

# Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*.

Synergic effect of *Origanum vulgare* essential oil to Gentamicin on *Escherichia coli* isolates.

Luis Chávez Torres<sup>1</sup>, Flor de María Díaz Castañeda<sup>1</sup>, Gisela Escalante Rosadio<sup>1</sup>, Edgar Estrada Montañez<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Estudiante de Medicina Humana, Facultad de Medicina "Hipólito Unanue", Universidad Nacional Federico Villareal, Lima, Perú.

## RESUMEN

**Objetivo:** El presente trabajo tuvo como propósito determinar el efecto sinérgico antibacteriano entre el aceite esencial de *Origanum vulgare* y la Gentamicina en aislados de *Escherichia coli*. **Diseño:** Estudio experimental **Lugar:** Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación en Bacteriología Alimentaria (CLEIBA) **Participantes:** Placas Petri conteniendo *E. Coli* ATCC 25922, aceite esencial de orégano y Gentamicina. **Intervenciones:** Se aplicó el método de Kirby Bauer (discos de difusión) en 20 placas Petri. Se aisló la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922. El grupo Experimental fue tratado con discos de papel filtro, embebidos con Gentamicina y aceite esencial de orégano al 75%; mientras que el grupo Control, con discos de Gentamicina sola. Se realizó la medición de los halos y se registraron los datos. **Principales medidas de resultados:** Se evaluó el diámetro de los halos de inhibición **Resultados:** Los halos de inhibición del grupo Experimental resultaron 22,375 mm., mayores que los del grupo Control (20,75 mm). La prueba T determinó que la diferencia era estadísticamente significativa,  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ ). **Conclusiones:** Existe un efecto sinérgico antibacteriano in vitro entre el aceite esencial de *Origanum vulgare* y la gentamicina en *E. coli*.

**Palabras clave:** Aceite de orégano, *Escherichia coli*, Gentamicina, Sinergismo Farmacológico.

## ABSTRACT

**Objective:** The present research had as a purpose to determine the synergic antibacterial effect between *Origanum vulgare* (Oregano) essential oil and Gentamicin, on *Escherichia coli* isolates. **Design:** Experimental study **Setting:** Latin American Center of Education and Research on Alimentary Bacteriology. **Subjects:** Petri plates with *E. Coli* ATCC 25922, origanum essential oil and Gentamicin. **Interventions:** The diffusion discs method (Kirby Bauer) was used on 20 Petri plates. *Escherichia coli* ATCC 25922 strain was isolated. The Experimental group was treated with the filter papers discs that contained Gentamicin and origanum essential oil at 75%; and the Control group, with Gentamicin only. The inhibition halos were measured; and the data, registered. **Main Outcome Measures:** The diameter of the inhibition halos was measured. **Results:**

The inhibition halos of the Experimental group resulted 22.375 mm, larger than the Control group (20.75 mm). The T test showed that it was a statistically significant difference,  $p = 0,001$  ( $p < 0.05$ ). **Conclusions:** There is a synergic antibacterial effect in vitro between *Origanum vulgare* essential oil and Gentamicin on *Escherichia coli*.

**Key words:** Origanum oil, *Escherichia coli*, Gentamicin, Drug Synergism.

## INTRODUCCIÓN

Actualmente las infecciones del tracto urinario, constituyen un problema de salud pública importante dado que se asocian a un incremento de la morbilidad, mortalidad y los costos hospitalarios para los pacientes, sus familias y la sociedad, siendo la *Escherichia coli* una de las principales bacterias causantes de esta realidad.<sup>(1-5)</sup>

Por otra parte, el aceite y extracto de distintas plantas han sido utilizados para una diversidad de propósitos por miles de años. Esto se debe a su actividad antimicrobiana, siendo incluidos en procesos de conservación de alimentos, farmacológicos y tratamientos medicinales naturales. Esta propiedad fue estudiada por diversos investigadores, quienes señalan que el aceite esencial de diversas plantas, entre las que se encontraban el *O. vulgare ssp.*, poseen actividad antimicrobiana frente a microorganismos Gram-negativos y Gram-positivos.<sup>(6-12)</sup>

Para ello se han empleado las técnicas in vitro dada la sencillez y reproducibilidad de las mismas.

El orégano (*Origanum vulgare*) posee propiedades antioxidantes, antifúngicas, antiespasmódicas, antisépticas, y sobre todo se caracteriza por la potente acción de sus principios activos carvacrol y timol que le otorgan a esta planta un gran poder antibacteriano.<sup>(6,7)</sup>

Por todo lo anterior, el objetivo principal del presente trabajo de investigación fue determinar si el aceite esencial de *Origanum vulgare* in vitro posee efecto potenciador sobre la acción antibacteriana de la gentamicina en cultivos de *E. coli*.

## MATERIAL Y MÉTODO

El estudio fue de tipo prospectivo, transversal y experimental.

Todos los procesos realizados en el laboratorio siguen las normas del "Manual de procedimientos Para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana" o bacteriana in Vitro del Instituto Nacional de Salud del Perú.<sup>(13)</sup>

Para determinar el tamaño de la muestra, se realizó una prueba piloto con 10 placas Petri sometidos a la prueba de discos de sensibilidad, obteniendo una muestra de 20 placas.

La Preparación del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) fue realizada en la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las hojas frescas de orégano (5Kg.) fueron trasladadas al tubo de extracción de un equipo para ser sometidas al proceso de destilación por arrastre de vapor de agua.<sup>(14)</sup>

La bacteria *E.coli* ATCC 25922 fue obtenida de una muestra clínica en el Hospital Guillermo Almenara Irigoyen – EsSalud.

Se realizó la reactivación de la cepa de *E. coli* en un tubo de ensayo con Agar Triptosa Soya (TSA) inclinado. Además, se prepararon placas petri con TSA mediante el método indicado, pero agregándosele polysorbate 80 (tween 80), que es un tensoactivo que permite la difusión de los aceites esenciales a través del agar, en la concentración de 5 mL por 1000 mL de TSA.<sup>(13)</sup> El tween 80 fue utilizado en todas las placas (casos y controles).

Al cultivo de *E. coli* reactivado, se le añadió 2 mL de suero fisiológico y se agitó, hasta conseguir una suspensión. De esta suspensión se realizaron diluciones sucesivas de 10% cada vez, en caldo TSB, hasta conseguir una turbidez semejante a la del tubo N° 0,5 de la escala de McFarland, este tubo debe contener aproximadamente 1,5 x 10<sup>8</sup> ufc/mL.<sup>(15)</sup>

Se realizó el inóculo de *E. coli*, en las placas petri con Agar TSA mediante el método de hisopado en toda el área del medio.

Se diluyó la Gentamicina de 80mg/2mL en solución Buffer N°3 hasta obtener una concentración de 2 mg/mL, de tal manera que cuando embebimos los discos con 5 µL de solución, estos contenían 10 µg de Gentamicina pura, que es la concentración establecida para antibiograma con Gentamicina. A esta concentración, la Gentamicina presenta un halo de inhibición mayor o igual a 15 mm de diámetro. (16)

Se realizó el antibiograma mediante la técnica de Kirby Bauer (16); con discos de papel filtro embebidos con 5µL de Gentamicina preparada, (Grupo Control) y otro grupo con 5 µL de la Gentamicina y 5 µL de aceite esencial de orégano al 75% (Grupo Experimental).

Se midieron los diámetros de los halos de inhibición de cada muestra con ayuda de una regla milimetrada.

Los datos fueron recolectados y procesados en el programa SPSS versión 12.0 para Windows. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba t para variables independientes, un  $p < 0.05$  se considero estadísticamente significativo.

## RESULTADOS

De la experiencia se obtiene que la media aritmética de los halos de inhibición del grupo experimental sea de 22,375 mm; mientras que los del grupo control resultó 20,75 mm. (Figura 1).

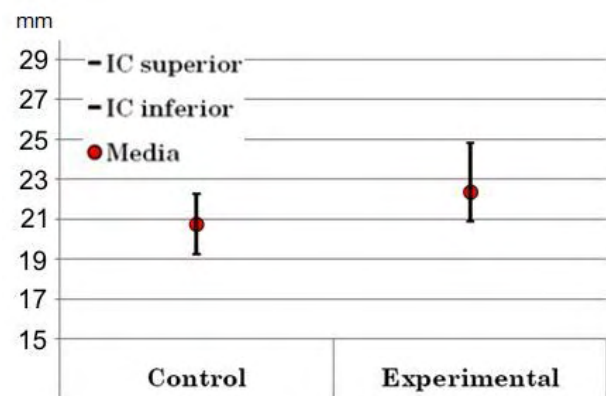
**Tabla 1. Prueba T para variables Independientes**

Halos	n	Promedio	± Desviación Estandar	Valor p
Control	20	20,75	1,51	0,001
Experimental	20	22,37	1,46	

Fuente: Halos de Inhibición. Se considera estadísticamente significativo un  $p < 0.05$

El diámetro del halo de inhibición promedio del extracto de orégano asociado a gentamicina sobre cultivos de *Escherichia Coli* fue mayor al diámetro del halo promedio de Gentamicina sola. Ésta diferencia al evaluarse mediante la prueba t para variables independientes se concluyó que es estadísticamente significativa  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ ).

**Figura 1. Comparación de promedios de halos de inhibición**



## DISCUSIÓN

En el ensayo previo se comprobó el efecto antibacteriano del aceite esencial de Orégano contra *E. coli*, en una concentración del 75%. Este resultado coincide con un gran número de estudios (17-21), en los cuales además de demostrar su efecto antibacteriano se ha determinado que los componentes más importantes que brindan la propiedad antibacteriana al orégano son Carvacrol y Timol. Estos componentes tienen la capacidad de destruir la estructura de la membrana celular, causando el incremento de su permeabilidad y por consiguiente la salida de iones inorgánicos, ATP, ácidos nucleicos y aminoácidos, etc. Incluso, se comprueba que el aceite esencial de *Origanum vulgare* tiene actividad antibacteriana contra otras bacterias gram-negativas como: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella cholerae suis* y *Vibrio cholerae* y las bacterias grampositivas: *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. (6,7)

El sinergismo se habría dado por el mecanismo de sumación, debido a que ambas sustancias producen el efecto por mecanismos diferentes, y juntos dan como resultado un efecto mayor.<sup>(22)</sup>

Entonces, se puede concluir que el aceite esencial del orégano (*Origanum vulgare*) al 75 % potencia la actividad antibacteriana de la gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*.  $p = 0,001$  ( $p < 0,05$ )

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Yagui M, Castilla T, Llanos F. Análisis de Situación de las Infecciones Intrahospitalarias en Perú. OGE - RNACE/Vig. Hosp. 2000. DT 001-V.1.
2. Torres R, Romero O, Lucero J, Anaya E. Otras Infecciones Bacterianas. Rev. Per. de Medicina Experimental y Salud Pública 2002; 19: 21-23.
3. Chang, SC, Hsieh, WC, Liu C. High prevalence of antibiotic resistance of common pathogenic bacteria in Taiwan. The Antibiotics Resistance Study Group of the Infectious Disease Society of the Republic of China. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2000; 36: 107-112.
4. Ho M, McDonald LC, Lauderdale TL, Yeh LL, Chen PC, Shiau YR. Surveillance of antibiotic resistance in Taiwan. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 1998; 32: 239-49.
5. Alamo Solís C. Infección del tracto urinario en niños. Pediatría 2000; 3: 14-21.
6. Albado E, Saez G, Grabiell S. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). Rev Med Hered. 2001; 12: 17-19
7. Arcila CC, Loarca G, Lecona S, González E. Orégano: Propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. ALAN, 2004; 54: 100-111.
8. Burt SA, Reinders RD. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157 :H7, Lett Appl Microbiol 2003; 36: 162-167.
9. Dorman HJ, Deans SG. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 2000; 88: 308-16.
10. Baricevik D, Bartol T. In: Orégano. The genera *Origanum* and *Lippia*. Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles. Edited by Spiridon E. Kintzios, Athens, Greece. Taylor and Francis. London and New York. 2002; 8: 177-213.
11. Horosava K, Bujnakova D, Kmet V. Effect of Oregano Essential Oil on Chicken Lactobacilli and *E. coli*. Folia Microbiol 2006; 51: 278-280.
12. Daouk R, Dagher SM, Sattout E. Antifungal activity of the essential of *Origanum syriacum* L. Journal of Food Protection. 1995; 58: 1147-9.
13. Sacaquispe RE, Velásquez J. Manual de procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana. Lima. Instituto Nacional de Salud. 2002.
14. United States Pharmacopeial Convention. USP 30. NF 25. The United States Pharmacopeia. The National Formulary. Rockville: USP Convention. 2007.
15. Cona T, Erna. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. Rev. chil. infectol. 2002; 19: 77-81.
16. National Committee For Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth informational supplement M100-S12. Wayne, Pennsylvania: NCCLS, 2002.
17. D'antuono LF, Galletti GC, Bocchini P. Variability of essential oil content and composition of *Origanum vulgare* L. Populations from a north mediterranean area (Liguria region, north Italy). Ann. Bot. 2000; 86: 471-8.
18. Lambert RJ, Skandamis PN, Coote PJ, Nychas GJ. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Blackwell Science Ltd. Sept 2001; 91: 453-62.
19. Morales L. Estudio in vitro de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de tres plantas del Perú. [Tesis] Lima. UNMSM. Fac. Biología; 1995.
20. Galli A, Franzetti L, Briguglio D. Antimicrobial properties in vitro of essential oils and extract of spices used for food. Industrie Alimentari. 1985; 24: 463-6.
21. Veres K, Varga E, Schelz Z, Molnár J, Bernáth J, Máthé I. Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Essential Oils of Four Lines of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*. Ietswaart Grown in Hungary. Natural Product Communications. 2007; 11: 1155-1158.
22. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Undécima Edición. México. 2006. Mc Graw-Hill, Interamericana.

Correspondencia:  
Edgar Estrada Montañez  
Correo-e: [sigfri3d@hotmail.com](mailto:sigfri3d@hotmail.com)

Manuscrito recibido: Diciembre 2008

Aceptado para publicarse: Junio 2009