

Efecto del aceite esencial de *Ruta graveolens* (Ruda) en altas concentraciones sobre *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* cepa ATCC® 25904

Effect of *Ruta graveolens* (Rue) essential oil in high concentrations on *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* strain ATCC® 25904

Mayra Andrea Montero Recalde¹ , Carlos Enrique Aroca Izurieta² , Álvaro Jeanpool Aroca Tirado³ , María Angélica Chuquimarca Chuquimarca³ , Julio César Pujos⁴ , Esteban Santiago Guevara⁵

¹Asesora académica independiente, Ecuador.

²Colegio Unidad Educativa Nueva Concordia, Ecuador.

³Médico veterinario, Ecuador.

⁴Instituto Superior Luis A. Martínez, Ecuador.

⁵Agrocalidad.

Autor de correspondencia: mayrismontero@gmail.com

Recibido: 15/11/2023. Aceptado: 09/10/2024

Publicado el 15 de enero de 2025

Resumen

La investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia antimicrobiana del aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*) sobre *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* cepa ATCC® 25904. La planta fue recolectada del sector de Inapisi de la parroquia de Constantino Fernández, el aceite obtenido fue a través del método de hidrodestilación, se evaluaron 10 concentraciones (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%) en dilución con agua bidestilada, cada dilución se manejó con un total de 5 ml y se adicionó tween 80 como emulsificador al 0,1%. Los resultados demostraron que la concentración mínima inhibitoria determinada del aceite esencial se definió en el 30% y con respecto a la concentración mínima bactericida evidenciada por el cero crecimiento de colonias en placa, la cual se la estableció al 40% de concentración; el estudio de sensibilidad antimicrobiana precisó estadísticamente con la prueba de Tukey al 0,5% diferencias significativas entre tratamientos, siendo el mejor al 90% de concentración con 25,25 mm de formación de halos de inhibición, no obstante los tratamientos a partir del 30% presentaron formación de halos de manera importante, concluyendo que el aceite esencial de *Ruta graveolens* posee eficacia antimicrobiana sobre la cepa evaluada a partir del 30% de concentración.

Palabras clave: sensibilidad antimicrobiana, concentración mínima inhibitoria, concentración mínima bactericida, hidrodestilación.

Abstract

The objective of the research was to evaluate the antimicrobial efficacy of the essential oil of ruda (*Ruta graveolens*) on *Staphylococcus aureus* subsp *aureus* strain ATCC® 25904. the plant was collected from the Inapisi sector of Constantino Fernández, the oil was obtained with the hydrodistillation technician, 10 concentrations were evaluated (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%) in dilution with double distilled water, each dilution was handled a total of 5 ml and tween 80 was added as 0,1% as emulsifier, the results showed that the determined minimum inhibitory concentration of the essential oil was defined at 30%; with respect to the Bactericidal minimum concentration evidenced by the zero growth of colonies on the plate, which was established at 40% concentration; the antimicrobial sensitivity study statistically show significant differences between treatments with the 0,5% Tukey test, the best being at 90% concentration with 25,25 mm of inhibition halo formation, however the treatments starting at 30% and showed significant halos formation, concluding that *Ruta graveolens* oil has antimicrobial efficacy on the strain evaluate.

Keywords: antimicrobial sensitivity, minimum inhibitory concentration, minimal bactericidal concentration, hydrodistillation.

Introducción

Ruta graveolens, conocida como planta de ruda, es de tipo perenne, y pertenece a la familia *Rutaceae*, proviene de Europa, que llegó al Ecuador en la época de la conquista, a esta planta la cultivan de manera ornamental ya que presentan hojas de colores azul y amarillo, los campesinos e indígenas la utilizan principalmente como hierba medicinal, ya que en varias culturas ancestrales es utilizado por efectos en varias dolencias como gastrointestinales, además de antiparasitario y emenagogo (Conway y Slocumb, 1979) e importantes efectos antiinflamatorios y antimicrobianos (Mejri *et al.*, 2010); lo cual se le atribuye a la presencia de metabolitos secundarios principalmente de alcaloides, terpenos, cumarinas y flavonoides (Zekry *et al.*, 2018), ensayos del aceite esencial de ruda han demostrado la actividad antibacteriana sobre bacterias Gram positivas como Gram negativas (Rojas *et al.*, 2011) y su uso se ha convertido como una alternativa al abuso de antimicrobianos tradicionales, con el fin de controlar las resistencias de los microorganismos (Zekry *et al.*, 2018).

La presencia en los últimos años de multiresistencias de diferentes grupos de bacterias a los antibióticos; así las bacterias del género *Staphylococcus* resistentes a la meticilina, principalmente *S. aureus* y *S. pseudointermedius*, se han convertido un problema en la profesión veterinaria como en la medicina general, y la aparición de éstas cepas resistentes a múltiples fármacos ha conducido a varias dificultades en el tratamiento de enfermedades infecciosas (Jeyachandran *et al.*, 2014), causante de altos índices de mortalidad y morbilidad en animales de abasto como mascotas, sin dejar a un lado el riesgo zoonótico que éstas representan (Ríos *et al.*, 2015), el uso de varias plantas medicinales en remedios naturales se ha incrementado de manera drástica y por ende la determinación de sus componentes químicos y sus usos posibles en la medicina, volviéndose una prioridad para los farmacólogos como para la comunidad científica (Reddy y Al-Rajab, 2016).

Hoy en día existe un gran interés por la medicina ancestral, específicamente la medicina herbaria, que han producido numerosos estudios, los mismos que han sido divulgados, pero no muy reproducidos de manera industrial, y es por eso que existe un número limitado de productos registrados de tipo herbario en el campo médico general (Martínez y Gómez, 2013), además de las ventajas del uso de los compuestos herbarios como medicina alternativa, la accesibilidad por costos ha determinado como opción de tratamiento que se ha mantenido hasta la actualidad en ciertas poblaciones humanas en Latinoamérica (Gallegos, 2016); por lo tanto las múltiples propiedades del aceite esencial de *Ruta graveolens* han sido investigadas como herramientas a futuro en la solución de los problemas ligados a la resistencia de varios microorganismos que causan enfermedades tanto en plantas como animales (Pino-Pérez *et al.*, 2018), por lo tanto el objetivo de la investigación fue determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), concentración mínima bactericida (CMB)

y sensibilidad antimicrobiana, a partir de las concentraciones del 10% al 100% del aceite esencial de ruda sobre la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC® 25904.

Material y métodos

Material vegetal

En febrero 4 del 2020 en el sector de Inapisi de la parroquia Constantino Fernández a 2 600 m.s.n.m. del cantón Ambato-Ecuador, se recolectó la planta de ruda macho (*Ruta graveolens*) en floración, la muestra botánica fue valorada e identificada por el PhD Carlos Vásquez, docente investigador de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato. El material fue puesto a secar bajo sombra durante 10 días y reservada para su posterior procesamiento. La investigación tuvo dos fases, en la primera se determinó la concentración mínima inhibitoria, concentración mínima bactericida, macrodilución en caldo a partir de las 10 concentraciones del aceite esencial (10%-100%) de la ruda, la cual estuvo compuesta por tres testigos de los cuales dos fueron tween 80 y agua bidestilada y un testigo positivo que es la vancomicina. En la segunda fase se determinó la sensibilidad antibacteriana en placa petri, a partir de las mismas concentraciones (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100%) con tres testigos, y cuatro repeticiones por cada concentración y se evaluó estadísticamente la significancia mediante la prueba de Tukey al 5%, se trató de un diseño de bloques al azar.

Obtención del aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*)

Para la preparación del aceite de ruda se tomó las hojas y flores, las cuales fueron previamente lavadas con agua destilada, para después trozarlas y pesarlas (Torrenegra-Alarcón *et al.*, 2016), el total del material sumó un 20 libras y posteriormente se las ubicó en una olla con 200 ml de agua destilada y mediante hidrodestilación se obtuvo el aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*) el proceso tomó 4 horas aproximadamente (Ferhat *et al.*, 2014), finalmente se obtuvo 50 ml de aceite, gracias a la ayuda del hidrodestilador artesanal (Véliz-Jaime *et al.*, 2019) en el laboratorio de química de la carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad Técnica de Ambato, el mecanismo de formación de aceite en la máquina resultó mediante el mecanismo de formación de vapor saturado al calentarse la mezcla, la cual fluye hacia un condensador, que al movilizarse en la prolongación curvada del conducto de salida del equipo el vapor se condensa y al enfriarse a la temperatura ambiental se obtiene una emulsión líquida que al separarse en el decantador de tipo florentino, las mismas que deben conservarse en frascos ámbar para evitar la degradación de sus componentes (Cerutti y Neumayer, 2004).

Preparación de concentraciones del aceite esencial de *Ruta graveolens* (ruda)

Las concentraciones preparadas fueron: 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% del aceite esencial de ruda, la obtención de las concentraciones fueron a partir del método volumen a volumen (v/v), en 5 ml como solución total en cada concentración utilizada y el agua bidestilada como el solvente, a lo cual se le añadió tween 80 como sustancia emulsificante, a un porcentaje del 0,1% (Valles *et al.*, 2014).

Cepa bacteriana

Se utilizó la cepa bacteriana certificada *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC® 25904, adquirida por la empresa en el Ecuador Medibac a través de la empresa Corporate Headquarters, Minnesota en Estados Unidos, la cual fue utilizada para determinar los efectos antimicrobianos del aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*).

Activación de la cepa bacteriana

La cepa certificada *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC® 25904, se la activó según indicaciones de la empresa comercializadora, para la activación se procedió a tomar una alícuota, la cual fue hidratada previamente y se la colocó en 5 ml de caldo cerebro corazón, para después realizar una estriación tipo escocés (Haddouchi, *et al.*, 2013) en agar sal manitol en placa y llevada a incubar a temperatura de 37 °C durante 24 horas, en estufa bacteriológica, ubicada de manera invertida y debidamente rotulada (Cockerill *et al.*, 2012).

Preparación del inóculo bacteriano para la determinación de CMI y CMB

Para la preparación del inóculo se tomó cuatro colonias pequeñas de la cepa certificada y se las transfirió al medio líquido cerebro corazón e incubadas por 37 °C durante 2 horas (López-Rivera *et al.*, 2018), y con la ayuda del espectrofotómetro a 0,5 de absorbancia se estandarizó el inóculo a una concentración de $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colonias (Cockerill *et al.*, 2012).

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La CMI del aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*) se realizó mediante el método de macro dilución en caldo según la NCCLS (Cockerill *et al.*, 2012), cada inóculo fue estandarizado a una turbidez de 0,5 de la escala de McFarland (1×10^8 ufc / mL), la cual fue preparada previamente suspendiendo colonias aisladas de la cepa en estudio con caldo cerebro corazón y posteriormente cultivadas en placa de sal manitol durante 24 horas (Cockerill *et al.*, 2012), de manera seguida las 10 concentraciones en tubo (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%) del aceite esencial de ruda se le agregó agua bidestilada como solvente, a lo cual se adicionó el emulsificante tween 80 al 0,1%, ayudados por un vórtex cada tubo durante 5 minutos e incubándolos a

37 °C por 24 horas (Haddouchi *et al.*, 2013), la observación de la concentración más baja sin crecimiento visible de la cepa bacteriana se la determinó como la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de ruda (Hafezian *et al.*, 2016).

Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)

Para establecer la CMB se tomó los tubos que mostraron menor turbidez en la determinación de la CMI y se fueron sembrados en placa, en agar sal manitol y se los incubó a 37 °C por 24 horas (Valles *et al.*, 2014), determinándose a la CMB como la concentración más baja que mata al 99,9% de bacterias (Haddouchi *et al.*, 2013).

Sensibilidad antimicrobiana

Se utilizó el método de difusión en agar para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana según la NCCLS (Cockerill *et al.*, 2012), primeramente se sembró la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC® 25904 por estriación múltiple en agar Mueller Hinton, seguidamente se empapó cada disco en blanco de marca OXOID® con cada una de las concentraciones del aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*), con cuatro discos por cada tratamiento y un testigo por cada tratamiento, en este experimento se consideró 2 testigos negativos: emulsificante tween 80 y agua bidestilada y un testigo positivo el antibiótico vancomicina; una vez empapados se los dejó reposar por 10 minutos en la cámara de flujo laminar, después de este tiempo fueron ubicados en cada caja petri con el uso de pinza anatómica esterilizada, en total se procesaron 10 cajas petri y cada una llevó siete discos, de los cuales 4 fueron las repeticiones de cada concentración, un disco de tween 80, uno de agua bidestilada correspondiente a los testigos negativos y un disco de vancomicina de 16 ug como testigo positivo, cada uno ubicados a una distancia adecuada evitando la posible interposición de los halos de inhibición, finalmente se los llevó a incubar por 24 horas a 37 °C, y después de este tiempo se procedió a la medición de los halos de inhibición con la ayuda de un regleta milimétrica Hiantibiotic ZoneScale®.

Resultados y discusión

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos de la actividad de las 10 concentraciones del aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*) sobre la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC® 25904, con los respectivos controles negativos como positivo, la metodología realizada valoró de manera cualitativa por la turbidez presente en cada tubo, las concentraciones del 10% y 20% presentaron positivo a turbidez (+), se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) al 30% de la concentración del aceite esencial, considerada como la concentración menor que permitió el decrecimiento visible (+/-) de la bacteria gram

positiva evaluada, así como lo detallan (Al-Shuneigat *et al.*, 2015) en el cual en la investigación que realizó estableció una mejor actitud sobre bacterias de pared celular positiva que del grupo de gram negativas, de manera similar lo refieren (Fredj *et al.*, 2007) que al determinar en su estudio la CMI de la cepa de *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC 25932® fue la que mostró la menor CMI (285 $\mu\text{l ml}^{-1}$) evaluada entre grupos de bacterias en estudio.

De igual manera en la investigación de Reddy y Al-Rajab (2016) establecen una CMI de (1,0 $\mu\text{l ml}^{-1}$) siendo baja en comparación con otras bacterias gram negativas importantes como *Pseudomona aeruginosa* (75,0 $\mu\text{l ml}^{-1}$), recalando que estas dos últimas metodologías utilizadas fueron en micro dilución y los resultados de esta investigación se lo realizó por método de macro dilución, destacando no obstante que la capacidad antimicrobiana por parte del aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*) logra efectos desde concentraciones pequeñas para varios grupos de microorganismos como bacterias, hongos y parásitos como lo precisan Luján *et al.* (2010), existen muchas investigaciones las cuales concuerdan con los efectos del aceite esencial sobre *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC 25904® que abarcan desde 100 a 200 $\mu\text{g/mL}$ de determinación de la CMI como lo concluyen Rojas *et al.* (2011), o de 31 mg/mL como lo que detallan Elansary *et al.* (2020) en su investigación más actualizada sobre el tema. El mecanismo de efecto antibacteriano del aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*) se debe a la prevalencia de compuestos

oxigenados como la 2-undecanona como lo denotan Pino *et al.* (2014), ya que este compuesto permite un mayor efecto inhibidor sobre la bacteria *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* que sobre las bacterias gram negativas como lo explican Delgadillo *et al.* (2017), manifestándose este efecto específico sobre este grupo bacteriano por sus componentes alcohólicos y aldehídicos como lo recalcan (Gebregiorgis y Mahamadail, 2017). Además, la actividad biológica antimicrobiana de la ruda dependerá de varios factores así: parte de la planta recolectada, fuente geográfica, las condiciones de suelo, así como también del tiempo en su cosechada, como dependerá también de los métodos de extracción (Ojala *et al.*, 2000).

Según manifiestan Ojala *et al.* (2000) los metabolitos obtenidos de plantas silvestres son consideradas hoy en día como los nuevos antibióticos, además que los estudios de ruda sobre las bacterias gram positivas según lo manifiestan Chaffar *et al.* (2015) presentan una amplia actividad bacteriana que se mantiene en diferentes concentraciones estudiadas tanto en macrodilución como microdilución, y según lo precisan Rojas *et al.* (2011), la actividad antibacteriana de los aceites esenciales siempre será difícil de acotar a uno solo de sus componentes por la variabilidad y complejidad de los mismos; sin embargo, según lo manifiesta el autor, está documentado que la presencia de compuestos con funciones cetónicas pueden colaborar con este efecto antimicrobiano importante.

Tabla 1. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Ruta graveolens* (ruda)

	Diluciones aceite esencial (%)										Control negativo Tween 80	Control negativo Agua Bidestilada	Control positivo Vancomicina
Cepa	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100			
Turbidez													
<i>Staphylococcus aureus</i> subesp <i>aureus</i> ATCC® 25904	+	+	+/-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-

Turbidez positiva (+), Decrecimiento bacteriano +/-, Turbidez negativa (-).

Tabla 2. Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) del aceite esencial de *Ruta graveolens* (ruda)

	Siembra en placa Concentraciones del aceite										Control negativo Tween 80	Control negativo Agua bidestilada	Control positivo Vancomicina
Cepa	10 %	20 %	3 %	40 %	50 %	60 %	70 %	80 %	90 %	100 %			
Turbidez													
<i>Staphylococcus aureus</i> subesp <i>aureus</i> ATCC® 25904	+	+	+/-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-

Crecimiento de colonias (+), Decrecimiento de colonias (+/-), Cero colonias en placa (-).

En la Tabla 2 se presentan los resultados de los tubos que mostraron menor turbidez o ausencia, los cuales al ser llevados a siembra en placa, con sus respectivos controles negativos y positivo, se obtuvo que la concentración mínima bactericida (CMB), considerada como la menor concentración que permite la muerte del 99,9% de bacterias, se la estableció al 40% de concentración del aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*), lo cual está en concordancia con la investigación de Chafar *et al.* (2015), en la cual los datos de determinación se acercan mucho entre CMI y CMB de 240 $\mu\text{L mL}^{-1}$ a 465 $\mu\text{L mL}^{-1}$, concluyendo que se trata de un aceite de alta potencia antimicrobiana sobre varios grupos bacterianos que favorecerían como medicamentos para la cura de enfermedades infecciosas como lo señalan también Azalework *et al.* (2017) en el cual la investigación estableció que la CMB de 500 $\mu\text{L mL}^{-1}$ con respecto a la CMI de 285 $\mu\text{L mL}^{-1}$ mantienen valores no muy alejados entre sí, lo que nos refiere que los demás estudios con respecto a la presente investigación aunque mantienen métodos diferentes de determinación nos indican que las dos determinaciones de valoración antimicrobiana, esto es CMI y CMB se encuentran no muy alejadas entre sí como en la presente de investigación del 30% para CMI y de 40% para la CMB.

Según la investigación realizada por Franca y Nascimento (2015) la CMB sobre las bacterias gram positivas *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus flavus* y *Micrococcus luteus* se presentan en menores concentraciones que las bacterias gram negativas como *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella typhi* y *Enterobacter aerogenes*, lo cual se corrobora en la presente investigación, en la cual ya en la concentración al 40% se determinó la muerte del 99,9% bacterias en siembra en placa, en la siguiente investigación mencionada por Rodrigues *et al.* (2008) en la cual se detalla la amplia actividad sobre varias cepas de *Staphylococcus aureus* a partir del 4%, lo cual difiere de la investigación, debido a la metodología utilizada, el tipo de extracto y su forma de obtención, la investigación realizada por García-Luján *et al.* (2006) determinó que los aceites esenciales mantienen concentraciones mínima inhibitorias como bactericidas más bajas que los extractos alcohólicos, sobre todas las cepas analizadas de *Staphylococcus aureus* de tipo hospitalarias y de resistencia múltiple, lo cual demuestran según Haddouchi *et al.* (2013) que la ruda manifiesta elevados efectos antimicrobianos hacia este grupo bacteriano en

particular.

En la Tabla 3 se presentan los resultados de la prueba de sensibilidad antimicrobiana, mediante el método de difusión en agar, de todas las concentraciones del 10% al 100% del aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*), con los respectivos controles, determinándose eficacia antimicrobiana a partir del 30% de concentración en adelante, con la presencia de halos de inhibición bacteriana desde 5,75 mm correspondientes al 30% hasta 25,25 mm al 90% de concentración, estableciendo que existe diferencia significativa entre los tratamientos de mayor y menor concentración, los resultados se asemejan a los obtenidos por Al-Shuneigat *et al.* (2015), en el cual se determinó para *Staphylococcus aureus* subp *aureus* 20 mm de inhibición en placa, 22 mm especificados Franca y Nascimento (2015) para el mismo género bacteriano, 23,40 mm establecido por Reddy y Al-Rajab (2016) siendo uno de los más altos alcanzados en investigaciones desarrolladas por el autor; en contraposición con el estudio realizado por los investigadores (Fredj *et al.*, 2007) en el cual se estableció 6,0 mm para la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, así también de 15,15 mm detallado por Rodrigues *et al.* (2008) debido a que se trata de un extracto.

La investigación realizada por Franca y Nascimento (2015) mostró igualmente una elevada actividad antimicrobiana sobre la cepa de *S. aureus* con una zona de inhibición de 25,60 mm, comparada con la presente investigación de 25,25 mm teniendo el efecto antimicrobiano superior a todas las bacterias gram positivas y gram negativas analizadas (*Micrococcus*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Pseudomona*, *Salmonella* y *Enterobacter*), las diferencias en la susceptibilidad se debe principalmente a las características de la planta al momento de realizar la obtención del aceite, método de extracción, fecha de recolección, que pueden modificar las características de los componentes como lo detalla Amabye y Mahamadail (2015), el ejemplo más claro lo especifica la investigación realizada por Rojas *et al.* (2011), en el cual la actividad antimicrobiana de la ruda como aceite obtenidos de diferentes zonas de una misma provincia, determinaron diferentes efectos de susceptibilidad antimicrobiana, de la misma manera la investigación realizada por Gebregiorgis y Mahamadail (2017) obtuvieron inhibiciones antimicrobianas de 13 mm y 14 mm del extracto con cloroformo y extracto metanólico de la ruda respectivamente.

Tabla 3. Sensibilidad antimicrobiana del aceite esencial en milímetros (mm) de ruda (*Ruta graveolens*) sobre la cepa *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC® 25904

Cepa	Concentraciones						Valor de P
	10%	20%	30%	40%	50%	E. E	
<i>S. aureus</i>	1,00 ^f	1,00 ^f	5,75 ^e	8,25 ^{de}	11,00 ^d	0,86	<0,001
<i>S. aureus</i>	60%	70%	80%	90%	100%	E. E	Valor de P
	15,50 ^c	17,25 ^c	20,50 ^b	25, 25 ^a	21,00 ^b	0,86	<0,001

abcedef= Medias con una letra común entre columnas no son significativamente diferentes, E.E error estándar.

Conclusiones

El aceite esencial de *Ruta graveolens* conocida como ruda, evidenció una eficacia antimicrobiana en altas concentraciones *in vitro* sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC® 25904, así es que la concentración mínima inhibitoria (CMI) se estableció al 30% y la concentración al 40% se la determinó como la concentración mínima bactericida (CMB), correspondiente a la mínima concentración del aceite en producir la muerte del 99,9% de bacterias en placa.

La sensibilidad antimicrobiana de la cepa *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC® 25904 al aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*) demostró importantes halos de inhibición en concentraciones altas comprendidas entre el 30% al 100%, determinando así que el 90% de concentración del aceite se comportó como el mejor tratamiento al formar halos de 25,25 mm, así como la elevada sensibilidad de la cepa de *Staphylococcus aureus* subesp *aureus* ATCC® 25 904 ante el aceite esencial de ruda (*Ruta graveolens*).

Referencias Bibliográficas

- Al-Shuneigat, J. M., Al-Tarawneh, I. N., Al-Qudah, M. A., Al-Sarayreh, S.A., Al-Saireh, Y. M. y Alsharafa, K. Y. (2015). The chemical composition and the antibacterial properties of *Ruta graveolens* L. Essential Oil Grown in Northern Jordan. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 8(2), 139–143. <https://doi.org/10.12816/0027560>
- Amabye, T. G. y Shalkh, T.M. (2015). Phytochemical Screening and Evaluation of Antibacterial Activity of *Ruta graveolens* L. - A Medicinal Plant Grown around Mekelle, Tigray, Ethiopia. *Natural Products Chemistry y Research*. 03(06): 1-4. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000195>
- Azalework, H.G., Sahabjada, Jafri. A., Arshad, M.D. y Malik, T. (2017). Phytochemical Investigation, Gc-MS Profile and Antimicrobial Activity of a Medicinal Plant *Ruta Graveolens* L. From Ethiopia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 9(6): 29–34. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2017v9i6.16812>
- Cerutti, M. y Neumayer, F. (2004). Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. *Invenio*. 7(12): 149–155. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=87701214>
- Chافتar, N., Girardot, M., Labanowski, J., Ghrairi, T., Hani, K., Frere, J. y Imbert, C. (2015). Comparative evaluation of the antimicrobial activity of 19 essential oils. En Donelli, G. (eds), *Advances in Microbiology, Infectious Diseases and Public Health. Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 901, pp. 1-15). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/5584_2015_5011
- Cockerill, F., Wikler, M., Alder, J., Dudley, M., Eliopoulos, G., Ferraro, M., Hardy, D., Hecht, D., Hindler, J., Jetel, D., Powell, M., Swenson, J., Thomson, R., Traczewski, M., Turnidge, J., Weinstein, M. y Zimmer, B. (2012). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard*.
- Conway, G. y Slocumb, J. (1979). Plants used as abortifacients and emmenagogues by Spanish New Mexicans. *Journal of Ethnopharmacology*. 1(3): 241–261. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(79\)80014-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(79)80014-8)
- Delgadillo, L., Bañuelos, R., Delgadillo, O., Silva, M. y Gallegos, P. (2017). Composición química y efecto antibacteriano *in vitro* de extractos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisia ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Nova Scientia*, 9(19): 273. <https://doi.org/10.21640/ns.v9i19.1019>
- Elansary, H., Szopa, A., Kubica, P., Ekiert, H., El-Ansary, D., Al-Mana, F. y Mahmoud, E. (2020). Polyphenol content and biological activities of *Ruta graveolens* L. and *Artemisia abrotanum* L. in northern Saudi Arabia. *Processes*. 8(5): 1–18. <https://doi.org/10.3390/PR8050531>
- Ferhat, M., Kabouche, A. y Kabouche, Z. (2014). Comparative compositions of essential oils of three *Ruta* species growing in different soils. *Journal of Materials and Environmental Science*. 5(3): 735–738. bit.ly/3TDgGyX
- Franca, J. y Nascimento, A. (2015). Composition and antibacterial activity of *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) volatile oils, from São Luís, Maranhão, Brazil. *South African Journal of Botany*. 99: 103–106. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.03.198>
- Fredj, M., Marzouk, B., Chraief, I., Boukef, K. y Marzouk, Z. (2007). Analysis of Tunisian *Ruta graveolens* L. oils from Jemmel. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 5(1): 52–55. bit.ly/47xMMSw
- Gallegos, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de La Facultad de Medicina*. 77(4): 327. <https://doi.org/10.15381/anales.v77i4.12647>
- García-Luján Concepción. (2006). *Actividad antibacteriana de extractos vegetales en cepas hospitalarias de Staphylococcus aureus con resistencia múltiple*. [Tesis de doctorado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. bit.ly/3XQB0zz
- Haddouchi, F., Chaouche, T., Zaouali, Y., Ksouri, R., Attou, A. y Benmansour, A. (2013). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. *Food Chemistry*. 141(1): 253–258. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.03.007>

- Hafezian, M., Asgarpanah, J. y Rahimifard, N. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from the endemic species *pyncocyla bashagardiana* Mozaff. *Latin American Journal of Pharmacy*. 35(7): 1634–1639. http://www.latamjpharm.org/resumenes/35/7/LAJOP_35_7_1_20.pdf
- Jeyachandran, S., Oyyappan, D. y Baskaralingam, V. (2014). Discrete Nanoparticles of *Ruta Graveolens* Induces the Bacterial and Fungal Biofilm Inhibition. *Cell Communication & Adhesion*. 21: 229–238. <https://doi.org/10.3109/15419061.2014.926476>
- López-Rivera, R., Espinosa-Andrews, H., García-Márquez, E. y Herrera-Rodríguez, S. (2018). Efecto antifúngico de emulsiones a base de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia graveolens*), contra *Candida albicans*. *Revista Salud Jalisco*. 1: 42–45. <http://www.medigraphic.com/pdfs/saljalisco/sj-2018/sj181g.pdf>
- Martínez, Y. y Gómez, L. (2013). Social impact of an intervention strategy for the rational prescription of natural medicines implemented in Céspedes during 2011. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 18(4): 609–618. <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n4/pla12413.pdf>
- Mejri, J., Abderrabba, M. y Mejri, M. (2010). Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L: Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts. *Industrial Crops and Products*. 32(3): 671–673. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.05.002>
- Ojala, T., Remes, S., Haansuu, P., Vuorela, H., Hiltunen, R., Hahtela, K. y Vuorela, P. (2000). Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*. 73: 299–305. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00279-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00279-8)
- Pino-Pérez, O., Rojas-Fernández, M., Sánchez-Pérez, Y. y Espinosa-Castaño, I. (2018). Actividad antibacteriana de aceites esenciales obtenidos de plantas de origen cubano sobre *Streptococcus suis*. *Revista de Salud Animal*. 40(3): 1–5. <http://scielo.sld.cu/pdf/rsv/v40n3/2224-4700-rsa-40-03-e03.pdf>
- Pino, O., Sánchez, Y., Roja, M., Abreu, Y., Correa, T., Martínez, D. y Montes de Oca, R. (2014). Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Ruta Chalepensis* L. *Rev. Protección Veg.* 29(3): 220–225. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v29n3/rpv11314.pdf>
- Reddy, D. y Al-Rajab, A. (2016). Chemical composition , antibacterial and antifungal activities of *Ruta graveolens* L volatile oils. *Cogent Chemistry*. 2: 1–11. <https://doi.org/10.1080/23312009.2016.1220055>
- Ríos, A., Barquero, M., Ortiz, G., Ayllón, T., Smit, L., Rodríguez-Dominguez, M. y Sánchez-Días, A. (2015). *Staphylococcus* multirresistentes a los antibióticos y su importancia en medicina veterinaria. *Clin.Vet. Peq. Anima*. 35(3): 149–161. <https://www.clinvetpeqanim.com/img/pdf/223473834.pdf>
- Rodrigues, J., Melo, M. y Lima, E. (2008). In vitro antimicrobial activity of plants in Acute Otitis Externa. *Rev.Bras Otorrinolaringol*. 74(1): 118–124. [https://doi.org/10.1016/S1808-8694\(15\)30761-8](https://doi.org/10.1016/S1808-8694(15)30761-8)
- Rojas, J., Mender, T., Rojas, L., Gullien, E., Buitrago, A., Lucena, M. y Cárdenas, N. (2011). Estudio comparativo de la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ruta graveolens* L. recolectada en los estados Mérida y Miranda, Venezuela. *Avances En Química*. 6(3): 89–93. <https://www.redalyc.org/pdf/933/93321324005.pdf>
- Torrenegra-Alarcón, M., Granados-Conde, C., Durán-Lengua, M., León-Méndez, G., Yáñez-Rueda, X., Martínez, C. y Pájaro-Castro, N. (2016). Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *Orinoquia*. 20(1): 69–74. <https://www.redalyc.org/pdf/896/89647074008.pdf>
- Valles, M., Alvarado, P., Rodríguez, I., Saldaña, W., Reyes, W. y Vargas, A. (2014). Efecto del aceite esencial de *Origanum vulgare* en la supervivencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella thypi*, *Salmonella paratyphi* y *Salmonella enteritidis* en carne de cerdo pasteurizada y refrigerada. *Revista Rebiol*, 34(1): 57–68. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/faccebciol/article/view/589/551>
- Véliz-Jaime, M., González-Díaz, Y. y Martínez-Despaigne, Y. (2019). Technical and economic evaluation of the project to obtain essential oils. *Tecnología Química*. 39(1): 207–220. <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v39n1/2224-6185-rtq-39-01-207.pdf>
- Zekry, E., Mahmoud, R., El-Baky, A., Yehia, S., Abd, M., Hakeem, E., Mohamed, M. y Salah, M. (2018). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils of *Ruta graveolens* plants treated with salicylic acid under drought stress conditions. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 4(2): 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.fjps.2018.09.001>

