

Eficacia antibacteriana del aceite de *Thymus vulgaris* (tomillo) contra *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*: In vitro

Antibacterial efficacy of *Thymus vulgaris* (thyme) oil against *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*: In vitro

Recibido: 18 de junio de 2024 | Revisado: 01 de agosto de 2024 | Aceptado: 06 de septiembre de 2024

Román Mendoza Lupuche¹
Lucía Marisela Quispe Tasayco²
Lucy del Pilar Chiong Lam³
Segundo Charles Huamán Bautista⁴
Gilmer Neker Solis Condor⁵
Alfredo Tecse Ccorihuaman⁶
Daniel Augusto Alvitez Temoche⁷

Abstract

The aim was to evaluate in vitro the antibacterial effect of *Thymus vulgaris* (Thyme) oil at 100%, 75% and 50% and a control group of *Cetylpyridinium Chloride* at 0.05%, on strains of *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* at 24 hours, 48 and 72 hours. 10 plates were sampled for each bacterial strain of *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277) and *Prevotella intermedia* (ATCC25611). The culture medium used was blood agar. The technique used was Kirby Bauer, the inhibition zones of four discs that were placed in each petri dish were measured, with the concentrations of the essential oil of *Thymus vulgaris* at 50, 75 and 100%, as well as *Cetylpyridinium Chloride* at 0.05%. at 24, 48 and 72 hours after the respective cultures were done. At 24 hours the antimicrobial activity on *Porphyromonas gingivalis* of *Cetylpyridinium Chloride* at 0.05% was 10.7 ± 0.27 mm, while with the essential oil of *Thymus vulgaris* at concentrations of 100% it was 28.56 ± 0.61 mm, at 75% it was 21.76 ± 1.04 mm, while at 50% it was 14.22 ± 0.76 . Significant differences were found between the antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* essential oil at 100%, 75%, 50% and *Cetylpyridinium Chloride* at 0.05% against strains of *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*. It is recommended to carry out clinical application research with the use of *Thymus vulgaris* essential oil.

Keywords: *Thymus vulgaris*, *porphyromonas gingivalis*, *prevotella intermedia*, *cetylpyridinium chloride*.

Resumen

El objetivo fue evaluar in vitro el efecto antibacteriano del aceite de *Thymus vulgaris* (Tomillo) al 100%, 75% y 50% y de un grupo control de *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05%, sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* a las 24, 48 y 72 horas. Se muestrearon 10 placas por cada cepa bacteriana de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277) y *Prevotella intermedia* (ATCC25611). El medio de cultivo utilizado fue Agar sangre. La técnica empleada fue Kirby Bauer, se midieron los halos de inhibición de cuatro discos que fueron colocados en cada placa petri, con las concentraciones del aceite esencial de *Thymus vulgaris* al 50, 75 y 100 %, así como del *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% a las 24, 48 y 72 horas luego de que se hiciera los cultivos respectivos. A las 24 horas la actividad antimicrobiana sobre *Porphyromonas gingivalis* del *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% fue de 10.7 ± 0.27 mm, mientras que con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* a concentraciones de 100% fue de 28.56 ± 0.61 mm, al 75% fue de 21.76 ± 1.04 mm, mientras que al 50% fue de 14.22 ± 0.76 . Se encontraron diferencias significativas entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Thymus vulgaris* al 100%, 75%, 50% y *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*. Se recomienda realizar investigaciones de aplicación clínica con el uso aceite esencial de *Thymus vulgaris*.

Palabras Clave: *Thymus vulgaris*, *porphyromonas gingivalis*, *prevotella intermedia*, *cloruro de cetilpiridinio*.

Este artículo es de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International



1,2,3,4,6,7 Universidad Nacional Federico Villarreal – UNFV.
Lima, Perú
5 Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión - UNDAC.

<https://orcid.org/0000-0003-2089-8965>
Correo: rmendoza@unfv.edu.pe

<https://orcid.org/0000-0002-0594-5834>
Correo: lquispe@unfv.edu.pe

<https://orcid.org/0000-0002-5847-0692>
Correo: lchiong@unfv.edu.pe

Correo: 2012013521@unfv.edu.pe

<https://orcid.org/0000-0002-7749-4817>
Correo: gsolisc@undac.edu.pe

<https://orcid.org/0000-0002-8967-1139>
Correo: atecese@unfv.edu.pe

<https://orcid.org/0000-0002-3337-4098>
Correo: dalvitez@unfv.edu.pe

<https://doi.org/10.62428/rcvp2024311836>

Introducción

La evidencia reciente referente a las enfermedades de la cavidad bucal sugiere que aproximadamente en el mundo, 538 millones de personas padecen enfermedad periodontal grave y 276 millones de las cuales perdieron sus dientes. Se espera que las cifras aumenten a medida que la población envejezca (Kassebaum et al., 2017). Además de ser el principal factor causante de la pérdida de dientes, la periodontitis está asociada con varias enfermedades sistémicas como aterosclerosis, diabetes, artritis reumatoide y resultados adversos del embarazo como bajo peso al nacer (Kinane, Stathopoulou y Papapanou, 2017).

La periodontitis es una enfermedad infecciosa polimicrobiana crónica y lentamente progresiva que afecta a todo lo que rodea el diente y en especial a los tejidos de soporte. Con la presencia de esta infección, el surco gingival se agranda y se convierte en una “bolsa” con inflamación e infección local. La enfermedad periodontal se caracteriza por la destrucción de los ligamentos periodontales, el hueso alveolar y la formación de bolsas gingivales, lo que conduce a la pérdida de dientes. Se sabe que esta infección es causada por microorganismos como: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivales*.

La planta de *Thymus vulgaris* (tomillo), es un arbusto espeso, de base leñosa, de 10 a 40 cm de altura con pequeñas hojas ovaladas de color verde grisáceo muy aromáticas que contienen numerosas glándulas pequeñas con racimos de flores de color rosa o púrpura (Papapanou et al., 2018; Hajishengallis y Lamont, 2021). El género *Thymus vulgaris* comprende aproximadamente 400 especies, varias de las cuales son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional (Sharaf y Hijazi, 2022; Ghorab, Kabouche y Kabouche, 2014).

La actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de hojas de *Thymus vulgaris* sobre algunos patógenos humanos está ampliamente documentada, los efectos de este aceite sobre patógenos orales como son los microorganismos periodontopáticos y cariogénicos no se comprenden completamente ya que faltan estudiar e investigar el comportamiento de muchos microorganismos presentes en la cavidad bucal. En el presente estudio, se demuestra la actividad inhibidora o antibacteriana *in vitro* del aceite de *Thymus vulgaris* en patógenos orales, para ello se ha seleccionado a la *Prevotella intermedia* y a *Porphyromonas gingivalis*. Estas bacterias cumplen un papel muy importante desde el inicio y posterior desarrollo de la periodontitis, participan muy activamente en la formación de la bolsa periodontal, destrucción del tejido conectivo y

reabsorción del hueso alveolar a través de un mecanismo inmuno patogénico (Galovičová et al., 2021; Amaya et al., 2021). Ante la evidencia de que las enfermedades bucales se incrementan y muchos son de origen bacteriano, se está investigando alternativas de forma natural para controlar dichas bacterias, es así, como a la fitoterapia se le está dando mucha importancia en investigaciones, como son los aceites esenciales, que son mezclas de sustancias obtenidas mediante un proceso de destilación química de plantas naturales, es el caso del *Thymus vulgaris*, conocido como el tomillo, usado mayormente en preparación de alimentos (Fani y Kohanteb, 2017). Los aceites esenciales en su mayoría son biodegradables, amigables con el ambiente y poseen bajos o inexistentes niveles de toxicidad. Además, presentan características antioxidantes, antibacteriano, antifúngico y antiviral (Rueda et al., 2018).

Muchos estudios e investigaciones evidencian la eficacia bactericida de las plantas, el propósito del estudio es demostrar *in vitro* la eficacia antibacteriana del aceite esencial *Thymus vulgaris* conocido como tomillo en cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* mediante el método experimental.

Galovičová et al. (2021) examinaron la actividad biológica del aceite esencial de *Thymus vulgaris*. Los principales componentes del aceite esencial de *Thymus vulgaris* fueron timol (48,1 %), p - cimeno (11,7 %), 1,8 - cineol (6,7 %), γ - terpineno (6,1 %) y carvacrol (5,5 %). La actividad antioxidante fue de $85,2 \pm 0,2\%$, lo que corresponde a $479,34 \pm 1,1$ TEAC. La acción antimicrobiana fue moderada o muy fuerte con zonas de inhibición de 9,89 a 22,44 mm. Los valores más bajos de concentración mínima de inhibición se determinaron frente a *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*. El análisis antifúngico *in situ* en el pan muestra que la fase de vapor del aceite esencial de *Thymus vulgaris* puede detener el crecimiento de los hongos filamentosos microscópicos del género *Penicillium*. La acción antimicrobiana contra *Sierrata marcescens* mostró una inhibición del 46,78-87,80% a concentraciones de 62,5-500 ml. Los análisis MALDI TOF MS sugieren modificaciones en el perfil de proteínas de las bacterias formadoras de biopelículas *Pseudomonas fluorescens* y *Salmonella enteritidis* después del quinto y noveno día, respectivamente. Amaya et al. (2021) en Colombia señalan que los aceites esenciales, son compuestos orgánicos vegetales que tienen principios volátiles en donde generalmente son modificados cuando ocurre su proceso de extracción, su composición química de fenoles, terpenos y monoterpenos les confiere capacidades antioxidantes y antimicrobianas. Según estudios *in vitro*, los aceites esenciales obtenidos de las plantas *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Origanum vulgare subsp. hirtum* (orégano griego) podrían llegar a ser una alternativa de manejo y erradicación de la enfermedad de marchitez bacteriana, ya que demostraron un mejor efecto inhibitorio que los

antibióticos tradicionalmente utilizados en el control de plagas como la Estreptomina y Ampicilina, sin embargo, sugieren estudios de fitotoxicidad para evaluar si estas concentraciones afectan o no el desarrollo adecuado de la planta. La información representa una alternativa sostenible con el medio ambiente a través de los Aceites Esenciales (AE) para así disminuir el impacto de fitoquímicos evidenciando el biocontrol de la bacteria. Adicionalmente se propone el uso de los AE como ayuda para el manejo y erradicación de la marchitez bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*.

Mendoza et al. (2023) un trabajo realizado en Perú, se comprobó que algunas plantas conocidas como medicinales tienen propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, antifúngicas es por ello que se investiga a la *Matricaria recutita* conocida como manzanilla, según estudios e investigaciones han demostrado que tiene componentes antibacterianos, el objetivo de esta investigación fue comprobar su eficacia antibacteriana del aceite esencial a concentración de 50 y 75 % y utilizando cepas de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277) y *Prevotella intermedia* (ATCC25611), para posteriormente medir la sensibilidad mediante los halos en diferentes tiempos que fue a las 24 y 48 horas, para la medición se utilizó el instrumento vernier digital. El procedimiento fue colocar discos embebidos con las sustancias en placas Petri, se utilizó como control positivo agua destilada, así como también la clorhexidina al 0.12%, y en los tiempos antes mencionados se hizo la lectura correspondiente, en las cepas de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277) con las mediciones a las 24 horas fue de $2,14 \pm 2,61$ mm. a las 48 horas fue de $22,63 \pm 2,67$ mm. para la clorhexidina al 0.12%; las mediciones del aceite esencial al 75% a las 24 y 48 horas. Fue de $18,90 \pm 0,41$ y $19,22 \pm 0,54$, mientras que las mediciones de los halos al 50% a los mismos tiempos fue de $15,55 \pm 0,45$ y $15,77 \pm 0,46$. Se evidencia que estadísticamente no hay significancia entre los grupos analizados, la importancia de la investigación radica en que la *Matricaria recutita* es una planta con propiedades bactericidas y que afectan a las bacterias como es la *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*, así como los diferentes microorganismos patógenos y no patógenos presentes en la cavidad bucal del ser humano.

Por otro lado, Miranda et al. (2020) en Brasil realizaron un estudio con el objetivo de evaluar las propiedades antimicrobianas de CPC al 0,075% en un modelo de biopelícula subgingival multiespecies *In vitro*. El biofilm subgingival compuesto por 31 especies relacionadas con la periodontitis se formó durante 7 días, empleando el dispositivo de Calgary. El manejo con CPC y clorhexidina (CHX) 0,12% (como control positivo) se realizaron 2x/día, durante 1 min, desde el día 3 hasta el final del período experimental, totalizando 8 tratamientos. Después de 7 días de formación del biofilm, se evaluó la actividad metabólica del biofilm mediante una reacción colorimétrica y la composición

microbiana del biofilm mediante hibridación ADN-ADN. El análisis estadístico se realizó empleando ANOVA con datos transformados a través de BOX-COX seguido de Dunnett post-hoc. Dando como resultado tanto CPC como CHX disminuyeron la actividad metabólica del biofilm en un 60% y bajaron estadísticamente los niveles de *Streptococcus oralis*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus gordonii*, *Veillonella parvula*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces gerencseriae*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Eikenella corrodens*, *Parvimonas micra*, *Streptococcus constelatus*, *Eubacterium. saburreum*, *Propionibacterium acnes* y *Gemella morbillorum* ($p \leq 0.05$) en comparación con las biopelículas tratadas con vehículo. *Actinomyces odontolyticus* y *Actinomyces israeli* solo fueron afectadas por CPC ($p \leq 0.05$) mientras que *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium nucleatum vicentii* solo fueron inhibidas por CHX ($p \leq 0.05$).

Neyra (2019) en Perú realizó un trabajo de investigación *In vitro*, teniendo el objetivo de comparar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales *Schinus molle* L. (molle) y *Thymus vulgaris* (tomillo) con el gluconato de clorhexidina al 0.12% frente a *Porphyromonas gingivalis*. Esta investigación fue de tipo experimental y se realizó en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en su Laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología. La población estuvo conformada por 40 placas petri donde se usó los aceites esenciales *Thymus vulgaris* al 100% y 50 %, *Schinus molle* L. al 100% y 50%, lo cual se comparó con el gluconato de clorhexidina al 0.12% y teniendo como control negativo el DMSO (dimetilsulfóxido), donde se empleó el método de difusión con discos y se incubaron por 15 días a 37° C, los halos de inhibición son retirados por única vez en el momento de la medición. El análisis de datos se procesó con la prueba estadística Pos Hoc de Scheffer, obteniéndose como resultado entre los dos aceites, el que tuvo mayor efecto sobre *Porphyromonas gingivalis* fue el tomillo y en menor efecto el molle. Los aceites esenciales del tomillo y molle tienen mayor actividad antibacteriana que el gluconato de clorhexidina al 0.12%. en el trabajo de Fani et al. (2017) en Irán ejecutaron un trabajo de investigación de tipo experimental titulado, Actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial de *Thymus vulgaris* contra los principales patógenos orales. El objetivo de la investigación fue estudiar la actividad antimicrobiana del aceite de *Thymus vulgaris* sobre algunos patógenos orales. El aceite de *Thymus vulgaris* se elaboró por hidrodestilación y se probó frente a 30 aislados clínicos de cada uno de *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, elaborados a partir de infecciones orales relacionadas utilizando métodos de difusión en disco de agar y microdilución en caldo. Obteniendo como resultado que el aceite en concentraciones de 16 a 256 µg/mL presentó una fuerte actividad inhibidora en todos los cultivos bacterianos que produjeron zonas de inhibición de 7,5 a 42 mm

según lo medido por el método de difusión en disco de agar. *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus mutans* fueron los aislamientos más sensibles con concentraciones inhibitorias mínimas de 1,9 y 3,6 µg/ml, respectivamente. Los valores mínimos de concentración inhibitoria para *Candida albicans*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *P gingivalis* fueron 16,3, 32 y 32 µg/m L, respectivamente.

Loyola et al. (2020) reportaron los beneficios de las vegetales y muchos de ellos aparte de servir para la alimentación del hombre, estas también son utilizadas en la medicina, actualmente existe la especialidad de Medicina alternativa y complementaria, que se encarga del estudio e investigaciones de medios alternativos a los fármacos para tratamientos específicos, es por ello que se decide realizar un estudio mediante el extracto etanólico de *Erythroxylum coca lam* y el *Schinus molle* en concentraciones al 50% y 75% comparando su efectividad antibacteriana en la bacteria de *Streptococcus mutans* (ATCC 27175), este trabajo experimental se realizó en los laboratorios de la Universidad de San Marcos, Lima, Perú para dicho procedimiento del extracto etanólico se hizo por el método de filtración al vacío en concentraciones de 50% y 75%, se utilizó como control positivo a la clorhexidina al 0,12%, esto se comprobó la eficacia antibacteriana sobre *Streptococcus mutans*, el medio de cultivo fue agar *Mitis salivariu*, medio ideal para el crecimiento de bacterias. Es importante evaluar el potencial antibacteriano del aceite esencial del *Thymus vulgaris* contra bacterias patógenas, por ello el objetivo de la investigación fue evaluar el efecto antibacteriano del aceite de *Thymus vulgaris* (Tomillo) sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*, *In vitro*.

Método

Diseño de estudio, experimental, *In vitro* y analítico. Fue realizado en el año 2023, en los Laboratorios de Bioquímica y Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Federico Villarreal.

Muestra y criterios de selección, la muestra fue colocada en 100 discos de papel Whatman (Merck KgaA; Darmstadt, Alemania) y se dividieron en 10 grupos para lo que se utilizó el programa STATA 15® (College Station, Texas 77845 USA) con un Alpha de 0.05 y un Beta de 0.8. Los discos de papel Whatman fueron embebidos con aceite esencial de *Thymus vulgaris* (AETV) a concentraciones de al 100%, 75% y 50%, cloruro de cetilpiridinio al 0.05% y solución de cloruro de sodio al 0.9 % (NaCl 0.9%) fueron divididos en diez grupos.

Los criterios de selección fueron los siguientes:

Criterios de inclusión

- Placas Petri inoculadas con cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
- Placas Petri inoculadas con cepas de *Prevotella intermedia*.
- AETV al 100, 75 y 50%.
- Cloruro de cetilpiridinio al 0.05%
- NaCl 0.9%.

Criterios de exclusión

- Placas Petri inoculadas con cepas de *Porphyromonas gingivalis* que presentaron contaminación o alteración por mala incubación o inadecuadas maniobras del operador.
- Placas Petri inoculadas con cepas de *Prevotella intermedia* que presentaron contaminación y/o alteraciones por mala incubación o inadecuadas maniobras del operador.
- Aceites esenciales no pertenecientes a la especie de *Thymus vulgaris*.
- AETV en concentraciones distintas al 100, 75 y 50%.

Distribución

- Group 1: 100% AETV en placas petri inoculadas con *Porphyromonas gingivalis*.
- Group 2: 50% AETV en placas petri inoculadas con *Porphyromonas gingivalis*.
- Group 3: 75% AETV en placas petri inoculadas con *Porphyromonas gingivalis*.
- Group 4: 0.05% Cloruro de cetilpiridinio en placas petri inoculadas con *Porphyromonas gingivalis*.
- Group 5: NaCl 0.9% en placas petri inoculadas con *Porphyromonas gingivalis*.
- Group 6: 100% AETV en placas petri inoculadas con *Prevotella intermedia*.
- Group 7: 50% AETV en placas petri inoculadas con *Prevotella intermedia*.
- Group 8: 75% AETV en placas petri inoculadas con *Prevotella intermedia*.
- Group 9: 0.05% Cloruro de cetilpiridinio en placas petri inoculadas con *Prevotella intermedia*.
- Group 10: NaCl 0.9% en placas petri inoculadas con *Prevotella intermedia*.

El resultado ha sido evaluado como una reducción en la extensión de crecimiento bacteriano en mm.

Clasificación botánica

La clasificación taxonómica de las muestras de la planta (Figura 1) fue llevado a cabo en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Constancia N° 069-2022-USM), brindando

la siguiente clasificación:

- *Thymus vulgaris*
- Order: *Lamiales*
- Family: *Lamiaceae*
- Genre: *Thymus*
- Species: *Thymus vulgaris L.*

Preparación del aceite esencial

Se limpiaron y separaron las hojas de tomillo para su

secado en ambiente cerrado con calefactores eléctricos a una temperatura de 60 °C por 10 días y se pesó en balanza digital (Figura 1). Para la obtención de 20 mL de aceite se empleó 8 kg de hojas de tomillo con el método de destilación por arrastre empleando el equipo Soflex (Figura 2). Para destilar 500 mL se usa el solvente de diclorometano por 3 horas a temperatura de 100 °C. Para obtener las concentraciones de 75% y 50% se empleó el aceite de Soya como diluyente.

Figura 1

Selección de la materia prima de Thymus vulgaris



Figura 2

Procedimiento de obtención y disolución del aceite esencial de Thymus vulgaris



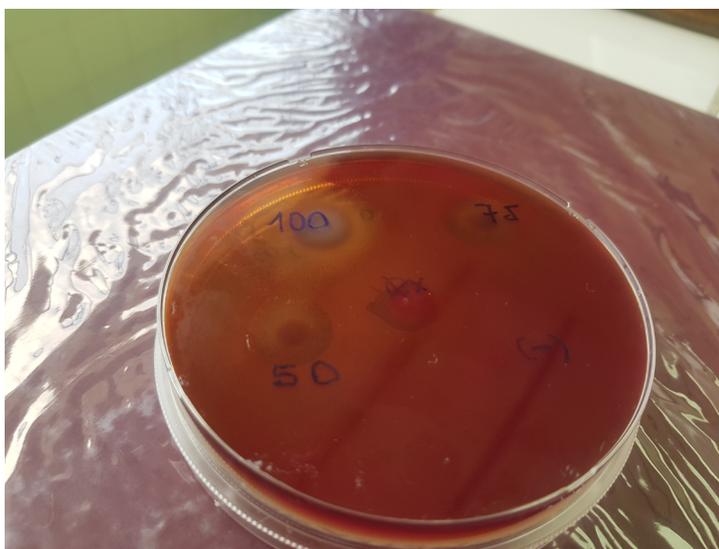
Siembra microbiológica y medición

Las cepas bacterianas se adquirieron en el Laboratorio Genlab del Perú SAC con certificado de análisis. La *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 y la *Prevotella intermedia* ATCC25611 fueron sembradas en 10 placas petri cada una, previamente preparadas con agar sangre. Luego se procesaron en una incubadora

a 37°C por 96 horas donde la turbidez demostró el crecimiento de la cepa. Después, se prepararon cinco discos por cada placa petri: 1) AETV 100%, 2) AETV 75%, 2) AETV 50%, 3) Cloruro de cetilpiridinio 0.05%, y 4) NaCl 0.9%. (Figura 3). Las mediciones se realizaron a las 24, 48 y 72 horas, utilizando the Kirby-Bauer disk diffusion method con un Calibrador Digital (Ubermann; Santiago, Chile) de 300 mm.

Figura 3

Placas Petri con los discos donde se observa los halos de inhibición



Análisis estadístico

Los datos fueron recolectados en una base de datos en una hoja de cálculo Microsoft Excel 2016, luego se utilizó el paquete estadístico STATA versión 11 donde se analizaron para responder las preguntas de investigación formuladas. Se empleó la prueba de Shapiro - Wilk. Para el análisis inferencial, se realizó el test U de Mann-Withney para la comparación de los grupos, con un nivel de significancia $p < 0.05$.

Resultados

Los resultados de la investigación realizada demuestran que la eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) sobre cepas de bacterias de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*, varía de acuerdo a la concentración del aceite y al tiempo del experimento, esto es también en comparación con el control positivo Cloruro de cetilpiridinio 0.05%, a continuación en las siguientes tablas se detalla las mediciones promedios de los halos de inhibición en concentraciones al 100%, 75% y 50% cuyo tiempo fue a las 24, 48 y 72 horas.

Tabla 1

Comparación *in vitro* de la efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) contra *Porphyromonas gingivalis* (ATCC33277) a las 24, 48 y 72 horas

Producto	Concentración (%)	Tiempo	Media	DS	Min	Max	P
Aceite esencial de <i>thymus vulgaris</i>	50	24	14.22	0.76	13.4	15.6	>0.05
		48	15.98	0.33	15.3	16.4	
		72	18.10	0.32	17.4	18.5	
	75	24	21.76	1.04	19.8	23.2	
		48	24.01	0.29	23.6	24.5	
		72	25.55	0.40	25.1	26.1	
	100	24	28.56	0.61	27.2	29.1	
		48	29.5	0.46	28.7	30.0	
		72	29.6	0.14	29.7	30.1	
Cloruro de cetilpiridinio	0.05	24	10.7	0.27	10.2	11.1	
		48	10.51	0.09	10.4	10.7	
		72	10.38	0.07	10.3	10.5	

Nota. Todos los grupos fueron medidos en mm

*Shapiro-Wilk test. P>0.05 para significancia estadística

En la Tabla 1, se observa la medición a las 24 horas, la actividad antimicrobiana sobre *Porphyromonas gingivalis* en el grupo control de *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% fue de 10.7 ± 0.27 mm, mientras que con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* en la concentración del 100% fue de 28.56 ± 0.61 mm. En la concentración de 75%, fue de 21.76 ± 1.04 mm, seguidamente de la concentración del 50% con una lectura promedio de 14.22 ± 0.76 .

En la medición a las 48 horas, la actividad antimicrobiana sobre *Porphyromonas gingivalis* en el grupo control de *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% fue de 10.51 ± 0.09 mm, mientras que con el aceite esencial

de *Thymus vulgaris* en la concentración del 100% fue de 29.5 ± 0.46 mm. En la concentración de 75%, fue de 24.01 ± 0.29 mm, y finalmente en la concentración del 50% con una lectura promedio de 15.98 ± 0.33 .

En la medición a las 72 horas, la actividad antimicrobiana sobre *Porphyromonas gingivalis* en el grupo control de *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% fue de 10.38 ± 0.07 mm, mientras que con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) en la concentración del 100% fue de 29.6 ± 0.46 mm. En la concentración de 75%, fue de 25.55 ± 0.40 mm, seguidamente de la concentración del 50% con una lectura promedio de 18.10 ± 0.32 .

Tabla 2

Comparación *in vitro* de la efectividad antibacteriana del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) contra *Prevotella intermedia* (ATCC25611) a las 24, 48 y 72 horas

Producto	Concentración (%)	Tiempo	Media	DS	Min	Max	P
Aceite esencial de <i>thymus vulgaris</i>	50	24	21.21	0.88	18.9	21.9	>0.05
		48	22.48	0.37	21.9	23.1	
		72	23.89	0.68	23.2	24.8	
	75	24	23.43	1.37	21.1	25.1	
		48	25.33	0.43	24.7	25.9	
		72	27.77	0.74	26.7	28.7	
	100	24	31.63	1.27	29.3	32.7	
		48	32.31	0.56	31.6	33.3	
		72	33.29	0.58	32.6	34.0	
Cloruro de cetilpiridinio	0.05	24	14.09	0.38	13.5	14.5	
		48	13.64	0.31	13.4	14.3	
		72	13.43	0.09	13.3	13.6	

Nota. Todos los grupos fueron medidos en mm

*Shapiro-Wilk test. P>0.05 para significancia estadística

En la tabla se demuestra la medición a las 24 horas, la actividad antimicrobiana sobre *Prevotella intermedia* en el grupo control de *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% fue de 14.09 ± 0.38 mm, mientras que con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) en la concentración del 100% fue de 31.63 ± 1.27 mm. En la concentración de 75%, fue de 23.43 ± 1.37 mm, y finalmente en la concentración del 50% con una

lectura promedio de 21.21 ± 0.88 .

En la medición a las 48 horas, la actividad antimicrobiana sobre *Prevotella intermedia* en el grupo control de *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% fue de 13.64 ± 0.31 mm, mientras que con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) en la concentración del 100% fue de 32.31 ± 0.56 mm. En la concentración

de 75%, fue de 25.33 ± 0.43 mm, y finalmente en la concentración del 50% con una lectura promedio de 22.48 ± 0.37 .

En la medición a las 72 horas, la actividad antimicrobiana sobre *Prevotella intermedia* en el grupo control de *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% fue de

13.43 ± 0.09 mm, mientras que con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) en la concentración del 100% fue de 33.29 ± 0.58 mm. En la concentración de 75%, fue de 27.77 ± 0.74 mm, seguidamente de la concentración del 50% con una lectura promedio de 23.89 ± 0.68 .

Tabla 3

Comparación in vitro de la efectividad antibacteriana del aceite esencial de Thymus vulgaris (Tomillo) contra Porphyromonas gingivales (ATCC33277) y Prevotella intermedia (ATCC25611)

Concentración	24			48			72		
	PI	PG	p	PI	PG	p	PI	PG	p
50%	21.2±0.8	14.2±0.7	<0.001	22.4±0.3	15.9±0.3	<0.001	23.8±0.6	18.1±0.3	<0.001
75%	23.4±1.3	21.7±1.0	<0.001	25.3±0.4	24.0±0.2	<0.001	27.7±0.7	25.5±0.4	<0.001
100%	31.6±1.2	28.5±0.6	<0.001	32.3±0.5	29.2±0.4	<0.001	33.2±0.5	29.9±0.1	<0.001
CCP 0.05 %	14.9±0.3	10.7±0.2	<0.001	13.6±0.3	10.5±0.0	<0.001	13.4±0.0	10.3±0.0	<0.001

Nota. * p<0.05 para significancia estadística.

En la tabla 3, se realizó la evaluación de la normalidad con el Test de Shapiro-Wilk, porque no hubo una distribución normal de los datos en los diferentes grupos.

Al realizar la comparación entre los grupos, se encontraron diferencias estadísticamente significativas (<0.001) entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) al 100%, 75%, 50 % y *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*.

Discusión

La enfermedad periodontal es caracterizada por la destrucción de los componentes de la encía, como es: ligamentos periodontales, el hueso alveolar y la formación de bolsas gingivales, lo que conduce a la pérdida de dientes. Esta infección es causada por microorganismos como: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivales*. La acción antibacteriana del aceite esencial de hojas de *Thymus vulgaris* sobre algunos patógenos humanos está ampliamente documentada, los efectos de este aceite sobre microorganismos periodontopáticos y cariogénicos no se comprenden completamente. El estudio de Galovičová et al. (2021) buscó comprobar el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) como

complemento eficaz durante la terapia periodontal no quirúrgica para la periodontitis crónica, pero los resultados de la acción bacteriana del *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% fueron superiores a los obtenidos por el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) en sus tres concentraciones.

En este estudio se comparó el efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones de Aceite esencial de *Thymus vulgaris* sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* con el efecto antibacteriano del *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05%, compuesto que en diferentes estudios como el de Miranda et al. (2020), mostraron que tanto el *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05%, como la *Clorhexidina* al 0.12% disminuyeron la actividad metabólica del biofilm en un 60% (De Miranda, 2020).

Amaya et al. (2021) mencionan que podrían llegar a ser una alternativa sostenible de manejo y erradicación de bacterias de manera responsable con el medio ambiente a través de los Aceites Esenciales (AE) para así disminuir el impacto de los productos farmacéuticos. La investigación realizada, muestra una alternativa sostenible para el control de bacterias periodontopatógenas, pues se observó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) en diferentes concentraciones y el *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05%. sobre cepas de *Porphyromonas*

gingivalis y *Prevotella intermedia* (Hama et al., 2020).

En Fani et al. (2017) se observó un importante efecto antibacteriano de una solución de 1 mg/mL de aceite de *Thymus vulgaris*, en dimetilsulfóxido acuoso al 10% que contiene 0,5% de Tween 80 (256 mg/mL) con halos de inhibición promedio de 29.9 ± 0.8 sobre *Porphyromonas gingivalis*, similares a los encontrados en este trabajo. Los resultados concuerdan con el estudio de Hama et al. (2020) donde el aceite esencial de tomillo mostró un efecto inhibitorio significativo con una concentración mínima inhibitoria (MIC) media de 6,25 $\mu\text{L/ml}$ y una concentración mínima bactericida (MBC) de 12,5 $\mu\text{L/ml}$ (13). De manera similar, en el estudio de Madhloom et al. (2023) *Porphyromonas gingivalis* fue sensible a todas las concentraciones de extracto etanólico de *Thymus vulgaris*, donde se obtuvo que la MIC fue de 0,78 mg/mL y MBC de 1,56 mg/mL.

La principal limitación de esta investigación fue la escasa literatura disponible sobre las propiedades de estas plantas en Perú, lo que dificultó la comparación con otros estudios, Además de evitar la contaminación de las placas para lograr el objetivo propuesto.

Los resultados de este estudio muestran los beneficios de los productos naturales que proporcionan una alternativa sostenible con el ambiente para el control de bacterias periodontopatógenas como *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*, ofreciendo beneficios a la odontología y a la población de bajos recursos en el tratamiento de la enfermedad periodontal.

Conclusiones

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$) entre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (Tomillo) al 100%, 75%, 50% y *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% frente a cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* en diferentes tiempos a las 24, 48 y 72 horas.

El aceite de *Thymus vulgaris* (Tomillo) al 100%, 75%, 50%, de la medición de los halos fueron mayores que los de *Cloruro de Cetilpiridinio* al 0.05% a las 24, 48 y 72 hrs.

El aceite de *Thymus vulgaris* (Tomillo) tiene actividad antimicrobiana sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*, siendo estas bacterias gran negativas y están presentes en el biofilm de la enfermedad periodontal.

Recomendaciones

Los resultados del estudio demuestran el posible impacto de alternativas naturales para el tratamiento de la enfermedad periodontal y que se debe indicar en

tratamientos de la enfermedad

Se recomienda realizar investigaciones de aplicación clínica con el uso aceite esencial de *Thymus vulgaris* ó tomillo.

Referencias

- Amaya, E., Sastoque, P., & Acero, J. (2021). Efectividad de los aceites esenciales de *Thymus vulgaris* (Tomillo) y *Origanum vulgare* subsp. *Hirtum* (Orégano griego) probados contra *Ralstonia solanacearum* fitopatógeno del cultivo de *Solanum lycopersicum* (Tomate). *Revista Environment Technology*, 2(1) 1–18. <https://doi.org/10.56205/ret.2-1.1>
- Faisal, A., Bashir, F., Sha, A., & Raad, H. (2022). Antimicrobial Effect of *Moringa Oleifera* L. and Red Pomegranate against Clinically Isolated *Porphyromonas gingivalis*: in vitro Study. *Archives of Razi Institute*, 77(4), 1405–1419. <https://doi.org/10.22092/ARI.2022.357513.2051>
- Fani, M., & Kohanteb, J. (2017). In vitro Antimicrobial Activity of *Thymus vulgaris* Essential Oil Against Major Oral Pathogens. *Journal of evidence-based complementary & alternative medicine*, 22(4), 660–666. <https://doi.org/10.1177/2156587217700772>
- Galovičová, L., Borotová, P., Valková, V., Vukovic, N., Vukic, M., Štefániková, J., Ďúranová, H., Kowalczewski, P., Čmiková, N., & Kačániová, M. (2021). *Thymus vulgaris* Essential Oil and Its Biological Activity. *Plants*, 10(9), 1959. <https://doi.org/10.3390/plants10091959>
- Ghorab, H., Kabouche, A., & Kabouche, Z. (2014). Comparative compositions of essential oils of *Thymus* growing in various soils and climates of North Africa. *Sahara*, 355(2), 13. https://www.jmaterenvironsci.com/Document/vol5/vol5_N1/35-JMES-590-2014-Kabouche.pdf
- Hajishengallis, G., & Lamont, R. (2021). Comunidades polimicrobianas en la enfermedad periodontal: Su naturaleza cuasi-orgánica y diálogo con el huésped. *Periodoncia* 2000, 86(1), 210–230. <https://doi.org/10.1111/prd.12371>
- Hama, A., Kareem, S., Hamaamin, H., Qadr, K., Salih, S., Azeez, S. & Sha, A. (2020) An in Vitro Study to Evaluate Antibacterial Effect *Thymus Vulgaris* Essential Oil Against *Porphyromonas Gingivalis* in Kurdistan– Iraq. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 14(3), 1289–1293. <https://doi.org/10.37506/ijfimt.v14i3.10568>

- Kassebaum, N., Smith, A., Bernabé, E., Fleming, T., Reynolds, A., Vos, T., Murray, C., Marcenes, W., & GBD 2015 Oral Health Collaborators (2017). Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. *Journal of dental research*, 96(4), 380–387. <https://doi.org/10.1177/0022034517693566>
- Kinane, D., Stathopoulou, P., & Papapanou, P. (2017). Periodontal diseases. Nature reviews. *Disease primers*, 3, 17038. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>
- Loyola, D., Mendoza, R., Chiong, L., Rueda, M., Alvitez-Temoche, D., Gallo, W., & Mayta-Tovalino, F. (2020). Ethanol extract of *Schinus molle* L. (Molle) and *Erythroxylum coca* Lam (Coca): Antibacterial Properties at Different Concentrations against *Streptococcus mutans*: An In Vitro Study. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 10(5), 579–584. https://doi.org/10.4103/jispcd.JISPCD_237_20
- Miranda, S., Damaceno, J., Faveri, M., Figueiredo, L. C., Soares, G., Feres, M., & Bueno-Silva, B. (2020). Efecto antimicrobiano in vitro del cloruro de cetilpiridinio sobre biofilm subgingival multiespecie complejo. *Revista Brasileña de Odontología*, 31(2), 103–108. <https://doi.org/10.1590/0103-6440202002630>
- Mendoza, R., Alvitez-Temoche, D., Chiong, L., Silva, H., Mauricio, F., & Mayta-Tovalino, F. (2023). Eficacia Antibacteriana del Aceite Esencial de *Matricaria recutita* contra *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*: Estudio In vitro. *Revista de práctica dental contemporánea*, 24(8), 551–555. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-3543>
- Neyra, V. (2019). *Comparación de actividad antibacteriana del aceite esencial Schinus molle (molle) y Thymus vulgaris (tomillo) con el gluconato de clorhexidina al 0.12% frente a Porphyromona gingivalis. estudio in vitro* [Tesis de Titulación, Universidad Norbert Wiener]. Repositorio Uwiener. <https://hdl.handle.net/20.500.13053/2777>
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D., Flemmig, T., Garcia, R., Giannobile, W., Graziani, F., Greenwell, H., Herrera, D., Kao, R., Kebschull, M., Kinane, D., Kirkwood, K., Kocher, T., Kornman, K., Kumar, P., Loos, B., Tonetti, M. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of clinical periodontology*, 45, Suppl 20, S162–S170. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12946>
- Rueda-Puente, E., Juvera, J., Romo, I., & Holguín, R. (2018). Evaluation of the in vitro antibacterial activity of essential oils of oregano and thyme against *Ralstonia solanacearum*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(spe20), 4251-4261. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i20.995>
- Sharaf, S., & Hijazi, K. (2023). Modulatory Mechanisms of Pathogenicity in *Porphyromonas gingivalis* and Other Periodontal Pathobionts. *Microorganisms*, 11(1), 15. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010015>
- Zhang, Z., Liu, D., Liu, S., Zhang, S., & Pan, Y. (2021). The Role of *Porphyromonas gingivalis* Outer Membrane Vesicles in Periodontal Disease and Related Systemic Diseases. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 10, 585917. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.585917>