
Antibacterial effect of *Rosmarinus officinalis* “romero” on the viability of *Streptococcus mutans*

Flores Cruz, Ariadna ¹; Flores Cruz, Noemy ¹; Gómez Méndez, Diana ¹; Milla Arista, Melanie ¹; Ríos Ancco, Mildred ¹; Peña Velasquez, Keiko ¹; De La Cruz-Noriega, M. ²

¹Facultad de Medicina. Universidad Cesar Vallejo, Perú; aflorescr01@ucvvirtual.edu.pe, nflorescr@ucvvirtual.edu.pe, dgomezme@ucvvirtual.edu.pe, mmillaar@ucvvirtual.edu.pe, mriosan01@ucvvirtual.edu.pe, kpenave19@ucvvirtual.edu.pe

²Institutos y Centros de Investigación. Universidad Cesar Vallejo, Trujillo 13001, Perú mdelacruz@ucv.edu.pe

Abstract

The importance of this research lies according to SDG 3 “Health and well-being” in promoting well-being for all at all ages, and thus ensuring sustainable development, with the objective of determining the antibacterial effect of *Rosmarinus officinalis* “rosemary” on the viability of *Streptococcus mutans*. This research was experimental with increasing stimulus design, it was carried out with the Kirby-Bauer method using Mueller Hinton Agar supplemented with blood. Agar diffusion was used to determine antimicrobial activity. The study had the following experimental groups: 25%, 50%, 75%, 100% of “rosemary” extracts. According to literature, the phytoconstituents present in “rosemary” leaves are: Phenolic acids, 1,8 cineole, Camphor, α pinene, bornyl acetate, flavonoids and triterpenes. It was demonstrated that the “rosemary” extract at a concentration of 75% has a high antimicrobial activity against *S. mutans*, observing an inhibition zone that varies between 14 to 16.83 mm. It is concluded that the “rosemary” extract in concentrations greater than 75% has a greater antimicrobial effect on *S. mutans*. Likewise, it was observed that the minimum inhibitory concentration (MIC) of the rosemary extract showed inhibition of 1 mg/dl, compared to the *S. mutans*.

Keywords: *Streptococcus mutans*, Rosemary extract, *Rosmarinus officinalis*, Minimum inhibitory concentration (MIC).

Efecto Antibacteriano del *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre la viabilidad de *Streptococcus mutans*

Flores Cruz, Ariadna¹; Flores Cruz, Noemy¹; Gómez Méndez, Diana¹; Milla Arista, Melanie¹; Ríos Ancco, Mildred¹; Peña Velasquez, Keiko¹; De La Cruz-Noriega, M.²

¹ Facultad de Medicina. Universidad Cesar Vallejo, Perú; aflorescr01@ucvvirtual.edu.pe, nflorescr@ucvvirtual.edu.pe, dgomezme@ucvvirtual.edu.pe, mmillaar@ucvvirtual.edu.pe, mrriosan01@ucvvirtual.edu.pe, kpenave19@ucvvirtual.edu.pe

² Institutos y Centros de Investigación. Universidad Cesar Vallejo, Trujillo 13001, Perú mdelacruz@ucv.edu.pe

Resumen:

La importancia de la presente investigación radica según la ODS 3 “Salud y bienestar” en promover el bienestar para todos en todas las edades, y asegurar así el desarrollo sostenible teniendo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del *Rosmarinus officinalis* “romero” sobre la viabilidad de *Streptococcus mutans*. Esta investigación fue experimental con diseño de estímulo creciente, se realizó con el método de Kirby-Bauer utilizando Agar Mueller Hinton suplementado con sangre. Para la determinación de la actividad antimicrobiana se utilizó difusión de agar. El estudio tuvo los siguientes grupos experimentales: de los extractos de “romero” al 25%, 50%, 75%, 100%. Según literatura los fitoconstituyentes presentes en las hojas de “romero” son: Ácidos fenólicos, 1,8 cineol, Alcanfor, α pineno, acetato de bornilo, flavonoides y triterpenos. Se demostró que el extracto de “romero” a la concentración de 75% presenta una elevada actividad antimicrobiana sobre *S. mutans*, observándose un halo de inhibición que varía entre 14 hasta 16, 83 mm. Se concluye que el extracto de “romero” en concentraciones superiores a 75% tiene mayor efecto antimicrobiano sobre *S. mutans*, así mismo se observó que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto de romero mostró inhibición de 1 mg/dl, frente al *S. mutans*.

Palabras claves: *Streptococcus mutans*, extracto de romero, *Rosmarinus officinalis*, Concentración mínima inhibitoria (CIM).

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años las enfermedades bucodentales han presentado una alta prevalencia a nivel mundial, siendo considerado un problema de salud pública latente, en tal sentido Organización Mundial de la Salud (OMS) en el marco de su último informe (Global Oral Health Status Report, GOHSR) del año 2022 expuso sobre el estado de la salud bucodental en el mundo, estimando que alrededor de 3.500 millones de personas equivalente aproximadamente un 50 % de la población padecen de una u otra forma de enfermedad bucodental, destacando la enfermedad periodontal grave, el edentulismo, el cáncer de labio y la caries dental, siendo esta última con la mayor

casuística en diversos países, en India con un reporte de 18.1 % de casos, China 16.3% y finalmente Estados Unidos con 3.7 % de casos [1]. A nivel de Latinoamérica en países como México se reportan estadísticas del 94.6 % entre los años de 2010 al 2019 y del 88.5 % en los años 2020 a 2021 [2], mientras que en Chile se ha observado un aumento sostenido de los casos de caries dental desde los 2 (17,5%), 4 (49,6%), 6 (70,4 %) y 12 años (62,5%) según los índices epidemiológicos de este país [3], en cuanto a Perú según informes del Ministerio de Salud (MINSA) expone que el 90.4% de peruanos presenta caries dental y el 85% padece de enfermedades periodontales [4].

Tal como se mencionó anteriormente, la caries dental representa una de las enfermedades más prevalentes, y su impacto en la salud es significativo, en tal sentido cabe resaltar que la formación de caries está influenciada por una variedad de factores biológicos, psicosociales y ambientales [3]. Así bien la caries puede definirse como una infección crónica que resulta de bacterias cariogénicas adherentes al diente que metabolizan azúcares para producir ácido, desmineralizando la estructura del diente con el tiempo [5], por lo tanto, su incidencia depende principalmente de las interacciones entre la flora bacteriana oral específicamente el *S. mutans* con agentes como la dieta y la calidad del esmalte dental, al interactuar estos factores producen lesiones de caries en los dientes [[6][7]].

Entre las principales bacterias responsables de la caries, destaca el *S. mutans*, el cual coloniza la cavidad oral, empleando la coagregación con otras especies bacterianas para promover la colonización de especies posteriores y así influir en la patogénesis polimicrobiana, al respecto investigaciones previas han confirmado la adherencia de varias especies, como *Candida albicans* y *Fusobacterium nucleatum*, a *S. mutans*, lo que sugiere una interacción compleja entre diferentes microorganismos en la formación de la placa dental y el desarrollo de la caries. [8] Las bacterias más resaltantes que producen la caries en la cavidad bucal son el *S. mutans* y otros

Streptococcus llamado el grupo de los *Streptococcus no mutans* (*Actinomyces* y *Lactobacillus*) [9].

En cuanto al tratamiento de infecciones dentales causadas por *S. mutans*, una de las principales bacterias implicadas en las caries, ha conllevado al uso frecuente y muchas veces indiscriminado de antibacterianos promoviendo la resistencia antibacteriana, complicando su tratamiento, esta problemática plantea la necesidad de alternativas más seguras y efectivas, en este contexto, los productos naturales están siendo investigados como opciones viables para prevenir y tratar la caries, se conoce que las plantas medicinales poseen compuestos biológicos activos de los cuales muchos de ellos han sido utilizados para generar medicamentos, además de tener actividad antibacteriana y antifúngica [[10], [11], [12], [13]]. Uno de estos productos naturales es el romero (*Rosmarinus officinalis*), una planta que se encuentra distribuida por todas las partes del mundo como el sur de Europa y el norte de África, esta planta medicinal es apreciada por sus múltiples propiedades terapéuticas, que incluyen acciones antimicrobianas, antifúngicas y antioxidantes, entre otras, es reconocido que los productos naturales están siendo cada vez más investigados para la prevención y tratamiento de la caries, ya que poseen propiedades antibacterianas efectivas [[14], [15]]

Diversas investigaciones han comenzado a explorar el potencial de estos productos naturales en el tratamiento de las caries. Entre ellas, destacan estudios que han evaluado la actividad antimicrobiana del romero frente a *S. mutans*. Por ejemplo Günther et al [16] evaluaron el uso de extractos de plantas para la prevención de la formación de biofilms microbianos, esenciales en el desarrollo de la caries, así pues se centraron en los efectos antimicrobianos del extracto de *R. officinalis* contra microorganismos orales, emplearon muestras de biofilms iniciales in situ de seis pacientes los cuales se trataron con dicho extracto a concentraciones de 20 mg/ml y 30 mg/ml, las bacterias viables se aislaron en cultivos puros y se identificaron mediante MALDI-TOF. Los resultados indicaron que los biofilms tratados con *R. ofcinalis* tenían un número significativamente menor de bacterias supervivientes que los biofilms no tratados, el rango de reducción de log₁₀ fue de 1,64-2,78 y 2,41-3,23 para las bacterias aerobias y anaerobias, respectivamente, determinándose que el extracto de *R. ofcinalis* tiene un potencial significativo para eliminar los biofilms iniciales orales microbianos.

Del mismo modo Sultan & Abed [17] investigaron sobre la actividad antibacteriana frente a *S. mutans* y la resistencia a la compresión del cemento de ionómero de vidrio modificado con *Rosmarinus officinalis L.* a concentraciones al 2% y al 4%, cabe mencionar que el extracto de romero en polvo, se añadió a Fuji IX GIC para preparar ionómero de vidrio, se prepararon un total de 60 muestras, divididas en un grupo control, un grupo con concentraciones a 2% y al 4% respectivamente. Los métodos empleados fueron la difusión en disco y las pruebas de resistencia a la compresión, en cuanto a los resultados se identificó que el grupo 3 (4% de concentración) mostro la

mayor actividad antibacteriana estadísticamente significativa contra *Streptococcus mutans* y los valores medios de resistencia a la compresión, seguido del grupo 2 (2%), mientras que el grupo control mostro los valores más bajos. Se concluyó que la adición de diferentes concentraciones de *Rosmarinus officinalis L.* al cemento de ionómero de vidrio ha demostrado mejorar tanto la actividad antibacteriana contra *S. mutans* como su resistencia a la compresión. Los estudios indican que la concentración más alta del extracto ofrece un rendimiento superior en ambas propiedades.

Basado en este contexto, se demuestra que el romero tiene un efecto significativo sobre la viabilidad de *S. mutans*, por lo cual podría ser considerado como un agente terapéutico potencial para la odontología, ya sea en forma de enjuagues bucales, pasta dental o en materiales restaurativos con propiedades antibacterianas incorporadas. Por consiguiente, la investigación tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de *R. officinalis* “romero” sobre la viabilidad de *S. mutans*.

II. MÉTODO

Preparación del extracto de *Rosmarinus officinalis*

Se recolectó 1 kg de hojas frescas maduras de Romero (*Rosmarinus officinalis*), luego se lavó con agua destilada dos veces, para eliminar impurezas posteriormente se llevó al horno a 40°C por 24 horas. Transcurrido el tiempo se colocó sobre papel kraft para obtener un secado completo.. El producto molido se colocó en un frasco de vidrio de 3000 mL donde se agregó etanol absoluto y se dejó macerar durante una semana, con homogeneización diaria de 10 minutos.

Reactivación de la cepa ATCC25175 de *S. mutans*

La cepa ATCC25175 de *S. mutans* fue donada por el Instituto y Centros de Investigación de la Universidad César Vallejo, Perú. Se reactivó la cepa de *S. mutans* en agar Sangre a 36,5 °C por 48 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se seleccionaron las colonias, características para su purificación.

Actividad antimicrobiana

La cepa de *S. mutans*, se sembró en Agar Mueller Hinton suplementada con sangre y se incubó a 36 ° por 24 horas. La actividad antimicrobiana se realizó utilizando el método de Kirby-Bauer en pocillos. (Clinical Laboratory Standard Institute, 2017). [18] Se preparó el inóculo mediante una suspensión de las colonias de la cepa ATCC25175 de *S. mutans*, de 24 horas en agar Sangre en solución salina fisiológica estéril. La suspensión fue equivalente a 1.5 x 10⁸ células/mL. Posteriormente se sembró sobre una placa de Müller Hilton suplementada con sangre, usando un hisopo embebido en la suspensión bacteriana, luego se hicieron los pocillos en el agar (6mm de diámetro) donde se colocó 50 µL del

extracto . A partir del extracto alcohólico de romero concentrado, se realizaron las diluciones 100, 75, 50 y 25 %, por triplicado respectivamente. Todas las placas se incubaron a 37° durante 24 horas, trascurrido el tiempo se midieron los halos de inhibición de acuerdo con las recomendaciones del Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) [18].

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

. En cuanto a la concentración mínima inhibitoria (CMI), se realizó en una bandeja de plástico con 96 pocillos (12 columnas de 8 pocillos)., en la columna número 1 se colocó el extracto alcohólico de romero a una concentración final de 1 g/ml para luego realizar diluciones seriadas hasta la columna número 10, la columna 11 y 12 se usó como control de crecimiento y de esterilidad respectivamente.

Método de análisis de datos

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el software SPSS v.26, este software buscó demostrar la comparación de los halos de inhibición tiene diferencia significativa H de Kruskal-Wallis, (p-valor<0.05).

III. RESULTADOS

El extracto alcohólico del *R. officinalis* tuvo un gran efecto antioxidante por lo que su acción es adecuada para emplearlo en rubros dentro de la salud como antimicrobianos. Con respecto, a sus propiedades activas, el romero presentó un gran porcentaje flavonoides, triterpenos y en mayor abundancia, ácidos fenólicos, siendo estos a los que se les atribuye una gran parte de la actividad antioxidante y antibacteriana.

Tabla 01: Principios activos del *R. officinalis* “romero” y sus efectos antibacterianos.

Principio activo	Efectos antibacterianos
Ácidos fenólicos	Presenta la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias, provocando daño estructural a la pared y membrana celular, además de inactivar los sistemas enzimáticos, tienen mayor efectividad en bacterias gram positivas, actuando como bacteriostático e incluso bactericida.

1,8 cineol	Presenta efecto antimicrobiano y antioxidante, evitando o disminuyendo el origen de distintas especies reactivas del oxígeno “ROS”.
Alcanfor	Permite eliminar bacterias, actuando como antibacteriano natural, antiproliferativa e inmunomoduladora.
α pineno	Actúa produciendo un fuerte efecto antibacteriano y antioxidante, incluido su efecto sobre el sistema inmune como antiinflamatorio y analgésico.
Acetato de bornilo	Presenta un importante efecto antibacteriano y gran actividad antioxidante.
Flavonoides	Está relacionado con el proceso quimiotáctico, ya que posee una gran significancia dentro de los efectos anti inflamatorios causados por bacterias.
Triterpenoides	Produce una afectación a nivel de la pared celular y membrana plasmática, usado incluso en el tratamiento de enfermedades periodontales.

Según Flores E. (2020) Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. [19]

En la tabla 02, se compararon las medidas de inhibición de los halos del *S. mutans* a diferentes concentraciones de los extractos alcohólicos, en donde se pudo apreciar que el microorganismo su mayor efecto antimicrobiano del romero corresponde al 75% con 16,83 mm indicando que es más sensible a dicha concentración, como también al 100% con 15,65 mm; 50% con 16 mm; 25% con 14 mm.

El extracto alcohólico mostró actividad variable frente a *S. mutans*, sin embargo, la susceptibilidad al extracto alcohólico varió según las concentraciones del mismo. La mayor inhibición fue determinada a una concentración de 75%, seguida de la concentración al 50% mientras que la concentración al 25% del extracto alcohólico presentó menor actividad antimicrobiana.

Tabla 02: Medidas de los halos de inhibición del extracto alcohólico en relación con *S. mutans*

Extracto Alcohólico	Concentraciones	Diámetro del halo de inhibición (mm)			Promedio de halo de inhibición (mm)	Sensibilidad
		Disco 1	Disco 2	Disco 3		
Rosmarinus officinalis "Romero"	100%	16	16	15	15.66	Sensible (+)
	75%	16.5	17	17	16.83	Sensible (+)
	50%	16	16	16	16	Sensible (+)
	25%	14	14	14	14	Sensible (+)

Fuente: Elaboración propia

La tabla 03 se muestra las comparaciones por pares mediante el estadístico H de Kruskal-Wallis, encontrándose diferencias significativas (p -valor <0.05) solo para la comparación de los halos de inhibición obtenidos con las concentraciones de 25%-75% de extracto alcohólico de romero.

Tabla 03. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba H de Kruskal-Wallis	Sig.
25%-100%	4,000	,155
25%-50%	5,000	,075
25%-75%	9,000	,001
100%-50%	-1,000	,722
100%-75%	-5,000	,075
50%-75%	4,000	,155

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Los resultados mostrados finales en la investigación ayudaron a confirmar que los extractos de *R. officinalis* "romero" tienen grandes efectos antibacterianos gracias a los fenoles que son responsables de la actividad ante bacterias gram positivas como fue el caso del *S. mutans*, ya que sus hojas tienen una gran actividad in vitro en relación con la formación de biofilm y la reducción de sus factores virulentos, gracias a los componentes que poseen ayudan en su acción antimicrobiana [20].

Se observó en la tabla 04 la concentración mínima inhibitoria (CIM) del *S. mutans* de 1 mg/ml, en comparación con la

investigación llevada por Santos y colaboradores, encontraron que a una concentración de 60 ug/ml de *Schinus molle L* "molle" tenía un efecto inhibitorio en las cepas de *S. mutans* siendo su concentración mínima inhibitoria [19].

Tabla 04: Concentración Mínima Inhibitorio (CMI) del extracto alcohólico de *R. officinalis* "romero" sobre los cultivos in vitro de *S. mutans*

Determinantes	<i>Rosmarinus officinalis</i>
CMI	1 mg/ml

Fuente: Elaboración propia

IV. DISCUSIÓN

En el presente estudio, los extractos alcohólicos de *Rosmarinus officinalis L.* demostraron una significativa actividad antibacteriana contra *S. mutans*, una de las principales bacterias implicadas en la formación de caries [22], en tal sentido, la eficacia del extracto de *R. officinalis* se atribuye a su composición fitoquímica, especialmente compuestos fenólicos que incluyen el ácido carnósico, el carnosol, el ácido rosmarínico, el ácido ursólico, etc., los cuales disponen de funciones antioxidantes debido a la presencia de átomos de hidrógeno con la sustitución de grupos etilo o n-butilo y antibacterianas con lo cual poseen la capacidad de inhibir radicales libres [[23][24]]. Según investigaciones se conoce que estos compuestos inducen al deterioro estructural en la pared y membrana plasmática bacteriana, interfiriendo en el metabolismo microbiano al afectar la síntesis de proteínas inhibiendo por lo tanto su crecimiento y actividad enzimática, así mismo cabe mencionar que los flavonoides presentes en la planta contribuyen a su bioactividad, es así que la combinación de estos compuestos bioactivos le confieren la actividad antioxidante y antibacteriana al romero [[25][26]].

En cuanto a las concentraciones del extracto alcohólico de *R. officinalis* "romero" frente a *S. mutans*, se logró determinar que la concentración al 25% alcanzó un halo de inhibición promedio de 14 mm, mientras que a una concentración de 50% mostró un halo de inhibición promedio de 16 mm. Al respecto un estudio de Mayta-Tovalino et al [27] muestra que el halo de inhibición de *Schinus molle L.* (Molle) al 75% fue de 11,6 mm presentando una gran diferencia, cabe mencionar que la diferencia observada podría deberse al método de extracción, así como al grado de madurez y origen de las muestras. No obstante, se ha demostrado que, en comparación con una concentración del 50%, la presencia de una concentración mayor resulta en un halo inhibitorio más amplio, mostrando una relación directamente proporcional. Asimismo Janampa et al [22] estudiaron sobre la actividad antibacteriana del extracto

etanólico de las hojas de *Rosmarinus officinalis* L. a diferentes concentraciones frente a *Streptococcus mutans* mostro que a una mayor concentración del extracto de Romero mayor es el tamaño del halo de inhibición, cabe mencionar que en dicho estudio emplearon el método de difusión en disco con las soluciones experimentales determinando que el extracto presentó el mayor efecto antibacteriano a una concentración de 75 mg/ml. Estos resultados concuerdan con los expuestos por M Sultan [17] donde al igual que el estudio previo a mayor porcentaje de extracto de *R. officinalis*. en ionómero de vidrio, mayor el efecto antibacteriano, atribuyéndose al aumento en el porcentaje de terpenoides, flavonoides y polifenoles (típicamente de diosmina, luteolina y alfa-pineno). A estos fitocompuestos se les ha confirmado actividad antimicrobiana por inhibición de ácidos nucleicos, síntesis de ácido y alteración de la membrana citoplasmática.

Asimismo, se ha demostrado que el extracto de romero es eficaz en la reducción de biofilms microbianos responsables de diversas infecciones, incluyendo microorganismos con resistencia microbiana ante tratamiento convencionales [28], otras investigaciones Salcedo et al [29], mostraron que el halo de inhibición promedio de especies como *Erythroxylum novogranatense* var. *truxillense* al 100% fue de 15,30 mm, asimismo determinaron que a 75% de concentración presenta más inhibición; al respecto como se expuso en las investigaciones previas se conoce que el extracto alcohólico de romero presentó actividad antibacteriana variable frente a *S. mutans*, observándose que su efectividad aumentaba con mayores concentraciones del extracto, resultados concordantes con la presente investigación donde la mayor inhibición bacteriana se observó con una concentración del 75%, donde se alcanzó un promedio de halo de inhibición de 16.83 mm, lo que indica una alta sensibilidad. Otras concentraciones también mostraron actividad significativa, como el 100% (15.65 mm), 50% (16 mm), y 25% (14 mm), aunque con menor efectividad, cabe mencionar que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto de romero fue de 1 mg/dl, lo que indica una baja cantidad necesaria para inhibir el crecimiento de *S. mutans*, por lo tanto, se determinó que la susceptibilidad al extracto alcohólico varió según las concentraciones del mismo.

Debido al aumento global de la resistencia de antimicrobianos, esta investigación tuvo como objetivo comprobar un agente antimicrobiano natural de origen vegetal, con el estudio de la concentración mínima inhibitoria del extracto alcohólico de *R. officinalis* “romero” sobre los cultivos in vitro de *S. mutans* fue de 1.0 mg/ml y se comprobó una buena inhibición de la bacteria (Tabla 04), resultados similares a los expuestos por Zoysa et al [30] en su investigación donde los valores de MIC obtenidos de las plantas *Epaltes divaricata* y *Vetiveria zizanioides* demostraron una mayor actividad antibacteriana, oscilando entre 0,003 y 1.0 mg/ml. Del mismo modo Günther et al [31] refiere que el *R. officinalis* disminuye el crecimiento de *S. mutans*, por lo cual se recomendaría su aplicación en casos de prevención para la caries dental

V. CONCLUSIONES

El efecto antibacteriano del extracto de *R. officinalis* “romero” sobre la bacteria *S. mutans*, se debe a los principios activos beneficiosos, incluyendo, ácidos fenólicos, 1,8 cineol, Alcanfor, α pineno, Acetato de bornilo, Flavonoides y Triterpenoides, estos componentes tienen beneficios potenciales para la salud, como antioxidantes, antiinflamatorios y antimicrobianos.

Se determinó que el extracto alcohólico de *R. officinalis* “romero” en la concentración al 75% tuvo mayor efecto antimicrobiano contra *S. mutans* con un halo de inhibición de 16,83 mm indicándonos que es más sensible a esta concentración, además a una concentración al 100% con 15,65 mm; 50% con 16 mm; 25% con 14 mm.

Se determinó que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del *R. Officinalis* sobre *S. mutans*, fue de 1 mg/dl, demostrando efectividad ante la bacteria grampositiva, por lo tanto, las comparaciones realizadas con otras investigaciones sobre la existencia del efecto antimicrobiano presente en distintas plantas ancestrales, permitieron comprobar los múltiples efectos del romero como antimicrobiano y de uso exitoso en el ámbito clínico dental.

Los descubrimientos podrían ser de gran valor en el ámbito de la medicina complementaria o natural, ofreciendo una alternativa para enfrentar la resistencia bacteriana originada por el uso indebido de antibióticos.

Agradecimientos

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Investigación de la Facultad de Medicina y en el Instituto y Centros de Investigación de la Universidad Cesar Vallejo, Perú. Un agradecimiento especial al Mblgo. Juan Miguel Alva Sevilla por su valioso apoyo y dedicación en el estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] N. Jain, U. Dutt, I. Radenkov, and S. Jain, “WHO’s global oral health status report 2022: Actions, discussion and implementation,” *Oral Dis.*, vol. 30, no. 2, pp. 73–79, 2024. <https://doi.org/10.1111/odi.14516>
- [2] K. Márquez-Pérez, C. M. Zúñiga-López, R. Torres-Rosas, and L. Argueta-Figueroa, “Reported prevalence of dental caries in Mexican children and teenagers.” Zenodo, 2023. <https://doi.org/10.5281/zenodo.8316465>
- [3] M. Cabello-Pasten, M. Valenzuela-Urrea, L. Epuyao-González, and H. Fuentes-Barría, “Caries Dental y Estado Nutricional en Chilenos con Dentición Mixta de entre 5 a 12 Años. Estudio Observacional,” *Int. J. Odontostomatol.*, vol. 16, no. 4, pp. 591–596, 2022. <https://doi.org/10.4067/s0718-381x2022000400591>
- [4] *MINSA Ministerio de Salud. El 90.4% de los peruanos tiene caries dental.* 2019.
- [5] Manu Rathee, & Sapra, A. “Dental Caries. Nih.gov; StatPearls.”. 2023, June 21.

- [6] S. Ballesteros Ramírez, S. Manzano Saldarriaga, and G. Emilsen Pabón, “Factores de riesgo de la caries de la infancia temprana relacionados a hábitos de crianza en Latinoamérica,” *rob*, vol. 6, no. 1, pp. 33–40, 2022.
- [7] C. Borrell García, E. García Miralles, and L. Marqués Martínez, “Association between eating behavior pattern and caries in a population of children aged 3 to 9 years in the province of Alicante,” *Nutr. Hosp.*, 2021.
- [8] T. Liu *et al.*, “Interspecies Interactions Between Streptococcus Mutans and Streptococcus Agalactiae in vitro,” *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, vol. 10, 2020.
- [9] P. D. D. A. & G. M. S. Cruz, *Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal*. 2017 [citado el 29 de junio de 2024] 54(1):84–99: Rev Cubana Estomatología.
- [10] E. T. Moghadam *et al.*, “Current herbal medicine as an alternative treatment in dentistry: In vitro, in vivo and clinical studies,” *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 889, no. 173665, p. 173665, 2020.
- [11] S. Z. & A. C. C. Paítan, *Plantas medicinales más usadas para el alivio del dolor dental en los pobladores de Huancani, Huancayo*. Universidad Continental; 2023
- [12] T. M. & M. Z. X. Solano, *Inhibición del streptococcus mutans, mediante el uso de extracto acuoso y oleoso de Rosmarinus officinalis “romero.”* Odontología .2016.
- [13] R. Kannan, S. Sridharan, and P. R. Jnaneshwar, “Effects of curcumin, curcumin–Rosemary, and chlorhexidine mouthwashes on streptococcus mutans in patients undergoing orthodontic treatment: An in vivo study,” *World J. Dent.*, vol. 14, no. 6, pp. 541–546, 2023
- [14] V. Machiulskiene *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.*, vol. 54, no. 1, pp. 7–14, 2020
- [15] S. Paladines-Calle, B. Villavicencio-Corral, M. Motoche-Carrión, and J. Sarmiento-Ordóñez, “Serotipos prevalentes de Streptococcus mutans en América Latina,” *Rev. ADM*, vol. 80, no. 4, pp. 214–219, 2023.
- [16] M. Günther *et al.*, “The antimicrobial effect of Rosmarinus officinalis extracts on oral initial adhesion ex vivo,” *Clin. Oral Investig.*, vol. 26, no. 6, pp. 4369–4380, 2022. <https://doi.org/10.1007/s00784-022-04400-5>
- [17] M. Sultan and Y. Abed, “Antibacterial activity and compressive strength of Rosmarinus officinalis L. modified glass ionomer cement,” *Egypt. Dent. J.*, vol. 68, no. 2, pp. 1819–1826, 2022. <https://doi.org/10.21608/edj.2022.111910.1924>
- [18] Clinical Laboratory Standard Institute. CLSI. M, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. Testing. 27th Ed. Clinical & Laboratory Standards Institute. 2017.
- [19] E. Flores-Villa, A. Sáenz-Galindo, A. O. Castañeda-Facio, and R. I. Narro-Céspedes, “Romero (Rosmarinus officinalis L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios,” *TIP*, vol. 23, 2020.
- [20] A. Olivas., *Evaluación de la capacidad antibacteriana del gel de aloe vera y extracto de romero en conos de gutapercha*. Universidad Autónoma de Querétaro.2024.
- [21] S. Alzamora, *Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de Schinus molle L. (molle) sobre Streptococcus mutans ATCC 25175*. Universidad Cesar Vallejo. 2021
- [22] E. Janampa *et al.*, “Antibacterial activity of ethanol extract of the leaves of Rosmarinus officinalis L. at different concentrations versus Streptococcus mutans: An In vitro comparative study,” *European J. Gen. Dent.*, vol. 9, no. 03, pp. 152–156, 2020. https://doi.org/10.4103/ejgd.ejgd_148_20
- [23] F. Pappachan, A. Suku, and S. Mohanan, “Rosmarinus officinalis,” in *Herbs, Spices and Their Roles in Nutraceuticals and Functional Foods*, Elsevier, 2023, pp. 149–170. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-90794-1.00017-x>
- [24] M. H. Alu’datt *et al.*, “Pharmaceutical, nutraceutical and therapeutic properties of selected wild medicinal plants: Thyme, spearmint, and Rosemary,” in *Therapeutic, Probiotic, and Unconventional Foods*, Elsevier, 2018, pp. 275–290. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814625-5.00014-5>
- [25] V. M. Corbu *et al.*, “Eco-friendly solution based on Rosmarinus officinalis hydro-alcoholic extract to prevent biodeterioration of cultural heritage objects and buildings,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, no. 19, p. 11463, 2022. <https://doi.org/10.3390/ijms231911463>
- [26] P. Mena, M. Cirlini, M. Tassotti, K. Herrlinger, C. Dall’Asta, and D. Del Rio, “Phytochemical profiling of flavonoids, phenolic acids, terpenoids, and volatile fraction of a Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract,” *Molecules*, vol. 21, no. 11, p. 1576, 2016. <https://doi.org/10.3390/molecules21111576>

- [27] F. Mayta-Tovalino et al., “Ethanol extract of *Schinus molle* L. (molle) and *Erythroxyllum coca* Lam (coca): Antibacterial properties at different concentrations against *Streptococcus mutans*: An in vitro study,” *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.*, vol. 10, no. 5, p. 579, 2020.
10.4103/jispcd.JISPCD_237_20
- [28] J. R. de Oliveira, S. E. A. Camargo, and L. D. de Oliveira, “*Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent,” *J. Biomed. Sci.*, vol. 26, no. 1, 2019.
<https://doi.org/10.1186/s12929-019-0499-8>
- [29] M. D. R. Salcedo Calderón and H. Moromi Nakata, “Efecto del extracto etanólico *Erythroxyllum novogranatense* var. *truxillense* y *Erythroxyllum coca* var. *coca* frente al *Streptococcus mutans*,” *Rev. Estomatol. Hered.*, vol. 32, no. 4, pp. 365–370, 2022.
- [30] M. H. N. De Zoysa, H. Rathnayake, R. P. Hewawasam, and W. M. D. Gaya Bandara Wijyaratne, “Determination of *in vitro* antimicrobial activity of five Sri Lankan medicinal plants against selected human pathogenic bacteria,” *Int. J. Microbiol.*, vol. 2019, pp. 1–8, 2019.
- [31] J. Hickl *et al.*, “Mediterranean herb extracts inhibit microbial growth of representative oral microorganisms and biofilm formation of *Streptococcus mutans*,” *PLoS One*, vol. 13, no. 12, p. e0207574, 2018