

Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. frente a *Enterococcus faecalis*

Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Origanum vulgare* L. against *Enterococcus faecalis*

Marco Antonio Sánchez-Tito ¹ , Milder Raquel Layme-Huanca ² 

RESUMEN

Introducción: Las infecciones recurrentes en el sistema de conductos radiculares son atribuidas principalmente a la presencia de especies como *Enterococcus faecalis*, lo que hace necesario el estudio de sustancias alternativas al hipoclorito de sodio que puedan ser empleadas como irrigantes de los conductos y mejorar la tasa de éxito de tratamiento.

Objetivo: Identificar la composición química del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. (orégano) y evaluar su actividad antibacteriana frente a *E. Faecalis* ATCC 29212.

Métodos: Se diseñó un estudio experimental in vitro. El *Origanum vulgare* L. se recolectó en la provincia de Tarata, Tacna, Perú. El aceite esencial se obtuvo por método de arrastre de vapor y una muestra fue sometida a cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en un equipo cromatográfico QP2010 (Ultra Shimadzu) equipado con una columna DB-5 MS para identificar sus constituyentes. La actividad antibacteriana del aceite esencial se evaluó a través del método de difusión de disco en agar cerebro-corazón con concentraciones desde 2,261 a 27,132 mg/μL. El cálculo de las repeticiones se realizó con el programa Epi infoTM. Adicionalmente, se identificó la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida del aceite esencial. Se realizó el análisis descriptivo de los datos y se aplicó la prueba ANOVA de un factor para comparar los valores medios de los halos de inhibición de las distintas concentraciones. Se adoptó un nivel de significancia de $p < 0,05$.

Resultados: Se identificaron 20 constituyentes, siendo los principales compuestos α -pinene (24,44 %) y 1,6-Octatien-3-ol,3,7,7dimethyl (12,52 %). *E. Faecalis* fue muy sensible (++) y extremadamente sensible (+++) a concentraciones mayores a 15,827 mg/μL del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. Todas las concentraciones inhibieron el crecimiento bacteriano, mientras que las concentraciones mayores de 14,018 mg/μL fueron bactericidas.

Conclusiones: Los principales constituyentes del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. fueron α -Pinene y Cis- β -Terpineol. Además, se demostró un importante efecto antibacteriano frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Palabras clave: *Origanum vulgare*; aceite de plantas; agentes antibacterianos; *Enterococcus faecalis*.

ABSTRACT

Introduction: Recurrent infections in the root canal system are mainly attributed to the presence of species such as *Enterococcus faecalis*. It is therefore necessary to study substances other than sodium hypochlorite which may be used as irrigants for the canals, thus improving the success rate of the treatment.

Objective: Identify the chemical composition of essential oil from *Origanum vulgare* L. (oregano) and evaluate its antibacterial activity against *E. faecalis* ATCC 29212.

Methods: An in vitro experimental study was conducted. *Origanum vulgare* L. was collected from the province of Tarata, Tacna, Peru. The essential oil was obtained by steam entrainment, and a sample was subjected to gas chromatography / mass spectrometry in a QP2010 chromatograph (Ultra Shimadzu) equipped with a DB-5 MS column to identify its constituents. Antibacterial activity of the essential oil was evaluated by the brain heart agar disk diffusion method at concentrations ranging from 2 261 to 27 132 mg/μL. The software Epi InfoTM was used to estimate the repetitions. Additionally, identification was performed of the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration of the essential oil. The data were subjected to descriptive analysis and one-factor ANOVA was performed to compare the mean values of inhibition haloes at the different concentrations. A significance level of $p < 0.05$ was established.

Results: Twenty constituents were identified. The main compounds were α -pinene (24.44%) and 1,6-Octatien-3-ol,3,7,7dimethyl (12.52%). *E. Faecalis* was very sensitive (++) and extremely sensitive (+++) to concentrations above 15 827 mg/μL of the essential oil of *Origanum vulgare* L. All the concentrations inhibited bacterial growth, and concentrations above 14 018 mg/μL were bactericidal.

Conclusions: The main constituents of the essential oil of *Origanum vulgare* L. were α -pinene and cis- β -terpineol. Additionally, the essential oil was shown to display considerable antibacterial activity against *Enterococcus faecalis* ATCC 29212.

Key words: *Origanum vulgare*, plant oil, antibacterial agents, *Enterococcus faecalis*.

Recibido: 23/06/2020
Aceptado: 28/08/2020

¹ Universidad Privada de Tacna, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Odontología. Tacna, Perú.

² Práctica privada. Tacna, Perú.

INTRODUCCIÓN

La pérdida del equilibrio de las diferentes condiciones fisicoquímicas, nutricionales y ambientales de la cavidad bucal favorecen la aparición de microsistemas bacterianos.⁽¹⁾ La dinámica de la infección de los conductos radiculares constituye un ambiente especial en el cual los mecanismos selectivos ocurren y ciertas bacterias sobreviven y se multiplican con más facilidad.⁽²⁾ El *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) es considerado el microorganismo más resistente que sobrevive después de los tratamientos de los conductos radiculares. También es la principal bacteria asociada a las lesiones perirradiculares persistentes, pues resiste a las sustancias irrigadoras y medicamentos intracanales; con una prevalencia del 80-90 % en estos casos.⁽³⁾ *E. faecalis* es un anaerobio facultativo, que tiene la capacidad de adherirse a la dentina e invadir los túbulos dentinarios siendo capaz de formar una biopelícula resistente a las soluciones de irrigación, así como a los medicamentos intracanales.⁽²⁾

La medicina tradicional a base plantas medicinales se ha convertido en una alternativa terapéutica con gran potencial para el desarrollo de nuevos fármacos y productos capaces de controlar procesos infecciosos, inclusive en el campo de la odontología.⁽⁴⁾ Por mostrar estas propiedades, diversas plantas, tanto las originarias como las de uso cotidiano, han sido propuestas como tratamiento. El *Origanum vulgare* L. pertenece a la familia Lamiaceae y es cosechada a gran escala en la región sur del Perú. Este es uno de los productos con mayor valor de exportación, principalmente por su uso culinario, aunque tradicionalmente sus hojas han sido empleadas por sus propiedades diuréticas, antiespasmódicas y antisépticas.⁽⁵⁾ Subproductos como los aceites esenciales (AE) han demostrado poseer una gran actividad antibacteriana frente a diversos grupos bacterianos. Los AE constituyen mezclas complejas compuestas por monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides y derivados; y sus constituyentes dependen de diversos factores como el origen de la planta, las condiciones climáticas y los métodos de extracción.⁽⁶⁾ El AE del *Origanum vulgare* L. ha demostrado poseer actividad importante contra bacterias gram negativas como *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, y gram positivas como *Staphylococcus epidermidis* y *Propionibacterium acnes*.^(7,8) Estas propiedades se atribuyen a los diversos componentes aislados del AE como los fenoles, ácidos fenólicos, flavonoides carvacrol y timol.⁽⁹⁾

El uso de derivados fitoquímicos de plantas ha sido propuesto para el manejo de las infecciones de orden endodóntico. Así, por ejemplo, Prabhakar y otros⁽¹⁰⁾ demostraron que el uso de derivados de Triphala y polifenoles de té verde presentaron efectos positivos, aunque menores para el control de *biofilm* de *E. Faecalis* formado en substrato dentario (halos de inhibición de 24 mm y 22 mm) al compararlo con hipoclorito de sodio al 5 % (NaOCl) (36 mm). Mathew y otros⁽¹¹⁾ indicaron el efecto antimicrobiano de un extracto herbal experimental a base de *Syzium aromaticum*, *Eucalyptus globulus*, *Cinnamomum zeylanicum* y *Mentha piperita* como irrigante endodóntico similar al NaOCl al 5,25 %, pero menor a la clorhexidina al 2 % (halos de inhibición de 9 mm, 8 mm y 14 mm). Datos similares fueron reportados por Benbelaid y otros,⁽¹²⁾ para el control de *biofilm* radicular de *E. Faecalis* y *Candida albicans* empleando una solución irrigadora a base de AE de *cinnamomum cassia* al 1,25%.

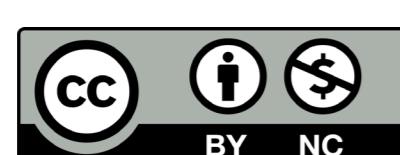
Borzini y otros⁽⁵⁾ realizaron una revisión de la literatura publicada entre 1982 y 2015, exponiendo que la fitoterapia como quimioterapéutico para el uso de irrigantes de conductos radiculares han demostrado un resultado promisorio en estudios *in vitro*. Recientemente, Tiwari y otros,⁽¹³⁾ manifestaron que el uso sinérgico del AE de *Origanum vulgare* e hidróxido de calcio frente a *E. Faecalis* en un modelo *in vitro* fue efectivo como medicamento intracanal al compararlo con pasta triple antibiótica (halos de inhibición de 25,0 mm y 27,4 mm).

Estos estudios denotan el interés por el empleo de compuestos químicos derivados de productos naturales, como las plantas aromáticas, que permitan el control bacteriano de diversas especies. Se sabe que la actividad antibacteriana del AE de *Origanum vulgare* L. y de sus principales constituyentes está relacionada con la interferencia del gradiente de pH del medio e inhibe la actividad de la ATPasa frente al patógeno (*E. Faecalis*), lo que disminuye su producción energética celular, además, altera la actividad de los canales de calcio a nivel de su membrana celular, aumentando su permeabilidad y, consecuentemente, contribuyendo a su lisis celular.^(14,15)

Entonces, el objetivo del presente estudio fue identificar la composición química *Origanum vulgare* L. (orégano) y evaluar su actividad antibacteriana frente a *E. faecalis* ATCC 29212.

MÉTODOS

Se llevó a cabo una investigación de tipo experimental *in vitro*, prospectiva, de corte transversal y analítica. La muestra requerida para este estudio fue calculada empleando el programa Epi info™ al comparar las medias de estudios previos, el número mínimo de repeticiones fue ocho para el ensayo de difusión de disco. Este estudio fue aprobado por la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Privada de Tacna (registro No. 560-2019-UPT/FACSA-D).



Obtención de los aceites esenciales

Se recolectaron 2 kg de plantas frescas de orégano en la provincia de Tarata de la región de Tacna, Perú, durante el mes de enero de 2019. Las muestras fueron identificadas taxonómicamente como *Origanum vulgare* L. en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann bajo el registro No. 5278. Las hojas fueron desecadas a temperatura ambiente antes de su uso. La obtención del AE se realizó en un aparato de destilación tipo Soxhlet por arrastre de vapor de agua durante dos horas. La concentración del AE obtenido a partir de *Origanum vulgare* L. se determinó a través del cálculo de la densidad. El AE fue almacenado en un vial ámbar y refrigerado a 4 °C hasta su uso.

Caracterización química del aceite esencial

La identificación de los componentes químicos del AE se realizó con el método de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG-EM), empleando un cromatógrafo QP2010 Ultra Shimadzu equipado con una columna DB-5 MS. Se empleó helio como gas de carga con un flujo constante de 1 mL/min, el volumen de inyección del AE fue de 1,0 µL diluido al 5 % en diclorometano a un ratio de 1:75. Los componentes químicos se identificaron a través del índice de retención y el espectro de masas se reflejó por el número de picos registrados en el cromatograma al compararlos con la librería NIST 08.

Difusión de disco para la actividad antibacteriana del aceite esencial

Se empleó la cepa de *E. faecalis* ATCC 29212 correspondiente a la American Type Culture Collection, que fue reactivada en Agar cerebro-corazón (BHA, Liofilchem®, Italia) e incubada por 24 horas a 37 °C. Posteriormente se realizó una tinción gram para la identificación morfológica del cultivo, enseguida cinco colonias fueron transferidas a un tubo de ensayo conteniendo 5 mL de medio cerebro-corazón (BHI, Liofilchem®, Italia) que fue incubado por 7 horas a 37 °C, hasta alcanzar el crecimiento logarítmico de la cepa. El crecimiento bacteriano se ajustó a la escala McFarland de 0,5 equivalente a una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL y 200 µL fueron transferidos a placas Petri con Agar Müller Hinton (Detroit, Michigan, EE. UU.). Se calcularon distintos volúmenes del AE desde 2,5 µL hasta 30 µL; las respectivas concentraciones se muestran en la tabla 1.

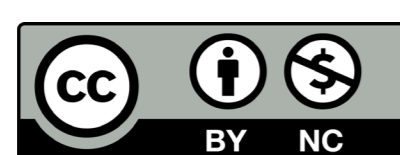
Tabla 1 - Volúmenes y concentraciones del aceite esencial de *Origanum vulgare* L.

No.	Volumen (µL)	Concentración (mg/µL)
1	2,5	2,261
2	5,0	4,522
3	7,5	6,783
4	10,0	9,044
5	12,5	11,305
6	15,5	13,566
7	17,5	15,827
8	20,0	18,088
9	22,5	20,349
10	25,0	22,610
11	27,5	24,871
12	30,0	27,132

Se emplearon 8 discos de papel Whatman No. 3 de 6 mm de diámetro cargados con cada uno de los volúmenes del AE. Se empleó clorhexidina al 0,12 % y agua destilada como control positivo y negativo, respectivamente. Los discos fueron colocados sobre las placas inoculadas con la cepa de *E. faecalis* y fueron incubados por 48 h a 37 °C en condiciones de microaerofilia. Por último, las zonas de inhibición de crecimiento bacteriano fueron medidas en milímetros con un compás Vernier digital (Ubermann®). Para evaluar la sensibilidad se empleó las pautas resumidas de Duraffourd y Lapraz,⁽¹⁶⁾ valores de halos de inhibición menores de 8 mm son considerados como: sin sensibilidad (-); entre 9-14 mm, sensible (+); de 15-19 mm, muy sensible (++); y mayores que 20 mm, sumamente sensible (+++).

Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó a partir de las concentraciones en las que se observaron halos de inhibición considerados como muy sensibles, empleando el método de dilución en tubo. Se preparó una solución madre de 20 mL conteniendo 1 mL de aceite esencial y 1 mL de dimetilsulfoxido al 10 %. A cada tubo conteniendo como medio cerebro-corazón (BHI) se le agregó solución madre y 100 µL de un inóculo



de *E. faecalis* ajustado a la escala 0,5 de McFarland, calculando las concentraciones para un volumen final de 3 mL por tubo. Los tubos fueron incubados por 24 h a 37 °C. La CMI se determinó como la mínima concentración en donde se observó la ausencia de turbidez en los tubos. Para evaluar la concentración mínima bactericida (CMB) se realizaron subcultivos en Agar Müller Hinton de alícuotas de 10 µL de las diluciones correspondientes a la CMI y las dos anteriores. Las placas Petri fueron incubadas por 24 h a 37 °C. La CMB se consideró como la menor concentración de las diluciones de los aceites esenciales que impidió el crecimiento visible de unidades formadoras de colonia (UFC/mL).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados descriptivamente para evaluar el comportamiento de la media y la desviación estándar. Adicionalmente, los datos correspondientes a los halos de inhibición fueron sometidos a la prueba de análisis de la varianza (ANOVA) empleando el software SPSS v.22.0 para Mac Os (SPSS Inc., Chicago Illinois). Se adoptó un nivel de significancia de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Se obtuvieron 10 mL de AE, lo que representó un rendimiento de 0,5 % (v/p) con una densidad de 904,4 mg/mL. La CG-EM identificó 20 constituyentes del AE de *Origanum vulgare* L. De ellos, los principales compuestos fueron alpha.-pinene (24,44 %) y 1,6-Ocatien-3-ol,3,7,7dimethyl (12,52 %). El porcentaje del resto de compuestos y los tiempos de retención se presentan en la tabla 2.

Tabla 2 - Composición química del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. por método de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Pico	Compuesto	Área %	Tiempo de retención (min)
1	.beta. Myrcene	5,53	8,487
2	(+)-4-Carene	10,6	9,250
3	Benzene,1-methyl-4-(1-methyl	6,21	9,414
4	1S-.alpha.-Pinene	1,78	9,861
5	.alpha.-Pinene	24,44	10,221
6	Cis-.beta.-Terpineol	4,82	10,478
7	Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene,3,7,7	3,83	10,826
8	1,6-Octadien-3-ol,3,7-dimethy	1,6	11,067
9	Cis-.beta.-Terpineol	13,37	11,178
10	2-Cyclohexen-1-ol,1-methyl-4	1,63	11,667
11	Terpineol,cis.-beta.-	0,58	12,025
12	Benzene,2-methoxy-4-methyl-	1,26	13,601
13	1,6-Ocatien-3-ol,3,7dimethy	12,52	13,904
14	Thymol	5,34	14,661
15	Benzenemethanol,4-(1-methyl	0,58	14,809
16	1,3,6-Heptatriene,2,5,6.trimet	0,49	15,451
17	2,6-Ocatiend-1-ol,3,7-dimethy	0,2	15,946
18	Caryophyllene	3,68	16,893
19	.alpha.-Caryophyllene	0,39	17,409
20	1,3,6-Heptatriene,2,5,6-trimet	1,14	17,955

Las medias de los halos de inhibición presentados por las distintas concentraciones del AE *Origanum vulgare* L. frente a *E. Faecalis* se resumen en la tabla 3. Los resultados mostraron que existieron diferencias estadísticamente significativas entre todas las concentraciones de *Origanum vulgare* L. probadas ($p = 0,000$). Las concentraciones mayores de 13,566 mg/µL fueron muy sensibles según la escala de Durafford y Lapraz con halos de inhibición entre $13,093 \pm 0,844$ y $21,611 \pm 4,299$ mm.

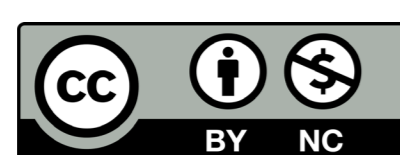


Tabla 3 - Halos de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. frente a *E. Faecalis*

Agente	Volumen	Concentración mg/ μ L	n	Media	DE	Valor p
Aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> L.	2,5	2,261	8	7,956	1,256	0,000
	5,0	4,522	8	10,475	1,100	
	7,5	6,783	8	11,568	1,034	
	10,0	9,044	8	12,085	0,470	
	12,5	11,305	8	12,621	0,862	
	15,0	13,566	8	13,093	0,844	
	17,5	15,827	8	15,170	0,572	
	20,0	18,088	8	15,953	1,313	
	22,5	20,349	8	17,593	1,556	
	25,0	22,61	8	17,319	1,507	
	27,5	24,871	8	19,264	1,486	
	30,0	27,132	8	21,611	4,299	
Clorhexidina	20,0	0,12%	8	19,345	1,345	
Agua destilada	20,0	-	8	0,00	0,00	

En la tabla 4 se presentan la CMI y CMB del AE de *Origanum vulgare* L. frente a *E. faecalis*. Todas las concentraciones inhibieron el crecimiento bacteriano, mientras que las concentraciones mayores de 14,018 mg/ μ L fueron bactericidas (Fig. 1).

Tabla 4 - Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida expresada en unidades formadoras de colonias (UFC) del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. frente a *E. Faecalis*

No.	Concentración (mg/ μ L)	CMI	CMB (UFC)
1	15,827	Negativo	0
2	15,600	Negativo	0
3	15,374	Negativo	0
4	15,148	Negativo	0
5	14,922	Negativo	0
6	14,692	Negativo	0
7	14,470	Negativo	0
8	14,244	Negativo	0
9	14,018	Negativo	0
10	13,792	Negativo	2
11	13,566	Negativo	4

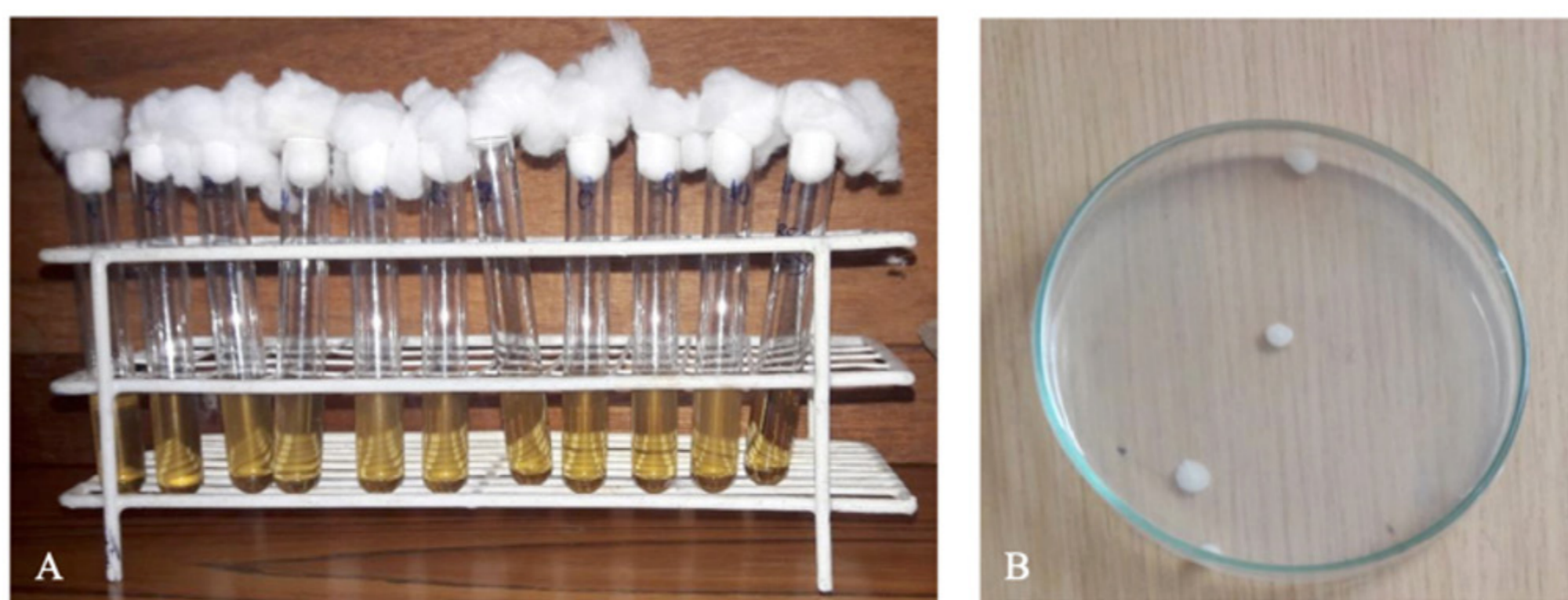
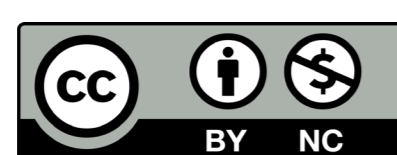


Fig. 1 - A. Detalle del método de dilución en tubo para hallar la concentración mínima inhibitoria | B. Unidades formadoras de colonia (UFC) para la concentración de 13,566 mg/ μ L de aceite esencial de *Origanum vulgare* L. frente a *E. Faecalis*.

DISCUSIÓN

En los últimos años existe un gran interés en investigar las propiedades biológicas de los productos naturales. Estudios recientes se han centrado en los beneficios de los aceites esenciales debido a sus comprobados efectos antimicrobianos frente a diversos agentes patógenos.^(7,8,17) En nuestro estudio, los principales compuestos aislados del AE fueron terpenos, entre ellos, .alpha.-Pinene (24,44 %), Cis-.beta.-Terpineol (13,37 %) y 1,6-Ocatien-3-ol,3,7dimethyl (12,52 %). Estos resultados difieren de los de Cleff y otros,⁽¹⁸⁾ para quienes 4-terpineol (47,95 %), carvacrol (9,44 %) y timol (8,42 %) fueron los compuestos más representativos. Coccimiglio y



otros,⁽⁹⁾ encontraron como principales componentes del AE de *Origanum vulgare* recolectado en Kynouria (Peloponeso) analizado por CG-EM, carvacrol (59,46 %) y timol (25,00 %). Asimismo, en una muestra analizada de *Origanum vulgare* oriunda de Arabia Saudita se detectaron 153 constituyentes a través de CG-EM y detección de ionización de flama en las hojas y tallos de esta planta, el timol fue el mayor compuesto encontrado (68,7 %).⁽¹⁹⁾ Estas diferencias pueden estar suscitadas por factores como el origen de cosecha de la planta, la temporalidad, las condiciones ambientales y los métodos de extracción y análisis químico.⁽⁵⁾

Respecto al uso del AE de *Origanum vulgare* y sus principales constituyentes en el campo de la odontología, Nosrat y otros,⁽¹⁴⁾ demostraron que el uso de carvacrol al 0,6 %, uno de los principales constituyentes de *Origanum vulgare*, como un irrigante radicular tuvo un efecto positivo sobre la desinfección de conductos radiculares, específicamente sobre *E. Faecalis*, y que, además, posee propiedades antiinflamatorias, por cuanto restringe la enzima elastasa neutrofílica y suprime la producción de prostaglandinas que contribuyen al desarrollo de la inflamación. Respecto a la citotoxicidad, el reporte de Ok y otros,⁽²⁰⁾ señaló que el extracto de orégano en concentraciones de 0,5-4,5 % mostró menor citotoxicidad que el NaOCl al 5,25 %; estos resultados podrían respaldar su uso como alternativa a la irrigación de conductos radiculares con NaOCl.

Nuestros resultados demostraron que el AE de *Origanum vulgare* L. presenta una importante actividad antibacteriana frente a *E. Faecalis* ATCC 29212. En concentraciones desde 2,261-27,132 mg/ μ L genera halos de inhibición de 7,956-21,611 mm, considerándose entre muy sensible (++) y sumamente sensible (+++). Este efecto puede ser atribuido a los principales constituyentes encontrados en el AE, entre ellos, .alpha.-Pinene (24,44 %), Cis-.beta.-Terpineol (13,37 %) y 1,6-Ocatien-3-ol,3,7dimethyl (12,52 %). No fue objetivo del presente estudio aislar los componentes del AE de *Origanum vulgare* L. sino evaluar su sinergismo. Sin embargo, es necesario realizar futuros procedimientos de fraccionamiento del AE para poder aislar cada uno de los constituyentes y evaluar sus propiedades antibacterianas.

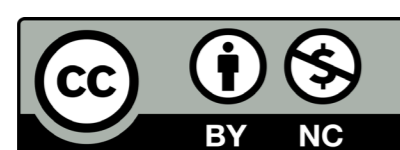
Algunos estudios han sugerido que la actividad antibacteriana de los terpenoides, que fueron los principales constituyentes del AE estudiado, está relacionada con el efecto que poseen estos sobre la estructura de la membrana celular bacteriana, ya que bloquean la actividad de los canales de calcio y disminuyen la producción energética y de síntesis estructural de la membrana de las bacterias.^(14,15) Tiwari y otros⁽¹³⁾ expusieron que la asociación entre el AE de *Origanum vulgare* y el hidróxido de calcio generó zonas de inhibición sobre Agar Müller Hinton de $25,0 \pm 1,0$ mm, mientras que una pasta triple de antibióticos (ciprofloxacino + metronidazol + mycociquina) produjo zonas de inhibición $27,4 \pm 4,1,5$ mm frente a *E. Faecalis*. Sus resultados sugieren que la combinación entre el AE de *Origanum vulgare* y el hidróxido de calcio pueden ser usados como una alternativa a los medicamentos intracanales convencionales. En otro estudio realizado por Benbelaïd y otros,⁽²¹⁾ el efecto del AE la variedad *Origanum vulgare glandulosum* sobre diversas cepas de *E. Faecalis*, encontrando halos de inhibición de 28 ± 1 mm.

En cuanto a la CMI, nuestros resultados demostraron que concentraciones mayores a 13,566 μ g/mL inhibieron el crecimiento de *E. Faecalis*. Benbelaïd y otros⁽²¹⁾ encontraron una concentración mínima inhibitoria de 0,063 μ g/mL del AE de *Origanum vulgare glandulosum* frente a *E. faecalis*. En nuestro estudio se realizaron diluciones con concentraciones de 15,827-13,566 μ g/mL, siendo en todos los casos negativo. Estos datos sugieren que es posible conseguir concentraciones inhibitorias mínimas con diluciones menores del AE de *Origanum vulgare* L. proveniente de la región Tacna, aunque aún son necesarios ensayos adicionales.

En conclusión, y considerando las limitaciones del estudio in vitro, los resultados mostraron que los principales constituyentes del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. proveniente de la región Tacna, en Perú, fueron .alpha.-Pinene y Cis-.beta.-Terpineol. También se demostró un importante efecto antibacteriano de *Origanum vulgare* L. frente a una cepa de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Son necesarios estudios adicionales para evaluar la citotoxicidad del aceite esencial, las propiedades biológicas de los constituyentes aislados del aceite esencial, la formulación de posibles productos derivados y el estudio de sus propiedades en modelos in vivo, considerando su potencial uso en infecciones endodónticas persistentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lamont JR, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(12):745-759. DOI: [10.1038/s41579-0180089-x](https://doi.org/10.1038/s41579-0180089-x)
- Neelakantan P, Romero M, Vera J, Daoud U, Khan AU, Yan A, et al. Biofilms in Endodontics-Current Status and Future Directions. *Int J Mol Sci.* 2017;18(8):1748. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18081748>
- Nishio AW, Melling G, Cuveillier C, Natarajan M, Roberts JL, Marsh LL, et al. *Enterococcus faecalis* Demonstrates Pathogenicity through Increased Attachment in an Ex Vivo Polymicrobial Pulpal Infection. *Infect Immun.* 2018;86(5):e00871-17. DOI: [10.1128/IAI.00871-17](https://doi.org/10.1128/IAI.00871-17)
- Borzini L, Condò R, De Dominicis P, Casaglia A, Cerroni L. Root Canal Irrigation: Chemical Agents and Plant Extracts Against *Enterococcus faecalis*. *Open Dent J.* 2016;10:692-703. DOI: [10.2174/1874210601610010692](https://doi.org/10.2174/1874210601610010692)
- Jan S, Rashid M, Abd Allah EF, Ahmad P. Biological Efficacy of Essential Oils and Plant Extracts of Cultivated and Wild Ecotypes of *Origanum vulgare* L. *Biomed Res Int.* 2020;8751718. DOI: [10.1155/2020/8751718](https://doi.org/10.1155/2020/8751718)
- El Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Ait Addi EHA, Casablanca H, et al. Essential oils: from extraction to encapsulation. *Int J Pharm.* 2015;483(1-2):220-43. DOI: [10.1016/j.ijpharm.2014.12.069](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069)
- Fournomiti M, Kimbaris A, Mantzourani I, Plessas S, Theodoridou I, Papaemmanouil V, et al. Antimicrobial activity of essential oils of cultivated oregano (*Origanum vulgare*), sage (*Salvia officinalis*), and thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Ecol Health Dis.*



2015;26:23289. DOI: [10.3402/mehd.v26.23289](https://doi.org/10.3402/mehd.v26.23289)

8. Taleb MH, Abdeltawab NF, Shamma RN, Abdelgayed SS, Mohamed SS, Farag MA, et al. *Origanum vulgare* L. Essential Oil as a Potential Anti-Acne Topical Nanoemulsion In Vitro and In Vivo Study. *Molecules*. 2018;23(9):2164. DOI: [10.3390/molecules23092164](https://doi.org/10.3390/molecules23092164)

9. Coccimiglio J, Alipour M, Jiang ZH, Gottardo C, Suntres Z. Antioxidant, Antibacterial, and Cytotoxic Activities of the Ethanolic *Origanum vulgare* Extract and Its Major Constituents. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;1404505. DOI: [10.1155/2016/1404505](https://doi.org/10.1155/2016/1404505)

10. Prabhakar J, Senthilkumar M, Priya MS, Mahalakshmi K, Sehgal PK, Sukumaran VG. Evaluation of antimicrobial efficacy of herbal alternatives (Triphala and green tea polyphenols), MTAD, and 5% sodium hypochlorite against *Enterococcus faecalis* biofilm formed on tooth substrate: an in vitro study. *J Endod*. 2010;36(1):83-6. DOI: [10.1016/j.joen.2009.09.040](https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.040)

11. Mathew J, Pathrose S, Kottoor J, Karaththodiyil R, Alani M, Mathew J. Evaluation of an Indigenously Prepared Herbal Extract (EndoPam) as an Antimicrobial Endodontic Irrigant: An Ex Vivo Study. *J Int Oral Health*. 2015;7(6):88-91. PMID: [26124607](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26124607/)

12. Benbelaid F, Khadir A, Bendahou M, Ben-Yelles I, Muselli A, Costa J. Eradication of *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* Biofilms by Cinnamomum cassia Essential Oil Solution as a Root Canal Irrigant. *Nat Prod J*. 2018;8(1):54-60. DOI: [10.2174/2210315507666170705121605](https://doi.org/10.2174/2210315507666170705121605)

13. Tiwari G, Patil Sudha, Bondarde P, Khadke S, Gakhare R. Antimicrobial efficacy of commercially available plant essential oils with calcium hydroxide as intracanal medicaments against *Enterococcus faecalis*: An in-vitro study. *Journal of Dental and Medical Sciences*. 2018;17(6):19-24. DOI: [10.9790/0853-1706031924](https://doi.org/10.9790/0853-1706031924)

14. Nosrat A, Bolhari B, Sharifian MR, Aligholi M, Mortazavi MS. The effect of Carvacrol on *Enterococcus faecalis* as a final irrigant. *Iran Endod J*. 2009;4(3):96-100. PMID: [PMC3758867](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC3758867/)

15. Trombetta D, Castelli F, Sarpietro MG, Venuti V, Cristani M, Daniele C, Saija A, Mazzanti G, Bisignano G. Mechanisms of Antibacterial action of three monoterpenes. *Antim Agents and Chemoth*. 2005;49(6):2474-2478. DOI: [10.1128/AAC.49.6.2474-2478.2005](https://doi.org/10.1128/AAC.49.6.2474-2478.2005)

16. Duraffourd C, Lapraz J. *Cuaderno de fitoterapia clínica*. Francia: Editorial Masson; 1983.

17. Condò C, Anacarso I, Sabia C, Iseppi R, Anfelli I, Forti L, et al. Antimicrobial activity of spices essential oils and its effectiveness on mature biofilms of human pathogens. *Nat Prod Res*. 2020;34(4):567-574. DOI: [10.1080/14786419.2018.1490904](https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1490904)

18. Cleff MB, Meinerz AR, Xavier M, Schuch LF, Schuch LF, Araújo Meireles MC, et al. In vitro activity of *origanum vulgare* essential oil against candida species. *Braz J Microbiol*. 2010;41(1):116-23. DOI: [10.1590/S1517-838220100001000018](https://doi.org/10.1590/S1517-838220100001000018)

19. Khan M, Khan ST, Khan M, Mousa AA, Mahmood A, Alkhathlan HZ. Chemical diversity in leaf and stem essential oils of *Origanum vulgare* L. and their effects on microbicidal activities. *AMB Express*. 2019;9(1):176. DOI: [10.1186/s13568-019-0893-3](https://doi.org/10.1186/s13568-019-0893-3)

20. Ok E, Adanir N, Hakki S. Comparison of cytotoxicity of various concentrations *origanum* extract solution with 2% chlorhexidine gluconate and 5.25% sodium hypochlorite. *Eur J Dent*. 2015;9(1):6-10. DOI: [10.4103/1305-7456.149630](https://doi.org/10.4103/1305-7456.149630)

21. Benbelaid F, Khadir A, Abdoune MA, Bendahou M, Muselli A, Costa J. Antimicrobial activity of some essential oils against oral multidrug-resistant *Enterococcus faecalis* in both planktonic and biofilm state. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014;4(6):463-72. DOI: [10.12980/APJTB.4.2014C1203](https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C1203)

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

