

## Efecto antimicrobiano del aceite esencial de Orégano frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*

### Antimicrobial effect of the essential oil of Oregano against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*

Andrea Carhuallanqui Pérez<sup>1</sup>, María Elena Salazar Salvatierra<sup>2</sup>, Daphne Ramos Delgado<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima- Perú.

<sup>2</sup> Laboratorio de Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.

\*Autor para correspondencia: [dramosd@unmsm.edu.pe](mailto:dramosd@unmsm.edu.pe)

Andrea Carhuallanqui Pérez  <https://orcid.org/0000-0002-3739-8353>

Daphne Ramos Delgado  <https://orcid.org/0000-0003-3176-804>

María Elena Salazar Salvatierra  <https://orcid.org/0000-0002-5661-4752>

#### ARTÍCULO ORIGINAL

##### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Artículo recibido: 21/09/2019

Artículo aceptado: 20/12/2019

En línea: 22/01/2020

#### PALABRA CLAVE:

*Origanum vulgare*,  
timol,  
carvacrol.

#### ORIGINAL ARTICLE

##### ARTICLE INFORMATION

Article received: 21/09/2019

Article accepted: 20/12/2019

On line: 22/01/2020

#### KEYWORD:

*Origanum vulgare*,  
thymol,  
carvacrol.

#### RESUMEN

La industria alimentaria utiliza compuestos químicos, para prevenir el crecimiento de bacterias y extender su tiempo de vida útil. Estas sustancias se asocian con problemas tóxicos, presencia de residuos químicos y resistencia antimicrobiana. El aceite esencial de orégano presenta compuestos antimicrobianos como el timol y carvacrol. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano proveniente de la provincia de Concepción, Región Junín (Perú) contra *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. El orégano fue identificado taxonómicamente como *O. vulgare*. Por hidrodestilación se obtuvo el aceite esencial, al cual se le determinó el perfil de compuestos químicos por Cromatografía de Gases/Espectrometría de Masas (GC-MS). Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante microdilución y la concentración mínima bactericida (CMB) por siembra en agar. Se usó agar Baird-Parker para identificar *S. aureus* y para *L. monocytogenes* se utilizó el método de hibridación del ADN mediante el kit Gene Quence® de *L. monocytogenes*. El perfil GC-MS del aceite de orégano determinó la presencia de monoterpenos en baja concentración como el timol (11,9%) y el carvacrol (1,7%). El aceite presentó actividad antimicrobiana contra *S. aureus* (CMI= 2%, CMB= 4%) y *L. monocytogenes* (CMI= 4%, CMB= 4%). El alto porcentaje de la CMI y CMB se debió a la baja concentración de carvacrol y timol. En conclusión el aceite esencial de orégano se podría usar en la industria alimentaria como un antimicrobiano y/o desinfectante natural.

#### ABSTRACT

The food industry uses chemical compounds to prevent the growth of bacteria and extend their shelf life. These substances are associated with toxic problems, the presence of chemical residues and antimicrobial resistance. Oregano essential oil has antimicrobial compounds such as thymol and carvacrol. The objective of the research was to evaluate the antimicrobial effect of oregano essential oil from the province of Concepción, Junín Region (Peru) against *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. Oregano was taxonomically identified as *O. vulgare*. The essential oil was obtained by hydrodistillation and the profile of chemical compounds was determined by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC-MS). The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by microdilution and the minimum bactericidal concentration (CMB) by agar planting Baird-Parker Agar was used for *S. aureus* and for *L. monocytogenes* the DNA hybridization method was used using the Gene Quencekit® *L. monocytogenes*. The GC-MS profile of oregano oil had 11.9% thymol and 1.7% carvacrol. The oil exhibited antimicrobial activity against *S. aureus* (CMI 2%, CMB 4%) and *L. monocytogenes* (CMI-4%, CMB-4%). The high percentage of CMI and CMB was due to the low concentration of carvacrol and thymol, however this oil can be used in the food industry as a natural antimicrobial and/or disinfectant.

## INTRODUCCIÓN

En la actualidad la industria alimentaria busca alternativas naturales para garantizar la inocuidad de los alimentos, así como prevenir el crecimiento de patógenos y extender la vida útil del producto. La industria alimentaria utiliza sustancias químicas que están asociadas a la resistencia antimicrobiana y problemas tóxicos (Ozdikmenli & Demirel Zorba, 2016).

Entre las bacterias patógenas presentes en la industria esta *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. *L. monocytogenes* es una bacteria con capacidad de desarrollarse incluso bajo condiciones de refrigeración y que habitualmente ocasiona cuadros gastrointestinales, pero en personas inmunosuprimidas puede ocasionar la muerte; son microorganismos potencialmente perjudiciales para la salud del consumidor (Obaidat & Stringer, 2019).

*S. aureus* adquiere rápidamente resistencia antimicrobiana, como resistencia a la meticilina, que es un importante problema de salud pública (Katsarou et al., 2019). Esta bacteria puede colonizar las narinas, la piel y el pelo de animales y humanos (Voss, Loeffen, Bakker, Klaassen, & Wulf, 2005). Por lo tanto, existe el riesgo de transmisión de cepas de *S. aureus* a humanos y animales productores de alimentos (Pantosti, 2012).

La necesidad de nuevos desinfectantes y tratamientos para infecciones clínicas causadas por bacterias multirresistentes, ha llevado al estudio de extractos y aceites esenciales de plantas con el objetivo de utilizar antimicrobianos naturales y no químicos. Dentro de las sustancias estudiadas tenemos al aceite esencial de orégano el cual contiene moléculas bioactivas como el timol y el carvacrol (Cid-Perez, Avila-Sosa,

Ochoa-Velasco, Rivera-Chavira, & Nevarez-Moorillon, 2019). Estudios realizados en México indican que el aceite esencial de orégano (*Lippia berlandierimuestra*), presenta eficacia antimicrobiana contra aislados clínicos resistentes a múltiples fármacos (Zapien-Chavarria et al., 2019).

El nombre común del orégano es utilizado en varias especies: *Origanum* (familia: *Lamiaceae*) y *Lippia* (familia: *Verbenaceae*), entre otras. Los principales compuestos antimicrobianos identificados en los diferentes aceites esenciales de orégano (AO) son el carvacrol y el timol. Sin embargo, su contenido puede variar según la especie, temporada de cosecha y origen geográfico (Rodríguez-García et al., 2016).

El timol y el carvacrol son los componentes antimicrobianos de mayor importancia presentes en AO, estos compuestos desintegran la membrana externa de las bacterias Gram negativas, liberando parte del lipopolisacárido y, por lo tanto aumenta la permeabilidad del ATP (trifosfato de adenosina) en la membrana citoplasmática produciendo poros en ésta, y lisando a la bacteria (Abdul Qadir, Shahzadi, Bashir, Munir, & Shahzad, 2017).

En la actualidad la industria alimentaria utiliza sustancias químicas para prevenir la contaminación de los alimentos durante su producción y elaboración y aumentar su vida útil durante el almacenamiento. Muchas de estas sustancias pueden producir en el consumidor intoxicaciones alimentarias y en algunos casos resistencia antimicrobiana (Lee, Kim, Kim, Beuchat, & Ryu, 2018). El AO es una alternativa natural que puede realizar la función de desinfectar. Por ello, el presente estudio tuvo por objetivo evaluar del efecto antimicrobiano del aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare*), proveniente de Concepción, región

Junín –Perú, frente a *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Extracción de aceite esencial

El orégano fresco (7,5 kg), proveniente de la provincia de Concepción, región Junín -Perú; se deshojó y deshidrató a 35°C durante 9 horas en un deshidratador de alimentos (BLANICK modelo BDA020). La obtención del aceite esencial se realizó por hidrodestilación durante 2 h utilizando 3 litros de agua. El producto obtenido fue colectado en una pera de decantación; posteriormente el aceite fue deshidratado con sulfato de sodio anhídrido (5g). El AO se almacenó a 4°C hasta su uso (Tohidpour, Sattari, Omidbaigi, Yadegar, & Nazemi, 2010).

### Rendimiento del aceite esencial (AO)

El rendimiento fue calculado dividiendo la cantidad de AO obtenido entre el peso de masa en seco multiplicado por cien (Pino, Gaviria, Quevedo-Vega, García-Lesmes, & Quijano, 2010).

### Cromatografía de gases-análisis de espectrometría de masas del aceite esencial del orégano.

Los aceites esenciales fueron analizados en un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 acoplado a un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C. Se utilizó una columna J&W 122-1545.67659 DB-5ms, (60 m x 250 µm x 0.25 µm). El programa de temperatura fue 40 °C de inicio con incrementos de 5 °C/min hasta 180 °C; seguido de aumentos de 2.5 °C/min hasta 200 °C por 5 min y finalmente 10 °C/min hasta 300 °C, manteniéndose por 3 minutos.

El inyector se mantuvo a 325°C. La muestra (20 µL) se diluyó en diclorometano (1 mL). Se usó helio como gas portador con un caudal de 1 ml/min. La ionización se realizó por impacto de electrones a 70 eV. El perfil de los compuestos químicos fue determinado por comparación de los tiempos de retención y los patrones de fragmentación presentes en la base de datos del cromatógrafo (García-Díez, Alheiro, Falco, Fraqueza, & Patarata, 2017).

### Microorganismos y condiciones de crecimiento.

Las cepas de *Listeria monocytogenes* (ATCC 19115) y *Staphylococcus aureus* (ATC 25923) fueron obtenidas del laboratorio Gen Lab. Ambas cepas fueron mantenidas a 4°C hasta el momento de ser cultivadas en Agar Triptona Soya (TSA, Merck). La incubación se realizó a 37°C durante 24 h para ambas cepas.

### Ensayo de difusión en disco (DDA).

El perfil inhibitorio del AO se analizó mediante el DDA (ZAIKA, 1988). Se realizó la siembra del inóculo bacteriano (0.5 en la escala de McFarkand) sobre la superficie del agar Mueller-Hinton con un hisopo estéril, después se colocó sobre la superficie los discos de papel filtro (Whatman No.1, 6 mm de diámetro, GE Healthcare, Madison, WI, EE. UU.), que contenían el aceite esencial (0,25%, 0,5%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12%, 16%, 20%, 32%).

Las placas se mantuvieron a 4°C durante 2 h para permitir la dispersión del aceite y luego se incubaron las 11 concentraciones por 24 h por cada microorganismo. El perfil inhibitorio fue evaluado visualmente, observándose como un halo de inhibición que rodea el disco. Los resultados fueron obtenidos a partir de la media de 3 evaluaciones por cada concentración de AO.

### Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Bactericida (CMB).

Las diluciones de los AO se establecieron en base al perfil inhibitorio con el DDA, asimismo los rangos finales de concentración de los AO fueron de 0.25% al 10%, estos rangos se eligieron en base a investigaciones publicadas (Ozdikmenli & Demirel Zorba, 2016).

La determinación del CMI y CMB, se basó en el procedimiento del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio con placas de microtitulación de 96 pocillos (Balouiri, Sadiki, & Ibnsouda, 2016). Para CMI se consideró la concentración más baja del AO en la cual las bacterias no crecieron, los valores de la densidad óptica fueron obtenidos mediante un espectrofotómetro. Para determinar la CMB, se evaluó la supervivencia de las bacterias expuestas a diferentes concentraciones de AO, para ello, se tomó una muestra de cada pocillo y se sembró en placas Petri con agar Baird Parker para *S. aureus*. La evaluación de *L. monocytogenes* se hizo mediante la hibridación de ADN usando el kit Gene Quence de *L. monocytogenes*. La CMB es la concentración más baja que produce una reducción en la población bacteriana hasta el 99.9%.

### Hibridación de ADN con el kit GeneQuence de *Listeria monocytogenes*

Se tomó una muestra de cada uno de los pocillos de las placas de microtitulación y se sembraron en agar Cerebro Corazón Infusión, se removieron con un asa de siembra e introdujeron en un vial conteniendo 1 ml de solución salina amortiguada por fosfatos (PBS), posteriormente se extrajo 0.4 µl para la prueba y se colocó en viales. Se usó este kit comercial

ya que posee una sensibilidad del 96.2% y especificidad del 100% (Barrientos H, Lucas L, Ramos D, Rebatta T, & Arbaiza F, 2015). Se siguieron las instrucciones del protocolo del kit y se leyeron las densidades ópticas a través del espectrofotómetro a 450 nm.

## RESULTADOS

El análisis taxonómico, realizado en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, clasificó al orégano utilizado como *Origanum vulgare*. El rendimiento del AO fue de 1,31%. Tabla 1 muestra como compuestos químicos mayoritarios a monoterpenos como el timol (11.9%) y carvacrol (1.7%), asimismo la Figura 1 muestra el cromatograma de la GC-MS.

**Tabla 1.**  
*Composición Química del Origanum vulgare del Orégano por GC-MS*

	Componente	% TR(min)	
1	$\alpha$ -Tujeno	0,77	13,08
2	$\alpha$ -Pinoeno	0,52	13,38
3	Sabineno	4,44	14,64
4	$\beta$ -Pinoeno	0,23	14,87
5	$\beta$ -Mirceno	1,44	15,01
6	$\alpha$ -Felandreno	0,32	15,72
7	$\alpha$ -Terpineno	5,57	16,06
8	o-Cimeno	2,73	16,30
9	1-metil-5-(1-metiletetil)-Ciclohexeno	1,98	16,47
11	$\beta$ -cis-Ocimeno	0,16	16,85
12	$\gamma$ -Terpineno	11,8	17,37
14	1-metil-4-(1-metiletiliden)-Ciclohexeno	1,57	18,25
15	$\beta$ -Linalool	0,81	18,57
16	Cis- $\beta$ -Terpineol	20,68	18,82
17	Trans-1-metil-4-(1-metiletetil)-2-Ciclohexen-1-ol	1,39	19,53
20	L-4-terpineol	10,09	21,30
21	$\alpha$ -Terpineol	2,5	21,69
27	Timol	11,90	24,24
28	Carvacrol	1,7	24,51
29	$\beta$ -Cariofileno	3,31	28,21

Nota: TR = Tiempo de retención

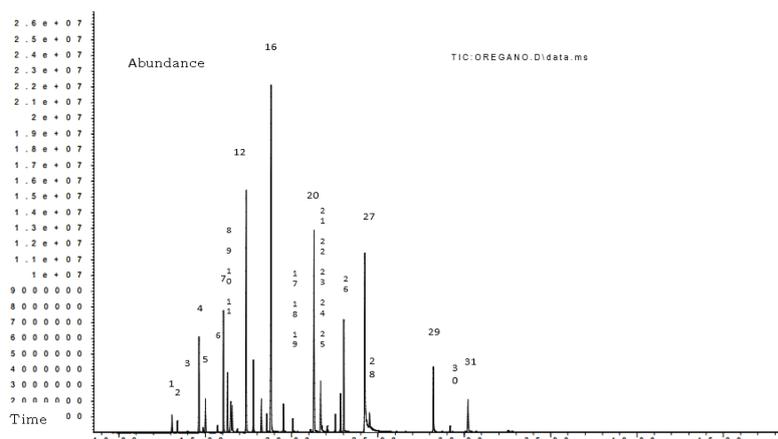


Figura 1. Cromatograma de GC-MS del aceite esencial de orégano.

El AO mostró actividad antimicrobiana contra *S. aureus* y *L. monocytogenes*. La Tabla 2 muestra la CMI y CMB del AO frente *S. aureus* y *L. monocytogenes*.

**Tabla 2.**

Zonas de inhibición mediante el DDA, CMI y CMB del aceite esencial del orégano contra *S. aureus* y *L. monocytogenes*

Aceite esencial	Prueba	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Orégano	DDA (mm)	24	12
	CMI (%)	2%	4%
	CMB (%)	4%	4%

Nota: DDA= Ensayo de difusión en disco; CMI= Concentración mínima de inhibitoria; CMB= Concentración mínima de bactericida.

## DISCUSIÓN

La composición química del AO representado en la Tabla 1, depende de diversos factores como la genética, la temporada de cosecha y el lugar geográfico (Shange, Makasi, Gouws, & Hoffman, 2019). El orégano utilizado en el estudio, fue recolectado por el productor antes de la floración en la provincia de Concepción, Región Junín (Perú) ubicada a 3068 msnm. Este orégano es vendido localmente y en la ciudad de Lima, siendo utilizado para la preparación de alimentos. Sin embargo, la

literatura indica que el tiempo ideal para la recolección es cuando las plantas comienzan a florear entre un 15 a 20%, y alcanzan entre 45 a 55 cm de altura. En este momento las hojas presentan un aroma intenso y se encuentran bien desarrolladas (Yilmaz & Jasinskas, 2016).

Un estudio en Perú evaluó los ecotipos de *Origanum vulgare ssp.* procedentes del valle de Urubamba-Cusco y presentó porcentajes de timol (entre 18.3 y 2.3) y carvacrol (entre 2.04 y 0.20) valores similares al encontrado en el presente estudio. Estos bajos porcentajes están asociados, al bajo estrés hídrico que se presenta cuando la planta se desarrolla a baja altitud (3092 - 3260 msnm) (Tellez Monzon, 2017). El orégano usado en este estudio fue cultivado en Concepción, provincia que cuenta con condiciones similares a las descritas por Téllez; por ello, los valores encontrados de timol y carvacrol son bajos.

El carvacrol y el timol, compuestos fenólicos monoterpénicos, son los principales responsables de la actividad antimicrobiana del AO (Zairi et al., 2019). Por ello, se investiga al AO como un desinfectante natural que puede ser una alternativa al uso de desinfectantes químicos que presentan derivados tóxicos cancerígenos con efectos residuales como trihalometanos y

cloraminas (Ding et al., 2018). Investigadores sugieren más estudios para determinar al AO como un desinfectante de amplio espectro, ellos sugieren que se debe de enfrentar a diferentes bacterias y utilizar combinaciones con otros aceites esenciales para evaluar el posible sinergismo (Santos et al., 2017).

La industria alimentaria utiliza compuestos químicos que están asociados a la resistencia antimicrobiana y toxicidad, actualmente se adicionan antimicrobianos a los piensos y al agua para promover el crecimiento y aumentar la eficiencia alimentaria; esta exposición prolongada a dosis bajas de antimicrobianos tiene probabilidad de dar origen a la aparición de resistencias en animales productores de alimentos; las bacterias resistentes exigen un tratamiento más difícil y caro (Rana, Lee, Kang, & Hur, 2019). El aceite esencial del orégano podría ayudar en el tratamiento como un antimicrobiano natural ya que presentó efecto antimicrobiano frente a *S aureus* y *L. monocytogenes*.

La Tabla 2 indica la CMI y CMB del aceite esencial de orégano; estas concentraciones son altas si lo comparamos con lo obtenido en Chile donde obtuvieron una CMI de 0,04% para *S. aureus* multirresistente (Lofa et al., 2019). Otro estudio determinó que las CMI y CMB del AO mexicano (*Poliomintha longiflora*) enfrentado a *S. aureus*, fue de 0,025% y 0,05% respectivamente. El AO de esa especie presento altos contenidos de timol y carvacrol (28,31% y 17,06%) (Cid-Perez et al., 2019).

Un estudio realizado en el año 2018 en Houston (Estados Unidos) encontró que no hay diferencia en la susceptibilidad al AO, de cepas de *S. aureus* resistente (MRSA) y sensibles a la meticilina (MSSA), observándose que el AO tiene actividad antimicrobiana. En

este estudio se determinó valores de 6.62% para timol y 72.25% para carvacrol. Ellos concluyen que el alto porcentaje de carvacrol altera la pared bacteriana y otras estructuras celulares produciendo la muerte de la bacteria y que el orégano puede ser una alternativa al uso de antibióticos en infecciones bacterianas susceptibles a antibióticos (Lu, Dai, Murray, & Wu, 2018).

Un estudio realizado en el año 2017 en México determino que el timol y carvacrol alteran las proteínas y lípidos de la pared celular y membrana citoplasmática; además de alterar la síntesis de ARN, la actividad ATPasa, etc. El AO causa desequilibrio en la presión osmótica intracelular debido a la fuga de contenido citoplasmático producto de la lesión a nivel de la pared celular y la membrana citoplasmática. Finalmente, la formación de vacuolas citoplasmáticas pueden llegar a producir la necrosis celular (Tapia-Rodriguez et al., 2017).

El uso indiscriminado de antibióticos como profiláctico o promotor de crecimiento; en la producción de animales de abasto; es una de las causas para el desarrollo de cepas de *L. monocytogenes* resistente a antibióticos (Olaimat et al., 2018). En el año 2019 se analizaron varias publicaciones sobre *L. monocytogenes*, determinándose que esta bacteria está presente en alimentos de origen animal siendo muchas veces resistente a antibióticos como: la penicilina, la ampicilina y la gentamicina (Khademi & Sahebkar, 2019).

La CMI y CMB del AO frente a *Listeria monocytogenes* obtenida en el presente estudio fue de 4% y >4%, respectivamente. Un estudio en el cual se evaluó la influencia de la composición del alimento y de aditivos alimentarios (lactato de sodio, fosfato y nitrito sódico) sobre el efecto antimicrobiano del

AO. Determinó una CMI y CMB del AO de 0,005% y >0,005%, respectivamente, frente a *L. monocytogenes*. Ellos atribuyen la actividad inhibitoria del AO para *L. monocytogenes* a su principal compuesto químico que fue el timol (93,34%) (García-Díez et al., 2017). En el presente estudio el nivel de timol fue de 11,9%, este bajo porcentaje hace que la CMI y CMB sean más elevados. Sin embargo, el AO en estudio puede ser utilizado con un antimicrobiano natural frente a *L. monocytogenes* resistentes a antimicrobianos.

## CONCLUSIONES

El aceite esencial de *O. vulgare* proveniente de la provincia Concepción, Región Junín (Perú) presento efecto antimicrobiano frente a *S. aureus* y *L. monocytogenes*, microorganismos asociados a la contaminación de alimentos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul Qadir, M., Shahzadi, S. K., Bashir, A., Munir, A., & Shahzad, S. (2017). Evaluation of Phenolic Compounds and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Some Common Herbs. *Int J Anal Chem*, 2017, 3475738. doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2017/3475738>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barrientos H, E. W., Lucas L, J. R., Ramos D, D., Rebatta T, M., & Arbaiza F, T. (2015). Presencia de *Listeria monocytogenes* en canales porcinos en Lima, Perú %J Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 26, 135-139. doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v26i1.10907>.
- Cid-Perez, T. S., Avila-Sosa, R., Ochoa-Velasco, C. E., Rivera-Chavira, B. E., & Nevarez-Moorillon, G. V. (2019). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Mexican Oregano (*Poliomintha longiflora*) Essential Oil, Hydrosol and Extracts from Waste Solid Residues. *Plants (Basel)*, 8(1). doi: <http://dx.doi.org/10.3390/plants8010022>
- Ding, S., Chu, W., Bond, T., Wang, Q., Gao, N., Xu, B., & Du, E. (2018). Formation and estimated toxicity of trihalomethanes, haloacetonitriles, and haloacetamides from the chlor(am)ination of acetaminophen. *J Hazard Mater*, 341, 112-119. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.07.049>
- García-Díez, J., Alheiro, J., Falco, V., Fraqueza, M. J., & Patarata, L. (2017). Chemical characterization and antimicrobial properties of herbs and spices essential oils against pathogens and spoilage bacteria associated to dry-cured meat products. *Journal of Essential Oil Research*, 29(2), 117-125. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2016.1212738>
- García-Díez, J., Alheiro, J., Pinto, A. L., Soares, L., Falco, V., Fraqueza, M. J., & Patarata, L. (2017). Influence of Food Characteristics and Food Additives on the Antimicrobial Effect of Garlic and Oregano Essential Oils. *Foods*, 6(6). doi: <http://dx.doi.org/10.3390/foods6060044>
- Katsarou, I., Paraskevopoulou, N. M., Papadimitriou-Olivgeris, M., Giormezis, N., Militopoulou, M., Kolonitsiou, F., . . . Spiliopoulou, I. (2019). Fatality of *Staphylococcus aureus* infections in a Greek university hospital: role of inappropriate empiric treatment, methicillin resistance, and toxin genes' presence. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-019-03742-5>

- Khademi, F., & Sahebkar, A. (2019). A systematic review and meta-analysis on the prevalence of antibiotic-resistant *Listeria* species in food, animal and human specimens in Iran. *J Food Sci Technol*, 56(12), 5167-5183. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-019-04040-w>
- Lee, G., Kim, Y., Kim, H., Beuchat, L. R., & Ryu, J. H. (2018). Antimicrobial activities of gaseous essential oils against *Listeria monocytogenes* on a laboratory medium and radish sprouts. *Int J Food Microbiol*, 265, 49-54. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.001>
- Lofa, A., Velasco, V., Gerding, M., Lopez, M. D., Vallejos, D., Bonilla, A. M., & Logue, C. M. (2019). Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* strains of swine origin: molecular typing and susceptibility to oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil and maqui (*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz) extract. *J Appl Microbiol*, 127(4), 1048-1056. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/jam.14393>
- Lu, M., Dai, T., Murray, C. K., & Wu, M. X. (2018). Bactericidal Property of Oregano Oil Against Multidrug-Resistant Clinical Isolates. 9(2329). doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.02329>
- Obaidat, M. M., & Stringer, A. P. (2019). Prevalence, molecular characterization, and antimicrobial resistance profiles of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* O157:H7 on dairy cattle farms in Jordan. *J Dairy Sci*, 102(10), 8710-8720. doi: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2019-16461>
- Olaimat, A. N., Al-Holy, M. A., Shahbaz, H. M., Al-Nabulsi, A. A., Abu Ghoush, M. H., Osaili, T. M., . . . Holley, R. A. (2018). Emergence of Antibiotic Resistance in *Listeria monocytogenes* Isolated from Food Products: A Comprehensive Review. 17(5), 1277-1292. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12387>
- Ozdikmenli, S., & Demirel Zorba, N. N. (2016). Evaluation of usage of essential oils instead of spices in meat ball formulation for controlling *Salmonella* spp. *Food Sci Technol Int*, 22(2), 93-101. doi: <http://dx.doi.org/10.1177/1082013215571118>
- Pantosti, A. (2012). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Associated with Animals and Its Relevance to Human Health. *Front Microbiol*, 3, 127. doi: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2012.00127>
- Pino, J., Gaviria, M., Quevedo-Vega, J., García-Lesmes, L., & Quijano, C. (2010). Essential Oil of *Galinsoga parviflora* Leaves from Colombia. *Nat Prod Commun*, 5, 1831-1832. doi: <https://doi.org/10.1177/1934578X1000501129>
- Rana, M. S., Lee, S. Y., Kang, H. J., & Hur, S. J. (2019). Reducing Veterinary Drug Residues in Animal Products: A Review. *Food Sci Anim Resour*, 39(5), 687-703. doi: <http://dx.doi.org/10.5851/kosfa.2019.e65>
- Rodriguez-Garcia, I., Silva-Espinoza, B. A., Ortega-Ramirez, L. A., Leyva, J. M., Siddiqui, M. W., Cruz-Valenzuela, M. R., . . . Ayala-Zavala, J. F. (2016). Oregano Essential Oil as an Antimicrobial and Antioxidant Additive in Food Products. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56(10), 1717-1727. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2013.800832>
- Santos, M. I. S., Martins, S. R., Veríssimo, C. S. C., Nunes, M. J. C., Lima, A. I. G., Ferreira, R. M. S. B., . . . Ferreira, M. A. S. S. (2017). Essential oils as antibacterial agents against food-borne pathogens: Are they really as useful as they are claimed to be? *J Food Sci Technol*, 54(13), 4344-

4352. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-017-2905-0>
- Shange, N., Makasi, T., Gouws, P., & Hoffman, L. C. (2019). Preservation of previously frozen black wildebeest meat (*Connochaetes gnou*) using oregano (*Origanum vulgare*) essential oil. *Meat Sci*, 148, 88-95. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.10.012>
- Tapia-Rodriguez, M. R., Hernandez-Mendoza, A., Gonzalez-Aguilar, G. A., Martinez-Tellez, M. A., Martins, C. M., & Ayala-Zavala, J. F. (2017). Carvacrol as potential quorum sensing inhibitor of *Pseudomonas aeruginosa* and biofilm production on stainless steel surfaces. *Food Control*, 75, 255-261. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.014>
- Tellez Monzon, L. A. (2017). *Caracterización de los aceites esenciales de seis ecotipos de orégano (Origanum vulgare ssp.) procedentes del valle de Urubamba - Cusco; Perú*. Retrieved from <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3479>
- Tohidpour, A., Sattari, M., Omidbaigi, R., Yadegar, A., & Nazemi, J. (2010). Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17(2), 142-145. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2009.05.007>
- Voss, A., Loeffen, F., Bakker, J., Klaassen, C., & Wulf, M. (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerging infectious diseases*, 11(12), 1965-1966. doi: <http://dx.doi.org/10.3201/eid1112.050428>
- Yilmaz, D., & Jasinskas, A. (2016). EFFECT OF HARVEST DATE AND STALK SECTION ON SELECTED STRENGTH CHARACTERISTICS OF TURKISH OREGANO (*Origanum onites* L.). *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 13(4), 191-198. doi: <http://dx.doi.org/10.21010/ajtcam.v13i4.25>
- ZAIKA, L. L. (1988). SPICES AND HERBS: THEIR ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND ITS DETERMINATION. 9(2), 97-118. doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4565.1988.tb00511.x>
- Zairi, A., Nour, S., Khalifa, M. A., Ouni, B., Haddad, H., Khelifa, A., . . . Trabelsi, M. (2019). Phytochemical analysis & Assessment of Biological Properties of essential oils obtained from Thyme & Rosmarinus Species. *Curr Pharm Biotechnol*. doi: <http://dx.doi.org/10.2174/1389201020666191019124630>
- Zapien-Chavarria, K. A., Plascencia-Terrazas, A., Venegas-Ortega, M. G., Varillas-Torres, M., Rivera-Chavira, B. E., Adame-Gallegos, J. R., . . . Nevarez-Moorillon, G. V. (2019). Susceptibility of Multidrug-Resistant and Biofilm-Forming Uropathogens to Mexican Oregano Essential Oil. *Antibiotics (Basel)*, 8(4). doi: <http://dx.doi.org/10.3390/antibiotics8040186>