

Actividad antimicrobiana de *Salvia rosmarinus* (romero) sobre *Porphyromonas gingivalis* y *Enterococcus faecalis*

Salvia rosmarinus (rosemary) antimicrobial activity against *Porphyromonas gingivalis* and *Enterococcus faecalis*

¹Oscar Manuel García-Gutiérrez, ²Giovani Martínez-Hernández, ²Jacqueline Esquibel-Caro, ²Citlali Luna-Roa, ³José Eduardo Navarro-Zarza, ^{2*}Roxana Reyes-Ríos

¹Instituto Universitario de Ciencias Médicas y Humanísticas de Nayarit. Blvd. Tepic-Xalisco 97, Jardines de la Cruz, C. P. 63190, Tepic, Nayarit, México Correo electrónico: ogarcia2001062@inumedh.edu.mx ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-7828-161X>

²Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Javier Méndez Aponte No. 1, Fracc. Servidor Agrario, C. P. 39070, Chilpancingo, Guerrero, México. Correos electrónicos: giovanimartinez@uagro.mx; Jacque_esquibel@outlook.com; citlalira99@gmail.com; rreyes@uagro.mx ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-8379-6296>; <https://orcid.org/0009-0002-2172-4414>; <https://orcid.org/0009-0003-1730-2902>; <https://orcid.org/0000-0003-4376-4687>

³ArteMédica Hospital, De los Gobernadores No. 41, La Virgen, C. P. 39060 Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México. Correo electrónico: eduardo@navarrozarza.com.mx ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4928-6372>

*Autor para correspondencia

Recibido: 6 de agosto del 2023

Aceptado: 13 de mayo del 2024

Publicado: 31 de mayo del 2024

<https://doi.org/10.33064/iycuaa2024924586>
e4586

RESUMEN

El romero (*Salvia rosmarinus*), es conocida como la reina de las plantas aromáticas, una de sus mayores características además del fuerte aroma es que también es una planta utilizada con fines medicinales por la población en general, la cual ha implementado diversas maneras de consumirla. El propósito de este trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana que tiene el romero, para que con base en esto se pueda considerar para generar diversos productos e inclusive fármacos para su uso específico contra *Porphyromonas gingivalis* y *Enterococcus faecalis*. Ya que estas bacterias se han asociado a diversas enfermedades de importancia en el país de México, como la gingivitis y periodontitis. Se determinó la actividad antimicrobiana mediante el método Kirby-Bauer, se realizó la medición de los halos de inhibición formados a partir de los discos impregnados con aceite esencial de romero, el cual mostró actividad contra *P. gingivalis* y *E. faecalis*.

Palabras clave: romero; aceite esencial; *Porphyromonas gingivalis*; *Enterococcus faecalis*

ABSTRACT

Rosemary (*Salvia rosmarinus*), is known as the queen of aromatic plants, one of its main characteristics besides its strong aroma is that it is also a plant used for medicinal purposes by the general population, which has implemented various ways of consuming it. The purpose of this work was to evaluate the antimicrobial activity of rosemary, so that based on this it can be considered to generate various products and even drugs for specific use against *Porphyromonas gingivalis* and *Enterococcus faecalis*. Since these bacteria have been associated with various diseases of importance in the country of Mexico, such as gingivitis and periodontitis. The antimicrobial activity was determined using the Kirby-Bauer method,

measuring the inhibition halos formed from the disks impregnated with rosemary essential oil, which showed activity against *P. gingivalis* and *E. faecalis*.

Keywords: rosemary; oil essential; *Porphyromonas gingivalis*; *Enterococcus faecalis*

INTRODUCCIÓN

El romero, una planta que ha sido utilizada durante muchos años con fines medicinales, los cuales benefician a la salud y bienestar de la persona que lo consume. (SSA, 2023). El objetivo a cumplir en esta investigación es conocer la actividad antimicrobiana del romero (*Salvia rosmarinus*) contra *Porphyromonas gingivalis* y *Enterococcus faecalis*.

El romero también conocido como *Salvia rosmarinus* anteriormente llamada *Rosmarinus officinalis*, es una planta perteneciente a la familia Lamiaceae esta familia es nativa del mediterráneo. Este arbusto de hojas perennes es muy aromático por lo que se le considera como la reina de las plantas aromáticas. (AGEXPORT, 2021). Su principal producción en la república mexicana es en el estado de México y en el estado de Baja California. (SAGARPA, 2017). El romero es usado como planta medicinal en los estados de Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Ciudad de México, Morelos, Oaxaca, Puebla, Sonora, Tlaxcala y Veracruz. (Ávila-Sosa, et al., 2011) Agregando a Tepic, Nayarit estado en el cual su uso más típico es el té de romero para fines medicinales gastrointestinales.

Se tenía el conocimiento de que el término era derivado del griego (*rhops* y *myrinos*) que significa arbusto marino, después se conoció que el nombre genérico era *Rosmarinus* derivado del latín donde se conocía como ros (rocío) y marinus (mar) como Rocío del mar. En la actualidad los etimologistas consideran que este es la unión de dos vocablos griegos los cuales son (*rhos*) arbusto y (*myrinos*) aromático la cual expresa la principal característica de la planta y el nombre *officinalis* es la que interpreta que esta es una planta usada con fines medicinales (AGEXPORT, 2021).

La gingivitis es una de las enfermedades bucodentales más comunes, se caracteriza por el sangrado e inflamación del tejido gingival, dolor y en algunas ocasiones puede producir halitosis; si no es tratada a tiempo esta enfermedad se puede tornar grave, el avance de este proceso provoca que las encías se separen de los dientes, facilitando la proliferación bacteriana por debajo de ellas (placa bacteriana subgingival). La infección se hará más profunda hasta llegar a afectar a las estructuras del soporte del diente, incluyendo el hueso alveolar (Bonet, 2014), con la pérdida subsecuente de la inserción al cemento y, finalmente, la pérdida del diente. (Kawar, et al., 2011).

Otras complicaciones asociadas a la enfermedad periodontal es la bacteriemia, se ha descrito que la periodontitis puede afectar a la incidencia y el espectro bacteriano de la

bacteriemia, además la enfermedad periodontal puede ser un factor de riesgo significativo en el desarrollo de enfermedades sistémicas y síndromes geriátricos., (Vera, 2008), (IMSS, 2012).

En México según los resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patología Bucal (SIVEPAB) del año 2020, realizado a diferentes grupos de edad de 20 a 34, de 35 a 49, de 50 a 64, de 65 a 79 y de 80 y más años se observó una prevalencia de gingivitis de casi el 50% en todos los grupos de edad. Lo que demuestra que la gingivitis puede afectar a cualquier grupo de edad y es por esto que se debe tomar la importancia bucodental (SIVEPAB, 2020).

El objetivo del tratamiento de la enfermedad periodontal es reducir la inflamación y mejorar el estado de la encía, en su etapa previa; gingivitis. La gingivitis es reversible siempre y cuando se elimine la placa bacteriana que se encuentre alrededor de los dientes (Barbed, 2010).

En la Guía de Práctica Clínica Diagnóstico y Manejo de los Problemas Bucal en el Adulto Mayor la gingivitis y diversos trastornos bucodentales, 2012, se establece que en el tratamiento a los pacientes con enfermedad periodontal debe incluirse además del tratamiento del estomatólogo una terapia complementaria que incluye; control de factores de riesgo, utilización de antibióticos locales o sistémicos, cepillado dental, uso de hilo dental, pulido y profilaxis, dependiendo del estado de la enfermedad periodontal y enjuagues bucales con clorhexidina 0.12%, es decir; los productos indicados para mejorar la gingivitis tienen que estar formulados con activos que combatan los tres problemas principales que se asocian a la periodontitis inicial: placa, sangrado e inflamación. (Barbed, 2010).

En este trabajo se estudia la actividad antimicrobiana del romero, un método natural con fines medicinales que entre las enfermedades para las que se emplea, destacan enfermedades inflamatorias y el tratamiento de lesiones orales. (Flores-Villa, et al., 2020).

Composición química

El aceite esencial de romero tiene una composición que varía según la procedencia de la planta, por ejemplo: una planta de romero proveniente de Guatemala puede contener metabolitos o la cantidad de estos puede ser diferente con una planta de romero proveniente de México, también se debe considerar la parte de la planta obtenida y la manera en la que este se recolecta. (AGEXPORT, 2021).

De esta manera podemos diferenciar 3 quimiotipos diferentes: cineoliferum (este contiene un alto porcentaje de 1,8-cineol), camforiferum (con más de 20% de alcanfor) y verbenoniferum (con más de un 15% de verbenona). (Mauricio & Manuel, 2019), (AGEXPORT, 2021).

El aceite esencial de romero contiene diversos componentes principales los cuales son: alcanfor, 1,8-cineol, apineno y otros monoterpenos como borneol, β -pineno, limoneno y p-cimeno, también existen lactonas sesquiterpénicas (carnosol, rosmanol, epirosmanol, isorosmanol, 7-metoxirosmanol, rosmadial); ácidos triterpénicos (ácido ursólico, ácido betulínico); alcoholes triterpénicos (α y β -amirina, betulina); ácidos fenólicos (cafeico, clorogénico, rosmarínico); flavonoides (luteolina, apigenina, genkwanina, diosmetina, hispidulina, 5-hidroxi-7, 4-dimetoxiflavona, cirsimaritina) y los correspondientes heterósidos. (AGEXPORT, 2021), (Avila-Sosa, et al., 2011) Diterpenos como lo son la picrosalvina, el carnosol, el isorosmanol, rosmadial, rosmaridifenol y romariquinona, y triterpenos como el ácido oleanólico y ursólico, y sus 3-acetil-ésteres. De igual forma dentro de su composición hay flavonoides tales como la cirsimarina, diosmina, hesperidina, homoplantiginina, fegolopolina, nepetina y nepitrina, y polifenoles como lo son el ácido rosmarínico, ácido clorogénico, ácido cafeico y ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico. Los compuestos activos de la salvia y el romero son los ácidos fenólicos, flavonoides, pigmentos naturales (capsaicina y curcumina) y terpenos (rosmanol, ácido carnósico, carnosol, epirosmanol e isorosmanol). (Avila-Sosa, et al., 2011).

Porphyromonas gingivalis

Porphyromonas gingivalis es una bacteria gram negativa la cual crece de manera anaerobia y puede producir varios factores de virulencia, como lo es su capacidad de infectar células periodontales obteniendo así mismo una protección contra las defensas del huésped. Esta bacteria se ha convertido en un factor de riesgo para las infecciones pulmonares, parto pretérmino y bajo peso al nacer. Su presencia en placas ateroscleróticas puede incrementar el riesgo de infarto al miocardio. (Orrego-Cardozo, et al., 2015).

Morfología: Esta bacteria es un bacilo corto o cocobacilo, midiendo de 0.5 - 0.8 μm x 1 - 3.5 μm , anaerobio, gram negativa, que habita el área subgingival. La pared celular contiene endotoxinas a nivel de la membrana externa, no tiene flagelos, no son esporulados, son capsulados y tienen abundantes fimbrias de diversos tipos, de manera superficial muestra vesículas las cuales contienen una gran variedad de enzimas. Es posible que produzca una gran cantidad de múltiples enzimas con la gran capacidad de degradar los compuestos proteicos. (Perfecto, et al., 2011).

Enterococcus faecalis

Los Enterococci se consideran entre los principales agentes causales de infecciones nosocomiales, sobre todo destacan *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. Actualmente, se clasifican como la segunda o tercera causa de infecciones nosocomiales en Estados Unidos, son responsables de infecciones graves como septicemia, infecciones del sistema nervioso central (SNC), infecciones de piel y tejidos blandos, endocarditis, neumonía

y sepsis intraabdominal. (Arredondo, et al., 2018) y en la cavidad oral se ha encontrado en periodontitis apical (Ardila, et al., 2014).

Morfología: *Enterococcus faecalis* en agar sangre pueden identificarse por las colonias pequeñas, lisas y de borde uniforme, de coloración blanquecina o crema y en el agar telurito es posible observarse en colonias con coloración negra. (Ryan, et al., 2021)

Dentro de la patogenia los *Enterococcus faecalis* se encuentran en cavidad oral a pesar de que esta bacteria tiene como hábitat regular el intestino también se ha identificado en la mucosa oral, lengua, bolsas periodontales y conductos radiculares (Ardila, et al., 2014).

MATERIALES Y MÉTODOS

Bacterias

Se utilizaron *P. gingivalis* ATCC 32777 y *E. faecalis* ATCC 24212.

Prueba de sensibilidad

El material vegetal de romero se obtuvo en el mercado ubicado en la ciudad de Chilpancingo, Guerrero; Baltazar R Leyva Mancilla, se eligieron las partes aéreas en condiciones óptimas, se usó material fresco, mediante Soxhlet se realizó la extracción de los metabolitos del romero. Se utilizaron 400 ml de etanol para 60 gr de romero, el cual realizó 3 ciclos para la obtención de extracto etanólico de romero, una vez obtenido el extracto etanólico se realizó el proceso de destilación, para obtener el aceite esencial.

La prueba de sensibilidad microbiana se realizó por el método Kirby-Bauer, en agar muller hinton, se sembró *P. gingivalis* y *E. faecalis*, se utilizaron discos de papel filtro impregnados con aceite esencial de romero, agua destilada (control -), Digluconato de clorhexidina al 0.12% (control +) para *P. gingivalis*, Ampicilina en concentración de 10 mg (control +) para *E. faecalis* se incubó durante 24 horas en condiciones de anaerobiosis cada prueba se realizó por triplicado.

Tras depositar los discos en la placa, éstas se incubaron en posición invertida durante el tiempo y la temperatura adecuada para el crecimiento del microorganismo. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, se midió el halo de inhibición con un vernier. La presencia y el tamaño del halo nos proporciona información sobre la capacidad antimicrobiana del compuesto estudiado. (Pérez Esteve, & Rivas Soler, 2021).

RESULTADOS

P. gingivalis ATCC 32777 presentó sensibilidad ante el aceite esencial de romero teniendo un halo promedio de 26 mm siendo mayor que el Digluconato de clorhexidina que obtuvo un halo promedio de 23 mm. Ver Tabla 1 y figura 1.

Tabla 1
Halo de inhibición del aceite esencial de *Salvia rosmarinus* (romero) contra *P. gingivalis* ATCC 32777 y *E. faecalis* ATCC 24212

Microorganismo	<i>Salvia rosmarinus</i>	Digluconato de clorhexidina (C+)	Ampicilina (C+)	Agua destilada (C-)
	Diámetro	Diámetro	Diámetro	Diámetro
<i>P. gingivalis</i> ATCC 32777	26 mm	23 mm	--	0 mm
<i>E. faecalis</i> ATCC 24212	13.5 mm	--	27 mm	0 mm

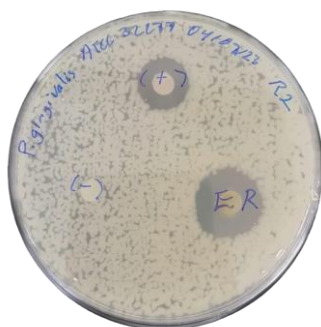


Figura 1. Halo de inhibición del aceite de romero contra *P. gingivalis*.

E. faecalis ATCC 29212 después de 24 y 48 horas de incubación el aceite de romero generó sensibilidad con un halo de 13.5 mm, la Ampicilina con un halo de 27 mm. Ver tabla 1 y figura 2-3.

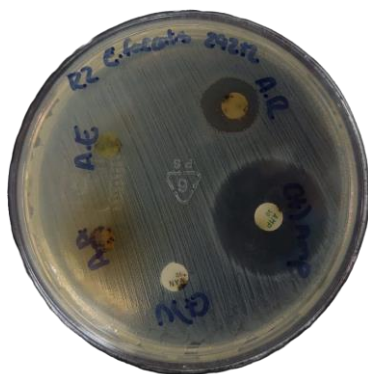


Figura 2. Halo de inhibición del aceite de romero contra *E. faecalis* 24 hrs

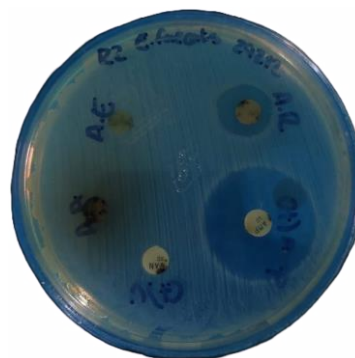


Figura 3. Halo de inhibición del aceite de romero contra *E. faecalis* 48 hrs

DISCUSIÓN

En el presente estudio se obtuvieron resultados que mostraron una actividad antimicrobiana in vitro con una concentración de 60 mg/ml teniendo un halo inhibición de 26 mm contra *P. gingivalis* ATCC 32777 y 13.5 mm contra *E. faecalis* ATCC de 24212, por el método de Kirby-Bauer.

Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Purca Peña, (2013), él utilizó un extracto etanólico de romero contra microorganismos presentes en saliva, obtuvo halos de inhibición con diámetros hasta de 20,56 mm, los halos de inhibición obtenidos fueron mayores que los obtenidos por los grupos controles (clorhexidina al 0.12%), nosotros encontramos una actividad del aceite de romero mayor al control positivo (clorhexidina 0.12%) con un halo de 26 mm contra *P. gingivalis*.

Diversos metabolitos se han señalado por tener actividad antimicrobiana contra diferentes bacterias, Purca Peña (2013) señala que la actividad antimicrobiana de *Rosmarinus officinalis* puede deberse a la acción de flavonoides, terpenoides, polifenoles, taninos y aceites esenciales, los cuales actúan sobre la membrana citoplasmática de las bacterias conduciendo a una pérdida de iones de potasio, generando autólisis de la célula bacteriana, de igual manera aumenta la permeabilidad de la membrana y desvanece su potencial, generando en la bacteria pérdida de su capacidad de motilidad, el transporte de la membrana y la síntesis de ATP, las hace vulnerables al ataque inmunológico y potencia los antibióticos, lo que puede explicar los resultados obtenidos en esta investigación.

Respecto a *E. faecalis* se obtuvo un halo de inhibición de 13.5 mm menor al obtenido por el control positivo (27 mm), así como al obtenido por el aceite contra *P. gingivalis*, sin embargo, no puede descartarse la actividad antimicrobiana sobre esta bacteria, más estudios se consideran necesarios donde se consideren diferentes concentraciones del aceite.

Consideramos que estos resultados pueden tomarse para señalar la importancia de la aplicación de fitofármacos en la terapia odontológica periodontal, donde el romero podría ser un excelente aliado contra las patologías periodontales.

CONCLUSIONES

El aceite esencial de romero tiene actividad antimicrobiana en la concentración evaluada contra los microorganismos probados, teniendo mayor actividad contra *P. gingivalis* lo que alienta su potencial en un futuro cercano como una alternativa terapéutica en la enfermedad periodontal.

REFERENCIAS

- AGEXPORT (Asociación de Exportadores de Guatemala). 2021. Romero, *Salvia rosmarinus*. Proyecto: "Mipymes y Cooperativas + Cooperativas". Guatemala, Guatemala. <https://www.export.com.gt/documentos/guia-de-cultivos/guia-de-cultivo-de-romero.pdf>

- Ardila Medina, Carlos Martin, Maggiolo Villalobos, Silvana, Dreyer Arroyo, Erik., Armijo Pérez, Jacqueline, & Silva Steffen, Nora. (2014). *Enterococcus faecalis* en dientes con periodontitis apical asintomática. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 18(4), 415-423. Recuperado en 31 de marzo de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552014000400007&lng=es&tlng=es. *Enterococcus faecalis* en dientes con periodontitis apical asintomática. (2014). *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 18(4). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552014000400007
- Arredondo, J. L., Echeguren, A. M., Arzate, P., & Medina, J. H. (2018). Susceptibilidad antimicrobiana de *Enterococcus faecalis* y *faecium*. *Rev Latin Infect Pediatr*, 31, 56-61.
- Avila-Sosa, R., Navarro-Cruz, A. R., Vera-López, O., Dávila-Márquez, R. M., Melgoza-Palma, N., & Meza-Pluma, R. (2011). Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): Una revisión de sus usos no culinarios. *Ciencia y Mar*, 43, 26–36. Recuperado de <https://biblat.unam.mx/hevila/Cienciaymar/2011/no43/3.pdf>
- Barbed, L. A. (2010). Gingivitis. *Farmacia profesional*, 24(2), 66-68. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-gingivitis-X0213932410485638>
- Bonet, R., & Garrote, M. (2014). Enfermedades periodontales. *Farmacia profesional*, 28(1), 23-27.
- Flores-Villa, E., Sáenz-Galindo, A., Castañeda-Facio, A. O., & Narro-Céspedes, R. I. (2020). Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): Su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. *Tip revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 26. doi:10.22201/fesz.23958723e.2020.0.266
- Kwar, N., Gajendrareddy, P. K., Hart, T. C., Nouneh, R., Maniar, N., & Alratty, S. (2011). Periodontal disease for the primary care physician. *Disease-a-Month*, 57(4), 174–183. doi: 10.1016/j.disamonth.2011.03.003
- Mauricio, L., & Manuel, A. (2019). Efecto Antibacteriano del *Rosmarinus Officinalis* en la disminución del *Streptococcus Mutans*, Adolescentes entre los 12 Y 15 Años de edad, Cerro de Pasco del 2018.
- Orrego-Cardozo, Mary, Parra-Gil, María Alejandra, Salgado-Morales, Yenny Paola, Muñoz-Guarín, Erika, & Fandiño-Henao, Vanessa. (2015). *Porphyromonas gingivalis* y enfermedades sistémicas. *CES Odontología*, 28(1), 57-73. Retrieved March 30, 2024, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-971X2015000100006&lng=en&tlng=es.
- Pérez Esteve, E., & Rivas Soler, A. (2021). Determinación de la sensibilidad de los microorganismos frente a antimicrobianos de origen natural y la concentración mínima inhibitoria por métodos fenotípicos. Cantón, R. (2010). Lectura interpretada del

antibiograma: una necesidad clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28, 375–385. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.01.001>

- Perfecto, D. R., Nakata, H. M., & Cadillo, E. M. (2011). *Porphyromonas gingivalis*: patógeno predominante en la periodontitis crónica. *ODONTOLOGÍA SANMARQUINA*, 34–38. https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2011_n1/pdf/a11.pdf
- Purca Peña, T. P. (2013). *Efectividad antibacteriana "in vitro" del extracto etanólico de Rosmarinus officinalis (romero) sobre flora salival* (Para obtener el Título de Cirujano Dentista, UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS FACULTAD DE ODONTOLOGÍA). Recuperado de https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880127/efectividad-antibacteriana-in-vitro-del-extracto-etanolico-de-r_mnp4pV.pdf
- Ryan, K. J., Ahmad, N., Drew, W. L., Reller, L. B., & Weissman, S. (2021). *Microbiología Médica, CAPÍTULO 25: Estreptococos y enterococos* (8ª ed.). McGrawHill. Recuperado de <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3217§ionid=268780852> (Trabajo original publicado en 2021)
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (16 de abril de 2017). Del Mediterráneo llegó el romero a nuestras mesas. Recuperado de <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/del-mediterraneo-llego-el-romero-a-nuestras-mesas#:~:text=Los%20estados%20mexicanos%20productores%20de,por%20ciento%20del%20total%20nacional>
- Secretaría de Salud. (25 de marzo de 2023). 082. Caries, gingivitis y maloclusión, afecciones bucales más comunes entre la población mexicana. Recuperado de <https://www.gob.mx/salud/prensa/082-caries-gingivitis-y-maloclusion-afecciones-bucal-mas-comunes-entre-la-poblacion-mexicana> Instituto Mexicano del Seguro Social. Guía de la Práctica Clínica Diagnóstico y Manejo de los Diagnóstico y Manejo de los Problemas Bucal del A Problemas Bucal del Adultos Mayores dultos Mayores dultos Mayores. (2012). <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/583GER.pdf>
- SIVEPAB Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucal 2020. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/765740/resultadosSIVEPAB_2020.pdf
- Vera, J. M., Mestre, M. M., & Santana, P. S. (2008). Bacteriemia secundaria a procedimientos odontológicos periodontales. *Rev Esp Quimioter*, 21 (3), 153-156.