

Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Salvia macrophylla* (salvia) frente a aislados clínicos de *Streptococcus mutans*

Antibacterial effect of *Salvia macrophylla* (salvia) essential oil against clinical isolates of *Streptococcus mutans*

Medalith Celmira Vigo Lezma¹ <https://orcid.org/0000-0003-2314-3891>

Claudia Carolina Rodríguez-Ulloa^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-7159-6559>

Jessica Nathalie Bardales Valdivia¹ <https://orcid.org/0000-0002-2114-1211>

Marco Antonio Rivera-Jacinto¹ <https://orcid.org/0000-0002-9046-5359>

¹Universidad Nacional de Cajamarca, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Biología y Biotecnología. Cajamarca, Perú.

*Autor para correspondencia: claudiarodriguez@unc.edu.pe

RESUMEN

Introducción: La caries dental humana es una enfermedad crónica, infecciosa, transmisible y de origen multifactorial; el *Streptococcus mutans* es su principal agente etiológico. La *Salvia macrophylla* (salvia) es una planta nativa de Perú y de la que no se conocen reportes de actividad antimicrobiana que permitan establecer su eficacia y utilidad contra las bacterias cariogénicas.

Objetivo: Determinar el efecto del aceite esencial de *S. macrophylla* (salvia) sobre aislados clínicos de *S. mutans*.

Métodos: Estudio de tipo experimental *in vitro* con tres grupos de prueba y un grupo control. El aceite esencial de salvia se obtuvo mediante el método de destilación por arrastre de vapor de agua, el cual fue diluido con etanol al 96, 50 y 25 %. Las muestras clínicas se obtuvieron de pacientes con caries dental. Posteriormente, utilizando el método de difusión con discos, se evaluó el efecto inhibitorio del aceite esencial puro y de las dos diluciones obtenidas sobre todos los aislados; se

utilizó como control positivo la clorhexidina al 0,12 %. Los halos de inhibición medidos se compararon con los valores de la escala de Duraffourd.

Resultados: Se identificaron 17 aislados de *S. mutans*; se encontró que el aceite esencial de salvia al 100 % puro tuvo efecto inhibitorio sobre todos los aislados clínicos ensayados y se observó un diámetro promedio de 9,46 mm de halo inhibitorio, con lo cual se demuestra, según la escala de Duraffourd, la sensibilidad de estas bacterias al aceite esencial de salvia.

Conclusión: El aceite esencial de *S. macrophylla* 100 % puro presenta un notable efecto inhibitorio *in vitro* sobre aislados clínicos de *S. mutans*.

Palabras clave: aceites esenciales; caries dental; *streptococcus mutans*; salvia.

ABSTRACT

Introduction: Human dental caries is an infectious, chronic, transmissible disease of multifactorial origin, being *Streptococcus mutans* the main etiological agent of this disease. *Salvia macrophylla* is a plant native of Peru, popularly known as "salvia", and of which there are no known reports of antimicrobial activity that allow establishing its efficacy and usefulness against cariogenic bacteria.

Objective: Determinate the effect of *S. macrophylla* (salvia) essential oil on clinical isolates of *S. mutans*.

Methods: The study was experimental *in vitro*, with three test groups and a control group. The essential oil of salvia was obtained by the method of distillation by steam drag, which was diluted with ethanol at 96% to 50% and 25%. Clinical samples were obtained from patients with dental caries. Subsequently, using the disc diffusion method, the inhibitory effect of the pure essential oil and of the two dilutions obtained on all the isolates was evaluated, 0.12% chlorhexidine was used as a positive control. The measured inhibition zones were compared with the values of the Duraffourd scale.

Results: Seventeen isolates of *S. mutans* were obtained. 100% pure salvia essential oil had an inhibitory effect on all clinical isolates tested, observing inhibitory halos with a mean diameter of 9.46 mm which, according to the Duraffourd scale, demonstrates the *in vitro* sensitivity of these bacteria.

Conclusion: 100% pure salvia essential oil shows a remarkable *in vitro* inhibitory effect on clinical isolates of *S. mutans*.

Keywords: essential oils; dental caries; *streptococcus mutans*; salvia.

Recibido: 06/10/2023

Aceptado: 10/04/2024

Introducción

La caries dental humana es una enfermedad no transmisible causada por una disbiosis ecológica que converge en la formación de una biopelícula dental bacteriana y, aunque está modulada por la dieta, tiene un componente multifactorial dependiente del ambiente social, físico y del comportamiento de las personas.⁽¹⁾ Las tasas de prevalencia de caries no tratadas en dientes temporales y permanentes son altas en muchos lugares del mundo, incluido países de Latinoamérica y el Caribe.⁽²⁾ Varios microorganismos están involucrados en este proceso patológico, entre ellos destacan las bacterias del género *Streptococcus* y es el *Streptococcus mutans* el principal agente etiológico de esta enfermedad.⁽³⁾

El hábitat natural del *S. mutans* es la cavidad oral humana, específicamente, la biopelícula dental bacteriana que se forma en la superficie dura del diente. La capacidad cariogénica de esta bacteria reside en tres características principales: (1) su capacidad de sintetizar grandes cantidades de polímeros extracelulares a partir de sacarosa que permiten la colonización permanente de la superficie dental y el desarrollo de una matriz polimérica, (2) su capacidad de metabolizar una amplia gama de carbohidratos y transformarlos en ácidos orgánicos (acidogenicidad) y (3) su capacidad de crecer en condiciones de estrés ambiental, particularmente en pH bajo (acidez).⁽⁴⁾

En la actualidad el interés por la medicina tradicional y el tratamiento de enfermedades a base de plantas o sus extractos se ha incrementado, de ahí que numerosas investigaciones se han centrado en el estudio de los metabolitos secundarios con actividad antibacteriana que producen algunos vegetales,⁽⁵⁾

incluso sobre bacterias que causan caries dental, periodontitis y lesiones endodónticas. A pesar de las estrategias modernas basadas en el diseño racional de drogas, los componentes fitoquímicos obtenidos de plantas siguen siendo una fuente importante de productos farmacéuticos que, además, reducen las posibilidades de enfrentar efectos secundarios como los que se presentan con el uso de los fármacos.⁽⁶⁾ En esta línea, algunas especies vegetales han mostrado tener efecto antibacteriano contra el *S. mutans*^(7,8) e, incluso, algunos componentes han sido probados en formulaciones de enjuagues bucales, pasta dental o geles; entre los extractos, los aceites esenciales de algunas especies vegetales han mostrado capacidad para reducir la carga del *S. mutans* en la saliva.

El género vegetal *Salvia* es el más grande de la familia Lamiaceae con aproximadamente 1000 especies distribuidas en casi todo el mundo; este género también es muy diverso en los Andes de América del Sur; Perú es el país que tiene la mayor diversidad con 77 especies, de las cuales 49 son endémicas.⁽⁹⁾ *Salvia officinalis* es la especie más conocida y algunos estudios han revelado su amplia actividad farmacológica, anticancerígena, antiinflamatoria, antioxidante, hipoglucémica y antimicrobiana.⁽⁵⁾

Un estudio reciente evaluó la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de catorce plantas, entre ellas la *S. officinalis*, contra microorganismos involucrados en enfermedades orales como el *S. mutans* y especies de *Lactobacillus* aisladas de pacientes con cirugía dental, se encontró un efecto inhibitorio leve contra ambas bacterias.⁽¹⁰⁾ Asimismo, de la *S. officinalis* se obtuvo uno de los cinco aceites esenciales que exhibió mayor inhibición bacteriana (diámetros de hasta 40 mm) contra el *S. mutans* en un estudio que buscaba tratamientos alternativos contra patógenos orales.⁽¹¹⁾

La *Salvia macrophylla* es una herbácea perenne nativa, reportada en el norte y centro del Perú⁽¹²⁾ y recientemente se la ha descrito en la provincia de Santa Cruz – Cajamarca.⁽¹³⁾ Las personas que practican la medicina tradicional en la sierra peruana, incluyendo Cajamarca, recomiendan emplear las hojas de esta salvia para la limpieza de los dientes; sin embargo, no se conoce reportes científicos ni estudios de la actividad antimicrobiana de esta especie que permita establecer su utilidad contra bacterias cariogénicas. Por ello, el objetivo de este estudio fue

determinar el efecto del aceite esencial de *S. macrophylla* (salvia) sobre aislados clínicos de *S. mutans* obtenidos de pacientes con caries dental.

Métodos

El estudio fue de tipo experimental *in vitro*, con tres grupos de prueba y un grupo control. Sesenta y tres pacientes mayores de 18 años con caries dental en alguno de los molares se seleccionaron, mediante muestreo por conveniencia, y aceptaron participar del estudio voluntariamente. Ellos fueron atendidos en un centro dental privado de la ciudad de Cajamarca, en la sierra norte de Perú; en este mismo lugar se colectaron las muestras por el médico especialista. De estas muestras se aislaron e identificaron la *S. mutans*; luego todos los aislados se sometieron a las pruebas con el aceite esencial puro (100 %) y sus diluciones (al 50 y 25 %) y con la clorhexidina acuosa al 0,12 %, empleada como control positivo de la actividad antibacteriana.

Las variables empleadas en el estudio fueron:

- Concentración del aceite esencial de *S. macrophylla*-categorías: 25, 50 y 100 %.
- Diámetro del halo de inhibición, expresado en milímetros (mm).
- Grado de sensibilidad-categorías: sensibilidad nula (diámetro de halo ≤ 8 mm), sensible ($> 8 - \leq 14$ mm), muy sensible ($> 14 - \leq 20$ mm) y sumamente sensible (> 20 mm)

Técnicas y procedimientos

Colección de la muestra vegetal

Se trabajó con plantas de *S. macrophylla* procedentes del centro poblado La Huaylla, provincia de San Marcos, Región Cajamarca-Perú, ubicado a una altitud de 2251 m. s. n. m, latitud de 07°20'10", longitud de 78°10'22". Se trasladó un ejemplar de la planta al Herbario "Isidoro Sánchez Vega" de la Universidad Nacional de Cajamarca para su identificación taxonómica. Posteriormente, se colectó

aproximadamente 8 kg de hojas frescas de *S. macrophylla* (salvia) y se trasladó al laboratorio de la Universidad. Las hojas se lavaron con agua potable y se descartaron aquellas deterioradas por agresiones ambientales y por insectos.

Obtención del aceite esencial de *S. macrophylla*

A partir de las hojas seleccionadas se procedió a obtener el aceite esencial por el método de arrastre de vapor de agua.⁽¹⁴⁾ Posteriormente, el aceite esencial puro fue diluido al 50 y 25 %, utilizando etanol al 96 %. El aceite esencial puro (100 %) y las otras dos concentraciones se almacenaron en frascos de vidrio estériles de color ámbar, con cierre hermético y bajo refrigeración a 4 °C hasta su posterior uso.

Obtención de muestras clínicas

Las muestras se obtuvieron del diente que presentó caries, utilizando un hisopo estéril embebido en medio líquido *infusión cerebro corazón* (BHI) (Oxoid™). Cada muestra se depositó en un tubo de ensayo con tapa rosca, que contenía 5 ml de BHI estéril; inmediatamente se trasladaron, bajo cadena de frío, al Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Cajamarca, Perú.

Aislamiento e identificación de *S. mutans*

Las muestras obtenidas se sembraron por estría en placas con agar sangre (Oxoid™). Las placas se incubaron en jarras de anaerobiosis con 5 % de CO₂ a 37 °C por 72 horas. Se examinaron de 5 a 20 colonias por placa; se seleccionaron aquellas con características de *S. mutans* (colonias adherentes, blanco grisáceas, con superficie rugosa, apariencia de vidrio esmerilado y consistencia dura, que no pudieron ser disgregadas cuando se manipularon con un asa de platino); se realizó coloración Gram de las colonias sospechosas (estreptococos grampositivos) y, adicionalmente, se realizó la prueba de catalasa (catalasa negativa).

Los aislados seleccionados con las características adecuadas se sometieron al sistema de identificación de estreptococos *Strepto System 12R* (Liofilchem®, Italia), siguiendo las instrucciones del fabricante, el cual permitió la comparación de sus perfiles bioquímicos, mediante el uso de 12 pruebas bioquímicas preestablecidas. Los aislados se conservaron en viales con agar sangre en refrigeración hasta su posterior evaluación.

Control de calidad

Para el control de calidad de los procedimientos microbiológicos se empleó la cepa de referencia *S. mutans* ATCC® 25175™. La cepa también se utilizó para las evaluaciones del efecto antibacteriano del aceite esencial de salvia.

Evaluación de efecto antibacteriano de salvia

Para este propósito se empleó el método de difusión con disco en agar. De cada cultivo puro de *S. mutans* con 18 h de incubación se procedió a obtener una suspensión bacteriana en caldo BHI, ajustada por comparación visual a la turbidez equivalente al tubo N° 0,5 en la escala de Mac Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml). Luego se inoculó 100 µL de la suspensión sobre placas con agar Mueller Hinton sangre y se dispersó, utilizando un hisopo en todas las direcciones.

Posteriormente, discos de papel de filtro de 6 mm se embebieron en 80 µL del aceite esencial de *S. macrophylla* a las diferentes concentraciones (puro, 50 y 25 %); de igual manera se prepararon discos en una solución de clorhexidina al 0,12 % (control positivo del efecto antimicrobiano) y discos con alcohol al 96 % (testigo). A continuación, se colocaron los cinco discos sobre cada placa inoculada con la suspensión bacteriana y se incubaron en jarras de anaerobiosis con 5 % de CO₂ a 37 °C por 72 horas. Luego de la incubación se realizó la medición de los diámetros de los halos de inhibición (en mm), utilizando un calibrador vernier y se procedió a su comparación con los valores de la escala de sensibilidad de Duraffourd y otros.⁽¹⁵⁾ Todos los ensayos se realizaron por triplicado. Este procedimiento se llevó a cabo, tanto para los aislados clínicos, como para la cepa de referencia ATCC 25175.

Para la interpretación de los resultados en la evaluación de tipo cuantitativa se tomó como referencia los diámetros de halo de inhibición y las pautas establecidas por Duraffourd y otros.⁽¹⁵⁾ La escala de Duraffourd tiene cinco categorías: sensibilidad nula, sensible, sensibilidad media, muy sensible y sumamente sensible.

Técnicas de procesamiento y análisis

Los datos se ingresaron y procesaron en una base de datos construida con el software IBM SPSS Statistics versión 23. Para el diámetro de los halos de inhibición se calcularon medidas de tendencia central (media aritmética, mediana) y de

dispersión (desviación estándar); además, se corroboró su normalidad usando el Test de Shapiro-Wilk. Para realizar las comparaciones del efecto inhibitorio entre los grupos experimentales (aceite esencial de salvia al 100, 50 y 25 %), frente a los grupos control (clorhexidina 0,12 % y alcohol 96 %), se aplicó la prueba Kruskal Wallis. Se aplicó el test de ji al cuadrado para establecer la asociación entre los grupos y el grado de sensibilidad. Se trabajó con un nivel de significancia estadística $p < 0,05$.

Aspectos éticos

Debido a que la *S. mutans* se aisló de muestras de pacientes con caries dental, se tuvieron en cuenta las siguientes consideraciones éticas: el protocolo del estudio se aprobó por el Comité de Ética de la Universidad Nacional de Cajamarca (registrado en el libro del Comité con el Código N° 005-2021). Luego de la aprobación se inició el estudio; a los pacientes se les explicaron, inicialmente, los objetivos, la metodología y la confidencialidad de los datos; luego se tomó por escrito el consentimiento informado a cada paciente.

Resultados

Se obtuvieron 17 aislados de *S. mutans* identificados con el panel comercial *Strepto System* 12R (fig. 1). Estos aislados y la cepa de referencia se sometieron a la acción del aceite esencial de salvia en diferentes concentraciones (100, 50 y 25 %), utilizando como control de la actividad antimicrobiana a la clorhexidina y como testigo al alcohol al 96 %; el efecto antimicrobiano se determinó al medir los halos de inhibición, cuyos diámetros se muestran en la tabla 1. Para el caso del testigo no se observó halos de inhibición en ninguno de los ensayos con los aislados.



Fuente: elaboración propia.

Fig. 1 – Perfil bioquímico de los aislados de *S. mutans* 34,1CMVL y 29,1CMVL con el empleo del panel *Strepto System* 12R (Liofilchem®, Italia).

Tabla 1 - Diámetros del halo de inhibición producido por diferentes concentraciones del aceite esencial de *S. macrophylla* y clorhexidina sobre 17 aislados clínicos de *S. mutans*

Aislados	Diámetro del halo de inhibición (mm)			
	AES			CHX 0,12 %
	100 %	50 %	25 %	
ATCC 25175	8,00 ± 1,00	7,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	15,67 ± 1,53
63,11CMVL	9,33 ± 1,15	8,33 ± 1,15	6,33 ± 0,58	13,67 ± 1,15
34CMVL	8,67 ± 0,58	7,33 ± 0,58	6,67 ± 0,58	10,33 ± 3,21
27CMVL	8,33 ± 0,58	8,67 ± 0,58	6,33 ± 0,58	14,00 ± 0,00
29.1CMVL	9,00 ± 1,73	7,67 ± 0,58	6,33 ± 0,58	7,00 ± 0,00
9CMVL	9,33 ± 0,58	7,67 ± 0,58	6,00 ± 0,00	8,00 ± 1,00
24CMVL	11,67 ± 3,79	8,67 ± 0,58	6,67 ± 0,58	12,33 ± 0,58
23CMVL	10,00 ± 2,65	7,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	8,67 ± 1,53

34.1CMVL	10,00 ± 1,00	7,33 ± 0,58	6,00 ± 0,00	8,33 ± 1,53
16CMVL	9,67 ± 1,53	7,67 ± 1,15	6,33 ± 0,58	8,00 ± 0,00
68,1CMVL	8,67 ± 1,15	7,33 ± 0,58	6,00 ± 0,00	13,67 ± 0,58
71,1CMVL	9,67 ± 1,15	7,33 ± 0,58	6,33 ± 0,58	14,33 ± 0,58
62CMVL	9,67 ± 0,58	8,00 ± 0,00	6,67 ± 0,58	12,67 ± 0,58
88CMVL	9,00 ± 1,00	7,67 ± 0,58	6,33 ± 0,58	13,00 ± 1,73
97CMVL	9,33 ± 0,58	8,00 ± 0,00	7,00 ± 0,00	13,67 ± 2,52
94CMVL	10,67 ± 1,15	8,67 ± 0,58	7,00 ± 0,00	12,67 ± 0,58
99CMVL	9,67 ± 0,58	7,33 ± 0,58	6,00 ± 0,00	12,67 ± 1,53
98CMVL	9,67 ± 1,15	7,67 ± 0,58	6,67 ± 0,58	12,33 ± 2,52

Leyenda: AES: aceite esencial de *S. macrophylla*; CHX: clorhexidina; media ± desviación estándar.

Fuente: Elaboración propia.

Las principales medidas descriptivas del estudio se muestran en la tabla 2. El aceite esencial puro de salvia (al 100 %) presentó la mayor actividad antibacteriana, con diámetros de halos de inhibición en promedio mayores a 9 mm, en comparación con las concentraciones al 50 y 25 %. En tanto que el control positivo, *test* con clorhexidina para cada uno de los aislados, generó halos de inhibición en promedio mayor a 11 mm. La prueba de Kruskal Wallis detectó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales ($p < 0,05$), pero no entre el aceite esencial puro (AES 100 %) y la clorhexidina al 0,12 % (tabla 2).

Tabla 2 - Medidas descriptivas de los halos de inhibición (en mm) producidos por el aceite esencial de *S. macrophylla* sobre el *S. mutans*

Grupo	Media	Desviación estándar	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo
AES 100 %	9,46 ^a	0,85	9,50	7,00	16,00
AES 50 %	7,74 ^b	0,54	7,67	7,00	9,00
AES 25 %	6,37 ^c	0,48	6,00	6,00	7,00
CHX 0,12 %	11,72 ^a	2,62	12,67	7,00	17,00

Leyenda: AES: aceite esencial de *S. macrophylla*; CHX: clorhexidina; valores con letras diferentes denotan diferencias significativas entre los grupos; prueba de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Fuente: Elaboración propia.

En relación con la sensibilidad que presentaron los aislados, y de acuerdo con lo establecido en la escala de Duraffourd, *S. mutans*, fue sensible a las concentraciones del aceite de salvia al 50 y al 100 %. Al comparar los diferentes grupos experimentales se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre ellos (tabla 3). Ninguno de los aislados presentó sensibilidad media ni fue muy sensible ni sumamente sensible (grados de la escala de Duraffourd) a las distintas concentraciones del aceite esencial, debido a ello, los aislados solo se clasificaron en las categorías de sensibilidad nula y sensible.

Tabla 3 - Distribución de los aislados *S. mutans* (en %) según grupo y su grado de sensibilidad en la escala de Duraffourd

Grupo	Escala de Duraffourd		p valor*
	Sensible ¹	Sensibilidad nula ²	
AES 100 %	94,44	5,56	< 0,05
AES 50 %	22,22	77,78	
AES 25 %	0	100	
CHX 0,12 %	83,3	16,7	

Leyenda: AES: Aceite esencial de *S. macrophylla*; CHX: Clorhexidina; ¹Cuando el diámetro del halo es > 8 mm; ²Cuando el diámetro del halo es ≤ 8 mm; * χ^2 de Pearson = 45,78.

Fuente: Elaboración propia.

Discusión

La medicina tradicional ha demostrado tener efectos beneficiosos en el tratamiento de diversas enfermedades, debido a los principios activos que están presentes en las especies vegetales.⁽¹⁶⁾ La *Salvia macrophylla* es una planta nativa de la sierra norte del Perú y comúnmente utilizada como alternativa fitoterapéutica en varias regiones.⁽¹²⁾ Por otro lado, las investigaciones acerca del uso de aceites esenciales para prevenir, tratar y controlar bacterias que ocasionan caries o enfermedades periodontales son útiles, tanto en Odontología como en la salud oral en general⁽¹¹⁾ y han surgido como una alternativa menos costosa frente a las drogas de elección existentes, las cuales, además, pueden desencadenar la aparición de resistencia.⁽¹⁷⁾

Diversos géneros vegetales y sus extractos se han ensayado en busca de esos principios activos útiles para tratar afecciones odontológicas;^(7,8) sin embargo, la diversidad de especies útiles puede ser variable en distintas regiones. En el presente estudio la *S. macrophylla* ha mostrado tener actividad antimicrobiana contra la bacteria *S. mutans*, incluso sobre aislados que mostraron una reducida susceptibilidad frente al antimicrobiano empleado como control positivo (tabla 1), lo que constituye el primer reporte de actividad antimicrobiana para esta especie. Con la técnica de difusión en agar y el empleo de un disco embebido con aceite esencial puro de salvia (concentración al 100 %) se pudo determinar, dado el diámetro promedio mayor a 8 mm (tabla 2), que todos los aislados clínicos de *S. mutans* fueron sensibles al principio antibacteriano contenido en esta especie vegetal, clasificado como tal por la escala de Duraffourd;⁽¹⁵⁾ además, algunos aislados también mostraron sensibilidad al aceite esencial al 50 % de concentración, pero no a la concentración del 25 % (tabla 3). Posiblemente, en esta última concentración el principio activo antimicrobiano se diluye demasiado y pierde su capacidad de acción sobre las bacterias.

Hallazgos similares se observaron en un estudio realizado por Agrawal y otros,⁽¹⁸⁾ en el que evaluó la actividad antibacteriana de la *S. officinalis* (otra especie de salvia) sobre la *S. mutans* MTCC 497 y se obtuvieron halos de inhibición de $7,0 \pm 4,24$ mm de diámetro a las 24 horas. Por el contrario, un estudio que aplicó un bioensayo cuantitativo para examinar la actividad antimicrobiana de *S. officinalis*

vertida en un orificio mostró un diámetro de inhibición de 40 mm sobre la bacteria *S. mutans* ATCC 25175, lo que señala una notable actividad antibacteriana.⁽¹¹⁾

La clorhexidina es un antimicrobiano ampliamente utilizado desde hace más de tres décadas para el tratamiento de la caries dental producida por distintos agentes etiológicos, incluyendo la *S. mutans* y continúa siendo el medicamento disponible más efectivo en la prevención y tratamiento de la caries y enfermedades periodontales, pese a que ya hay reportes del desarrollo de resistencia en algunas especies bacterianas.⁽¹⁹⁾ Esto es importante de resaltar ya que las diferencias en el efecto inhibitorio de la clorhexidina sobre los aislados clínicos, en comparación con la cepa referencia (tabla 1), con diámetros de susceptibilidad reducidos (por ejemplo, los aislados 29,1CMVL, 9CMVL y 16CMVL) evidencian que estas bacterias están desarrollando algún nivel de resistencia a los antimicrobianos, lo cual no es un hecho aislado, ya que existen reportes de resistencia en bacterias orales, que forman parte de placa dental.^(20,21)

La resistencia antimicrobiana en la *S. mutans* y otros estreptococos orales ha sido documentada en varios estudios frente a distintos grupos de antimicrobianos,^(22,23) pero aún no ha sido demostrada frente a la clorhexidina. Sin embargo, bajo un enfoque preventivo y, dada la escasez de opciones terapéuticas para enfrentar la multidrogorresistencia, el empleo de los principios activos vegetales puede considerarse una prometedora alternativa. Como se ha indicado líneas arriba, en este estudio algunos de los aislados con sensibilidad reducida a la clorhexidina fueron sensibles al aceite esencial puro; por tanto, debe considerarse la posibilidad de uso del aceite esencial de salvia como una alternativa útil contra bacterias resistentes a los antimicrobianos.

Es importante destacar que la prueba estadística estableció que, entre los diámetros de inhibición obtenidos con el aceite esencial de salvia a la concentración de 100 % y la clorhexidina, no se observaron diferencias significativas, lo cual es un indicio de que ambas sustancias tendrían una acción inhibitoria similar sobre la *S. mutans*. El efecto observado a esta concentración se debería a la naturaleza química del aceite esencial puro; si bien en este estudio no se realizó la identificación de la composición química del aceite esencial de *S. macrophylla*, diversas investigaciones realizadas con otras especies del mismo

género, principalmente con *S. officinalis*, describen la existencia de varios principios antimicrobianos, por ejemplo algunos monoterpenoides descritos en el estudio de Ntodini y otros.⁽¹¹⁾ Además, en este observaron, utilizando la microscopía electrónica de barrido, que se producían daños y alteraciones en la membrana bacteriana, que afectaron la permeabilidad de la bicapa lipídica de *S. mutans*, al interaccionar con el aceite esencial de *S. officinalis*, lo cual provocó la pérdida del contenido celular bacteriano.

Definitivamente, un factor importante de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de salvia son sus fitoconstituyentes, entre ellos el β -mirceno y el canfor,⁽¹¹⁾ así como el α - y β -pineno y el 1,8-cineol, que se reportaron en investigaciones realizadas por Khedher⁽²⁴⁾ y Asadollahi.⁽²⁵⁾

Zhang informó que el β -pineno es un componente relacionado con el efecto inhibitorio de la *S. mutans*, ya que este compuesto tiene enlaces insaturados en su estructura molecular que proporcionan sitios de unión a los aminoácidos de la cadena lateral de la glucosiltransferasa bacteriana, lo cual disminuye su estabilidad, altera significativamente la formación del biofilm dentario y reduce la virulencia de la *S. mutans*,⁽²⁶⁾ sin embargo, se necesitan estudios adicionales para aclarar el mecanismo preciso.

Por otro lado, en la investigación desarrollada por Park⁽²⁷⁾ se pudo comprobar que el monoterpeno α -pineno presentó un efecto importante sobre las bacterias cariogénicas, su crecimiento, la producción de ácido y la formación de biofilm, incluso con actividad bactericida sobre la *S. mutans*. Asimismo, Rasooli⁽²⁸⁾ determinó que el α -pineno y 1,8-cineol eran principios activos muy importantes para inhibir la formación del biofilm generado por diversas bacterias cariogénicas.

Se concluye que el aceite esencial puro de *S. macrophylla* (concentración al 100 %) presentó un notable efecto antibacteriano *in vitro* sobre los aislados clínicos de la *S. mutans* provenientes de pacientes con caries dental.

Referencias bibliográficas

1. MacHiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, Jablonski-Momeni A, *et al.* Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* 2020 [acceso 26/07/2022];54(1):7-14. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31590168/>
2. Sampaio F, Bonecker M, Paiva S, Martignon S, Ricomini Filho AP, Pozos-Guillen A, *et al.* Dental caries prevalence, prospects, and challenges for Latin America and Caribbean countries: a summary and final recommendations from a Regional Consensus. *Braz Oral Res.* 2021 [acceso 26/07/2022];35(01):e056. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/bor/a/4JH4dqqBmVtYRn3JdR9B5yy/?lang=en>
3. Cui T, Luo W, Xu L, Yang B, Zhao W, Cang H. Progress of antimicrobial discovery against the major cariogenic pathogen *Streptococcus mutans*. *Curr Issues Mol Biol.* 2019 [acceso 26/07/2022];32:601-44. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1467-3045/32/1/14>
4. Lemos JA, Burne RA. A model of efficiency: stress tolerance by *Streptococcus mutans*. *Microbiology.* 2008 [acceso 26/07/2022];154(11):3247-55. Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/docserver/fulltext/micro/154/11/3247.pdf?expires=1696474288&id=id&accname=guest&checksum=A23B24FAC7A968201CA1619D02890F63>
5. Ghorbani A, Esmailizadeh M. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med* 2017;7:433-40. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5634728/pdf/main.pdf>
6. Uritu CM, Mihai CT, Stanciu GD, Dodi G, Alexa-Stratulat T, Luca A, *et al.* Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: A review. *Pain Res Manag.* 2018;7801543 DOI: <https://doi.org/10.1155/2018/7801543>
7. Aguilar-Ancori EG, Aguilar-Ancori KV, Garay B, Mamani V, Quispe-Flórez MM. Actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* de aceites esenciales de cinco plantas alto andinas. *Rev Peru Med Exp Salud Pública,* 2018 [acceso 26/07/2022];35(1):161-3. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3610/2964>

8. Cayo C, Cervantes L. La actividad antibacteriana de *Camellia sinensis* comparada con propóleo frente al *Streptococcus mutans*. Rev Cubana Estomatol. 2020 [acceso 26/07/2022];57(1):e2967. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072020000100009
9. González-Gallegos JG, Bedolla-García BY, Cornejo-Tenorio G, Fernández-Alonso JL, Fragoso-Martínez I, García Peña MR, *et al.* Richness and distribution of *Salvia* subg. *Calosphace* (lamiaceae). Int J Plant Sci. 2020;181(8):831-56. DOI: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/709133#>
10. Tardugno R, Pellati F, Iseppi R, Bondi M, Bruzzesi G, Benvenuti S. Phytochemical composition and in vitro screening of the antimicrobial activity of essential oils on oral pathogenic bacteria. Nat Prod Res 2017;32(5):544-51. DOI: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14786419.2017.1329730?scroll=top&needAccess=true>
11. Ntondini SS, Lenetha G, Dzogbewu TC. Antimicrobial activity of *Salvia officinalis* against *Streptococcus mutans* causing dental implant failure: An in vitro study. J Int Oral Heal 2021 [acceso 26/07/2022];13(5):499-507. Disponible en: <https://www.jioh.org/article.asp?issn=0976-7428;year=2021;volume=13;issue=5;spage=499;epage=507;aulast=Ntondini>
12. Wood JRI. *Salvia macrophylla*. Curtis's Bot Mag. 2018;35(1):75-88. DOI: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/curt.12226>
13. Santa Cruz Cervera L, Cano Echevarría A, La Torre MI, Rodríguez Rodríguez EF, Campos de la Cruz J. Inventario de la flora de angiospermas del distrito Pulán, provincia Santa Cruz, Cajamarca, Perú. Arnaldoa 2019 [acceso 26/07/2022];26(1):139-212. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v26n1/a08v26n1.pdf>
14. Rassem HHA, Nour AH, Yunus RM. Techniques for extraction of essential oils from plants: A review. Aust J Basic Appl Sci. 2016 [acceso 26/07/2022];10(16):117-27. Disponible en: <http://www.ajbasweb.com/old/ajbas/2016/November/117-127.pdf>
15. Duraffourd C, Lapraz Jd'HL. Cuadernos de fitoterapia clínica. Primera ed. Barcelona; 1987.

16. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Ginebra: 2013 [acceso 26/07/2022]. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf
17. Medeiros de Almeida C, de Souza EA, Ponchet E, de Freitas Lima R, Wanderley Y, Barbosa RC, *et al.* In vitro Evaluation of the Antimicrobial Potential of *Salvia officinalis* L. against Oral Pathogens. J Health Sci 2019;21(2):129-33. Disponible en: <https://journalhealthscience.pgsscogna.com.br/JHealthSci/article/view/5009>
18. Agrawal R, Yusufsaheb YG, Narasimhamurthy N, Itagi ABH, Kulshrestha R, Patil SR. Anti-Microbial Activity of Hempseed Oil and Sage Oil against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*: An In-Vitro Study. Pesqui Bras Odontopediatria Clín Integr 2021 [acceso 26/07/2022];21:e0251. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/pboci/a/djjCrZg6F8fq5qKcqJQzZhv/>
19. Kampf G. Acquired resistance to chlorhexidine—is it time to establish an ‘antiseptic stewardship’ initiative? Journal of Hospital Infection 2016;94(3):213-27. Disponible en: <https://www.journalofhospitalinfection.com/action/showPdf?pii=S0195-6701%2816%2930374-7>
20. Cieplik F, Jakubovics NS, Buchalla W, Maisch T, Hellwig E, Al-Ahmad A. Resistance Toward Chlorhexidine in Oral Bacteria—Is There Cause for Concern? Front Microbiol 2019 [acceso 26/07/2022];10(587):1-11. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6439480/pdf/fmicb-10-00587.pdf>
21. Saleem HGM, Seers CA, Sabri AN, Reynolds EC. Dental plaque bacteria with reduced susceptibility to chlorhexidine are multidrug resistant. BMC Microbiol 2016 [acceso 26/07/2022];16(1):1-9. Disponible en: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-016-0833-1>
22. Loyola-Rodríguez JP, Ponce-Díaz ME, Loyola-Leyva A, García-Cortés JO, Medina-Solis CE, Contreras-Ramire AA, *et al.* Determination and identification of antibiotic-resistant oral streptococci isolated from active dental infections in adults. Acta Odontol Scand, 2017;76(4):229-35. DOI: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00016357.2017.1405463>

23. Al-Taie SF, T. Al-Musawi M, Rasheed ZS. Distribution and Antibiotic Resistance of Streptococci and Enterococci Isolated from Dental Caries and Healthy People. JoMMID. 2022;10(2):48-53. DOI: <https://doi.org/10.52547/JoMMID.10.2.48>
24. Khedher MRB, Khedher SB, Chaieb I, Tounsi S, Hammami M. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. EXCLI J. 2017 [acceso 26/07/2022];16:160-73. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5427463/>
25. Asadollahi M, Firuzi O, Heidary Jamebozorgi F, Alizadeh M, Jassbi AR. Ethnopharmacological studies, chemical composition, antibacterial and cytotoxic activities of essential oils of eleven Salvia in Iran. J Herb Med 2019;17-18: 100250. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2018.11.006>
26. Zhang Q, Ma Q, Wang Y, Wu H, Zou J. Molecular mechanisms of inhibiting glucosyltransferases for biofilm formation in *Streptococcus mutans*. Int J Oral Sci;2021;13(1):1-8. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41368-021-00137-1>
27. Park BI, You YO, Mo JS, An SY, Choi NY, Kim KJ. Anti-cariogenic properties of α -pinene, a monoterpene in plant essential oil. Int J Oral Biol 2017;42(1):25-31. DOI: <https://doi.org/10.11620/IJOB.2017.42.1.025>
28. Rasooli I, Shayegh S, Taghizadeh M, Astaneh SDA. Phytotherapeutic prevention of dental biofilm formation. Phyther Res 2008;22(9):1162-7. DOI: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.2387>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: Medalith Vigo, Claudia Rodríguez, Jéssica Bardales, Marco Rivera.

Metodología: Medalith Vigo.

Análisis de datos: Medalith Vigo, Claudia Rodríguez.

Supervisión: Claudia Rodríguez, Marco Rivera, Jéssica Bardales.

Redacción – borrador original: Claudia Rodríguez.

Redacción – revisión y edición: Medalith Vigo, Marco Rivera, Jéssica Bardales.