68: 1561-1568. doi: 10.1128/AEM.68.4.1561-1568
45. ***Weese JS, Duijkeren VE. 2010.*** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. Vet Microbiol 140: 418-429. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.01.039
46. ***Yu HH, Chin YW, Paik HD. 2021.*** Application of natural preservatives for meat and meat products against food-borne pathogens and spoilage bacteria: a review. Foods 10: 2418. doi: 10.3390/foods10102418