Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río

ISSN: 1561-3194 **RNPS:** 1877
Rev Ciencias Médicas. 2025; 29(2025): e6729

ARTÍCULO ORIGINAL

Estudio in vitro sobre la Eficacia Bactericida del Extracto Acuoso de Salvia, Romero sobre Streptococcus mutans

In vitro Study on the Bactericidal Efficacy of Aqueous Extract of Sage, Rosemary on Streptococcus mutan

Gabriela Ximena Marín-Vega [1], **Dayana Nataly Quishpe-Cedeño**[1], **José Israel Castillo-Gonzalez**[1]

[1]Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas de la P.U.C.E. Quito. Ecuador.

Recibido: 07 de abril de 2025
Aceptado: 09 de abril de 2025
Publicado: 12 de abril de 2025

Citar como: Marín-Vega GX, Quishpe-Cedeño DN, Castillo-Gonzalez JI. Estudio in vitro sobre la Eficacia Bactericida del Extracto Acuoso de Salvia, Romero sobre Streptococcus mutans. Rev Ciencias Médicas [Internet]. 2025 [citado: fecha de acceso]; 29(2025): e6729. Disponible en: http://revcmpinar.sld.cu/index.php/publicaciones/article/view/6729

RESUMEN

Introducción: Las enfermedades orales más comunes, como la caries dental y la enfermedad periodontal, son infecciosas y contagiosas, siendo causadas por diversos factores, el estudio fue llevado a cabo en el Laboratorio de la Facultad de Ciencias Químicas de la P.U.C.E.
Objetivo: Determinar la eficacia de los extractos acuosos al 100 % de Salvia Officinalis (Salvia), Rosmarinus Officinalis (Romero) y una combinación de ambos en la inhibición del crecimiento del *Streptococcus mutans*, utilizando métodos de investigación in vitro.
Metodos: se trató de un estudio transversal, comparativo y experimental in vitro, que utilizó 15 unidades experimentales (cajas Petri con Agar Sangre 5 % sangre humana), distribuidas en cinco para cada extracto, resultando en un total de 60 muestras para el análisis.
Resultados: los resultados indicaron que el extracto acuoso al 100 % de Romero (Rosmarinus Officinalis) no mostró un efecto bactericida significativo sobre el Streptococcus mutans en comparación con las mediciones de halos de inhibición a las 24 y 48 horas.
Conclusiones: tanto el extracto acuoso al 100 % de Salvia (Salvia Officinalis) como la combinación de Salvia y Romero presentaron diferencias significativas en las mediciones, mostrando halos de inhibición mayores a las 48 horas en comparación con el extracto de Romero solo.

Palabras claves: Romero; Salvia; Streptococcus Mutans; Salud Bucal; Prevencion.

CC-BY-NC- 4.0

ISSN: 1561-3194 **RNPS:** 1877
Rev Ciencias Médicas. 2025; 29(2025): e6729

ABSTRACT

Introduction: the most common oral diseases, such as dental caries and periodontal disease, are infectious and contagious, being caused by diverse factors, the study was carried out in the Laboratory of the Faculty of Chemical Sciences of the P.U.C.E.
Objective: to determine the efficacy of 100 % aqueous extracts of Salvia Officinalis (Sage), Rosmarinus Officinalis (Rosemary) and a combination of both in inhibiting the growth of Streptococcus mutans, using in vitro research methods.
Methods: this was a cross-sectional, comparative and experimental in vitro study, using 15 experimental units (Petri dishes with 5 % human blood agar), distributed in five for each extract, resulting in a total of 60 samples for analysis.
Results: the results indicated that the 100 % aqueous extract of Rosemary (Rosmarinus Officinalis) did not show a significant bactericidal effect on Streptococcus mutans compared to the inhibition halo measurements at 24 and 48 hours.
Conclusions: both the 100 % aqueous extract of Salvia (Salvia Officinalis) and the combination of Salvia and Rosemary showed significant differences in the measurements, showing higher inhibition halos at 48 hours compared to the Rosemary extract alone.

Keywords: Rosmarinus; Salvia; Streptococcus Mutans; Oral Health; Prevention.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades orales más comunes, como la caries dental y la enfermedad periodontal, son infecciosas y contagiosas, siendo causadas por diversos factores, incluidos microorganismos específicos como el grupo *Streptococcus mutans, lactobacillus acidóphilus y S*. sanguis, entre otros.[1] Por esta razón, es crucial comprender las propiedades bacteriostáticas o bactericidas de ciertas plantas medicinales que podrían contribuir al control de estas infecciones, desde la perspectiva de la Odontología Alternativa.[2]

Dalirsani et al, [3] citado en, evaluaron "in vitro" los efectos antibacterianos de diez extractos de plantas contra Streptococcus mutans. La efectividad antimicrobiana se comparó con clorhexidina al 0,12 %. Los diámetros de cada disco se compararon con los de clorhexidina, donde se observó que la inhibición alrededor de los discos de extracto de romero fue 11.5 mm el que más se aproxima al de la clorhexidina que fue de 14,6 mm.18.

El *Rosmarinus officinalis* (Romero) es una planta rica en principios activos y con acción sobre casi todos los órganos del cuerpo humano. Al tener un alto contenido en aceites esenciales, cuyos ingredientes activos son flavonoides, ácidos fenólicos y principios amargos, genera una acción tónica y estimulante sobre el sistema nervioso, circulatorio y corazón, además de ser colerético, antiespasmódico, diurético.[4,5]

Según Perales-Flores,[6] el extracto de Rosmarinus officinalis ha demostrado actividad antibacteriana contra S. mutans, S. aureus, S. casei y en Streptococcus mitis, Streptococcus sanguinis, Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus y Lactobacillus casei.

CC-BY-NC- 4.0

ISSN: 1561-3194 **RNPS:** 1877
Rev Ciencias Médicas. 2025; 29(2025): e6729

En base a estos antecedentes, en el presente trabajo se realizó un estudio sobre dos especies terapéuticas (*Salvia officinalis* y *Rosmarinus officinalis*) de uso frecuente en la medicina natural, para ello vamos a aplicar conocimientos procedentes de Microbiología Oral, Cariología, Botánica y Fitoterapia, con el fin de descubrir si las plantas mencionadas ejercen una acción bacteriostática sobre el Streptococo mutans, microorganismo principal causante de la caries dental.

Dada la elevada inversión requerida para el cuidado bucodental en Ecuador, es imperativo buscar alternativas terapéuticas y preventivas naturales que sean accesibles para la población y que igualen en eficacia a los medicamentos disponibles en el mercado nacional. Por lo tanto, el objetivo de nuestro estudio es Determinar la eficacia de los extractos acuosos al 100 % de Salvia Officinalis (Salvia), Rosmarinus Officinalis (Romero) y una combinación de ambos en la inhibición del crecimiento del *Streptococcus mutans*, utilizando métodos de investigación in vitro.

MÉTODOS

- **Transversal:** El presente estudio se realizó durante un periodo de tiempo determinado: enero 2016- junio 2016
- **Comparativo:** Se evaluó la diferencia significativa entre los extractos de Salvia y Romero utilizados para el control de S. mutans.
- **Experimental:** Las variables fueron sometidas a una manipulación en condiciones controladas.
- **In vitro:** Debido a que la técnica para el experimento se realizó en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

Método para la obtención de los extractos acuosos de Salvia y Romero

Para preparar los extractos acuosos, se tomaron 50 g de hojas verdes, flores y talluelos de las plantas mencionadas, se cortaron en trozos de 0,5 cm y se depositaron en un vaso de precipitado, luego se mezclarán con 200 ml de agua destilada y se dejaron remojar por 24 h. Al transcurrir el lapso, se trituraron en una licuadora de casa, durante 30 seg y la solución se filtró dos veces a través de papel de filtro N.º 1. La solución obtenida se consideró como estándar (100 %).

Método para la elaboración del experimento in vitro

Para la activación de la Cepa de *Streptococcus mutans* con referencia ATCC 25175, que fue adquirida de manera comercial, en estado liofilizado, se colocó 1 ml de caldo nutritivo, TSB (Tryptip Soy Broth). La suspensión fue pipeteada en 4mL de caldo TSB para luego ser inoculada en cajas de agar sangre humana 5 %, se realizó un hisopado, con la técnica de agotamiento por estrías, además de la técnica de sembrado por extensión con ayuda de un asa bacteriológica para poder aislar las colonias. Las condiciones de incubación fueron temperatura de 35°C y atmósfera de 5 % de CO2 durante 24 y 48 horas.

Cuando se observó el crecimiento en colonias puras, el microorganismo se diluyó hasta que su turbidez fue comparada visualmente con una suspensión preparada previamente de sulfato de bario que corresponde al estándar 0.5 de la escala de McFarland. Se inoculó la solución con hisopos estériles en cajas de agar sangre humana al 5 %, siguiendo la técnica de inoculación del hisopado en superficie completa, para que exista un crecimiento uniforme del microorganismo y se pueda establecer el efecto de las sustancias bactericidas. Se colocaron cuatro discos de papel filtro estériles de ¼ de pulgada en cada caja Petri, cada uno de ellos impregnados con 20

CC-BY-NC- 4.0

ISSN: 1561-3194 **RNPS:** 1877
Rev Ciencias Médicas. 2025; 29(2025): e6729

µl (microlitros) de extracto acuoso de romero al 100 %, así como de extracto acuoso de Salvia al 100 %, y por último de la combinación de ambos extractos al 100 %.

Luego se incubaron las placas en una estufa a 35°C en condiciones de baja presión de oxígeno durante 24 horas, después de las cuales se anotaron los resultados, luego de las 48 horas siguientes, se sucedió a tomar nota de los resultados obtenidos de las 60 muestras.

Técnicas e instrumentos de recolección de datos
Se midió el diámetro de los halos de inhibición en cada caja Petri con un calibrador debidamente milimetrado en la base de la placa, a las 24 horas y posteriormente a las 48 horas, se registraron los datos en una ficha de recolección de Excel. Las categorías de interpretación son:

- **Susceptible:** cuando presenta una gran área de inhibición
- **Intermedio:** si presenta un halo de inhibición más reducido
- **Resistente:** si no presenta halo de inhibición

RESULTADOS

ESTADÍSTICA NO PARAMÉTRICA

De la prueba de Normalidad de Shapiro-Wilk tabla 1 los valores Significativos. (Nivel de significación) son inferiores a 0,05 (95 % de confiabilidad), luego rechazamos Ho, esto es la muestra de las soluciones NO provienen de una población con distribución Normal, luego para el análisis se debe realizar pruebas NO PARAMÉTRICAS

Pruebas no paramétricas: Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon
Ho: (hipótesis nula) Las muestras proceden de poblaciones con la misma distribución de probabilidad (Medias similares)
Ha: (hipótesis alternativa) Existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones.

Tabla 1. Prueba de normalidad del romero, salvia, salvia-romero al 100 % a las 24y 48 horas.

Pruebas de normalidad	Kolmogorov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
ROMERO 100 % 24 Horas	0,509	20	0,000	0,433	20	0,000
ROMERO 100 % 48 Horas	0,509	20	0,000	0,433	20	0,000
ROMERO SALVIA 100 % 24 Horas	0,268	20	0,001	0,858	20	0,007
ROMERO SALVIA 100 % 48 Horas	0,287	20	0,000	0,881	20	0,018
SALVIA 100 % 24 Horas	0,284	20	0,000	0,773	20	0,000
SALVIA 100 % 48 Horas	0,225	20	0,009	0,860	20	0,008

Fuente: Autor

De la Prueba de Wilcoxon tabla 2 de los rangos con signos, Significancia asintótica = 1,000 es mayor a 0,05 (95 % de confiabilidad), luego NO existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones, las medidas centrales son similares.

CC-BY-NC- 4.0

ISSN: 1561-3194 **RNPS:** 1877
Rev Ciencias Médicas. 2025; 29(2025): e6729

Tabla 2. Prueba no paramétrica: romero 100 % 48 horas vs romero 100 % 24 horas.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La mediana de las diferencias entre ROMERO_100_24H y ROMERO_100_48H es igual a 0.	Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo de muestras relacionadas	1,000	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Elaborado: Gabriela Ximena Marín Vega.
Fuente: Autor

De la Prueba de Wilcoxon Tabla 3 de los rangos con signos, Significancia asintótica = 0,000 es menor a 0,05 (95 % de confiabilidad), luego SI existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones, las medidas centrales no son similares, a las 48 horas los halos son mayores para el ROMERO + SALVIA

Tabla 3. Pruebas no paramétricas: romero + salvia 100 % 48 horas vs romero+ salvia 100 % 24 horas.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La mediana de las diferencias entre ROMERO_SALVIA_24H y ROMERO_SALVIA_48H es igual a 0.	Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo de muestras relacionadas	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Elaborado: Gabriela Ximena Marín Vega
Fuente: Autor

De la Prueba de Wilcoxon tabla 4 de los rangos con signos, Significancia asintótica = 0,000 es menor a 0,05 (95 % de confiabilidad), luego SI existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones, las medidas centrales no son similares, a las 48 horas los halos son mayores para la Salvia al 100 %.

CC-BY-NC- 4.0

ISSN: 1561-3194 **RNPS:** 1877
Rev Ciencias Médicas. 2025; 29(2025): e6729

Tabla 4. Prueba no paramétrica: salvia 100 % 48 horas vs salvia 100 % 24 horas.

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La mediana de las diferencias entre SALVIA_100_24H y SALVIA_100_48H es igual a 0.	Prueba de Wilcoxon de los rangos con signo de muestras relacionadas	,000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

Elaborado: Gabriela Ximena Marín Vega.
Fuente: Autor

Prueba de Kruskal-Wallis: Tres o más muestras

De la Prueba de Kruskal-Wallis Sig. asintót. = 0,000 es menor a 0,05 (95 % de confiabilidad), luego existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones. No todas las medias de las muestras son similares, se realiza la prueba dos a dos para verificar cuales son distintas: Comparando dos a dos se tiene que a las 24 horas el Romero al 100 % tienen valores inferiores con relación a las otras dos soluciones. De la Prueba de Kruskal-Wallis Sig. asintót. = 0,000 es menor a 0,05 (95 % de confiabilidad), luego existen diferencias respecto a la tendencia central de las poblaciones. No todas las medias de las muestras son similares, se realiza la prueba dos a dos para verificar cuales son distintas:

Comparando dos a dos se tiene que a las 24 horas el Romero al 100 % tienen valores inferiores con relación a las otras dos soluciones

DISCUSIÓN

El presente estudio investigó la eficacia bactericida de extractos acuosos al 100 % de Salvia, Romero y una combinación de ambos sobre Streptococcus mutans, un importante patógeno asociado con la caries dental. Los resultados obtenidos revelan importantes implicaciones para la salud bucodental y sugieren posibles aplicaciones terapéuticas en la prevención y tratamiento de enfermedades dentales.

En primer lugar, nuestros hallazgos demostraron que el extracto acuoso al 100 % de Romero y la combinación de Salvia y Romero exhibieron una efectividad significativa en la inhibición del crecimiento de Streptococcus mutans in vitro. Este hallazgo es consistente con investigaciones previas que han destacado las propiedades antimicrobianas de estas plantas medicinales. La presencia de compuestos bioactivos en Salvia y Romero, como ácidos fenólicos, flavonoides y terpenoides, podría ser responsable de su actividad antibacteriana, lo que respalda su potencial como agentes terapéuticos para combatir la caries dental. Según Orihuela-Mendoza y cols. 2022 en su artículo citan mencionan que el extracto acuoso de Romero mostró una eficacia bactericida comparable con los extractos con clorhexidina, lo que resalta su prometedor perfil como una alternativa natural a los enjuagues bucales comerciales.[7,8,9]

CC-BY-NC- 4.0

ISSN: 1561-3194 **RNPS:** 1877
Rev Ciencias Médicas. 2025; 29(2025): e6729

Sin embargo, es importante destacar que la combinación de Salvia y Romero demostró una mayor efectividad en la inhibición del crecimiento bacteriano en comparación con el extracto de Romero solo. Esto sugiere un posible efecto sinérgico entre los componentes de estas plantas, lo que podría potenciar sus propiedades antimicrobianas y promover una acción más eficaz contra Streptococcus mutans.[10,11,12]

En términos de implicaciones clínicas, nuestros resultados sugieren que los extractos acuosos de Salvia y Romero, especialmente en combinación, podrían ser utilizados como adyuvantes en la terapia y prevención de la caries dental. Su capacidad para inhibir el crecimiento de Streptococcus mutans ofrece una estrategia prometedora para reducir la carga bacteriana en la cavidad oral y, por ende, disminuir el riesgo de desarrollo de caries dental.

CONCLUSIONES

Este estudio proporciona evidencia sólida sobre la eficacia bactericida de los extractos acuosos al 100 % de Salvia, Romero y Salvia-Romero sobre Streptococcus mutans, destacando su potencial como agentes anticariogénicos naturales en el cuidado bucodental. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para comprender completamente los mecanismos de acción subyacentes y para evaluar su seguridad y eficacia en estudios clínicos en humanos. El Efecto bactericida del extracto acuoso de Romero (Rosmarinus Officinalis) al 100 % sobre el *Streptococcus mutans,* no existen diferencias con respecto a las medidas de los halos son similares a las 24 y 48 horas. Los extractos acuosos de Salvia y de Romero al 100 % sobre el *Streptococcus mutans,* si existen diferencias respecto a las medidas no son similares, a las 48 horas los halos son mayores para el Romero + Salvia. La acción bactericida del extracto acuoso de Salvia (Salvia Officinalis) al 100 %, sobre el *Streptococcus mutans,* si existen diferencias respecto las medidas no son similares, a las 48 horas los halos son mayores para la Salvia al 100 %. Comparando dos a dos se tiene que a las 24 horas el Romero al 100 % tienen valores inferiores con relación a las otras dos soluciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ojeda-Garcés JC, Oviedo García E, Salas LA. Streptococcus mutans y caries dental. Rev CES Odont[Internet]. 2023 [12/01/2025]; 26(1):44-56. Disponible en: http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf

2. Imanshahidi M, Hossinzadeh. The pharmacological effects of Salvia species on the central nervous system. Phytother Res[Internet]. 2006[12/01/2025]; 20(6): 427-37. Disponible en: https://doi.org/10.1002/ptr.1898

3. Dalirsani Z, Aghazadeh M, Adibpour M, Amirchaghmaghi M, Pakfetrat A, Mehdipou R. In Vitro comparison of the antimicrobial activity of ten herbal extracts against Streptococcus mutans wth chlorhexidine. Journal of applied sciences[Internet]. 2011[12/01/2025]; 11(5): 878-882. Disponible en: https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20113183341

4. Wagner AB, Lucarini R, et al. Antimicrobial activity of Rosmarinus officinalis against oral pathogens: relevance of carnosic acid and carnosol. Chem Biodiver. 2010[12/01/2025]; 7(7): 1835-40. Disponible en: https://doi.org/10.1002/cbdv.200900301

CC-BY-NC- 4.0

ISSN: 1561-3194 **RNPS:** 1877
Rev Ciencias Médicas. 2025; 29(2025): e6729

5. Tundis R, Loizzo M, Menichoni F. Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: a update. Medicinal Chemistry[Internet]. 2010[12/01/2025]; 10(4): 315-331. Disponible en: https://doi.org/10.2174/138955710791331007

6. Perales-Flores JD, Verde-Star MJ, Viveros Valdéz JE, Barrón-González MP, Garza-Padrón RA, Aguirre-Arzola VE, et al. Actividad antioxidante, tóxica y antimicrobiana de Rosmarinus officinalis, Ruta graveolens y Juglans regia contra Helicobacter pylori. Biotecnia [Internet]. 2023 Abr [citado 12/01/2025]; 25(1): 88-93. Disponible en: https://doi.org/10.18633/biotecnia.v25i1.1773

7. Silva F FSQJDFJ. Coriander (Coriandrum sativum L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry. J Med Microbiol[Internet]. 2011;(10): 1479-1486. Disponible en: https://doi.org/10.1099/jmm.0.034157-0

8. Raskovic A, et al. Antioxidant activity of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) essential oil and its hepatoprotective potential. BMC Complement Altern Med[Internet]. 2014[citado 12/01/2025]; 225(2014). Disponible en: https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-225

9. Marín Vega GX. Efectividad del extracto acuoso de salvia, romero y de salvia-romero al 100 % como bactericida sobre el streptococcus mutans. Estudio microbiológico in vitro. Universidad Central del Ecuador[Internet]; 2016[citado 12/01/2025]. Disponible en: https://www.dspace.uce.edu.ec/entities/publication/280784fc-f9c0-471c-b7b8-8ceb19a48cc2

10. Liebana Ureaxa J. Microbiología Oral. Mc-Graw-Hill Interamericana de España[Internet]; 2002[citado 12/01/2025]. Disponible en: https://latam.casadellibro.com/libro-ibd-microbiologia-oral/9788448604608/854507

11. Simon Mills KB. Principles and Practice of Phytotherapy. Modern Herbal Medicine. 2da Edition[Internet]; 2012[citado 12/01/2025]. Disponible en: https://shop.elsevier.com/books/principles-and-practice-of-phytotherapy/bone/978-0-443-06992-5

12. Martínez-Huelamo M, et al. Modulation of Nrf2 by olive oil and wine polyphenols and neuroprotection. Antioxidants[Internet]. 2017[citado 12/01/2025]; 6(4): 73. Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5745483/

CC-BY-NC- 4.0