



ACCIÓN BACTERICIDA DEL *THYMUS VULGARIS LAMIACEAE* VERSUS LA CLORHEXIDINA SOBRE *ENTEROCOCCUS* *FAECALIS* Y *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

Bactericidal action of *Thymus Vulgaris Lamiaceae* versus chlorhexidine
against *Enterococcus faecalis* and *Porphyromonas gingivalis*

Ulloa - Vergara Mario Alejandro^{*1,2} ; Sarabia - Antamba Alex Efraín^{1,3} ; Fuentes - Ayala Amparo Rocio^{1,4} 

¹ Carrera de Odontología, Universidad Internacional del Ecuador, C.P. 170514, Quito, Ecuador

² <https://orcid.org/0009-0004-6643-2161>

³ <https://orcid.org/0009-0004-8236-527X>

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-8289-7867>

*maulloave@uide.edu.ec

RESUMEN

La finalidad de este estudio fue evaluar como el Tomillo, en sus diferentes concentraciones, afecta las bacterias *Porphyromonas gingivalis* y *Enterococcus faecalis*. El método que se desarrolló fue utilizando un enfoque que se trata sobre la cuantificación de datos, siendo este de naturaleza exploratoria, cuasiexperimental y realizado fuera de un organismo vivo (in vitro). Se eligió de manera intencionada una muestra compuesta de las bacterias determinadas (*Porphyromonas gingivalis* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212), las cuales se obtuvieron de un cultivo realizado en agar sangre proveniente de cordero. Estas muestras fueron sometidas a diferentes concentraciones de aceite esencial de Tomillo al 25%, 50% y 100%; éstas se aplicaron por separado con una solución de clorhexidina al 2%. Los resultados fueron observados en tres marcas de tiempo; a las 24h, 48h y 72h. Como resultado, se obtuvo que el Tomillo si cumplió con de manera antimicrobiano bactericida, sin embargo, fue menos efectivo en comparación con la clorhexidina, ya que esta demostró ser máximo bactericida. El Tomillo en la concentración de 50% a las 72 horas fue más efectivo que otras combinaciones. Por lo tanto, el Tomillo se presentó consistente, pero menos efectivo que la clorhexidina al 2%.

Palabras clave: Clorhexidina, *Enterococcus faecalis*, Técnicas In Vitro, Thymus y *Porphyromonas gingivalis*.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate how thyme, in its different concentrations, affects the bacteria *Porphyromonas gingivalis* and *Enterococcus faecalis*. The method developed followed a quantitative data approach, being exploratory in nature, quasi-experimental, and conducted outside of a living organism (in vitro). A purposive sample composed of the specified bacteria (*Porphyromonas gingivalis* ATCC 25175 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) was selected; these were obtained from a culture grown on sheep blood agar. The samples were exposed to different concentrations of thyme essential oil at 25%, 50%, and 100%. These were applied separately along with a 2% chlorhexidine solution. The results were observed at three time intervals: 24h, 48h, and 72h. As a result, it was found that thyme did exhibit antimicrobial bactericidal activity; however, it was less effective compared to chlorhexidine, which proved to be maximally bactericidal. Thyme at a 50% concentration after 72 hours was more effective than the other combinations. Therefore, thyme showed consistent, but lower effectiveness than 2% chlorhexidine.

Key words: Chlorhexidine, *Enterococcus faecalis*, In Vitro Techniques, Thymus Plant, *Porphyromonas gingivalis*.

INTRODUCCIÓN

La cavidad oral es el principal hábitat de una amplia variedad de microorganismos. Estos pueden alterar el equilibrio del microbiota oral y contribuir al desarrollo de patologías odontogénicas comunes, como la caries, las enfermedades periodontales y las infecciones endodónticas.^{1,2} Por otro lado, se ha señalado que la contaminación microbiana en el área endodóntica puede extenderse a otras partes del cuerpo. Por ello, su enfoque principal radica en la prevención y el tratamiento de las patologías periapicales provocadas por dichos microorganismos.³

El *Thymus vulgaris* es una planta que se utiliza para extraer el aceite esencial de Tomillo en el campo de la odontología.⁴ Su aceite esencial ha demostrado propiedades antimicrobianas significativas; en particular, ha manifestado un notable efecto bactericida por la eliminación de bacterias problemáticas, como *Enterococcus faecalis* y *Porphyromonas gingivalis*. Estos dos tipos de bacterias están directamente involucrados en la formación del biofilm dental, que es una comunidad microbiana altamente variada que se desarrolla en la superficie de los dientes y se encuentra asociada con enfermedades bucales, como periodontitis, infecciones endodónticas y caries.⁴

En este sentido, el aceite de Tomillo se presenta como una alternativa prometedora para la prevención e intervención de infecciones causadas por microorganismos en tratamientos endodónticos.⁴ Su uso podría mejorar la eficacia del tratamiento y reducir los riesgos asociados a los métodos químicos convencionales.² Por esta razón, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia del Tomillo en comparación con la clorhexidina, con el propósito de promover su aplicación más frecuente en el ámbito odontológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio adopta un enfoque cuantitativo y exploratorio, orientado a recolectar y analizar datos numéricos con el fin de examinar fenómenos poco estudiados y responder a la hipótesis planteada. El estudio es cuasiexperimental, sin asignación aleatoria, comparando un grupo tratado con otro similar no tratado para evaluar posibles efectos del tratamiento. La investigación se llevó a cabo en condiciones in vitro, simulando un entorno controlado.

La hipótesis formulada plantea que el extracto de *Thymus vulgaris* L., en concentraciones del 25%, 50% y 100%, posee una acción bactericida igual o superior a la clorhexidina al 2% frente a *Enterococcus faecalis* y *Porphyromonas gingivalis*.

Las co-variables consideradas en este trabajo fueron la Humedad del medio, temperatura, tiempo de exposición.

Se seleccionaron las muestras con el objetivo de corroborar la hipótesis propuesta. El estudio se centró en las bacterias *Porphyromonas gingivalis* ATCC 25175 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, las cuales fueron obtenidas de un cultivo en agar sangre de cordero. Es importante destacar que cada tipo de bacteria se asocia con una especialidad concreta: *Enterococcus faecalis* se vincula con la endodoncia y *Porphyromonas gingivalis* está relacionada con la periodoncia. (Figura 1)

La preparación del aceite esencial de Tomillo se realizó en los laboratorios de microbiología de la Universidad Central del Ecuador. Las hojas fueron lavadas, desinfectadas con una solución de alcohol potable (60%) y agua (40%), y secadas en estufa a 40 °C durante 72 horas para preservar sus compuestos activos. La extracción se efectuó mediante destilación por vapor, utilizando 1,5 kg de hojas secas y trituradas, obteniéndose aproximadamente 8 ml de aceite esencial.

El producto fue filtrado, almacenado en frascos de vidrio oscuro y esterilizado con luz UV durante 15 minutos. Las soluciones diluidas se irradiaron por 45 minutos adicionales, asegurando su pureza y estabilidad para el uso experimental.

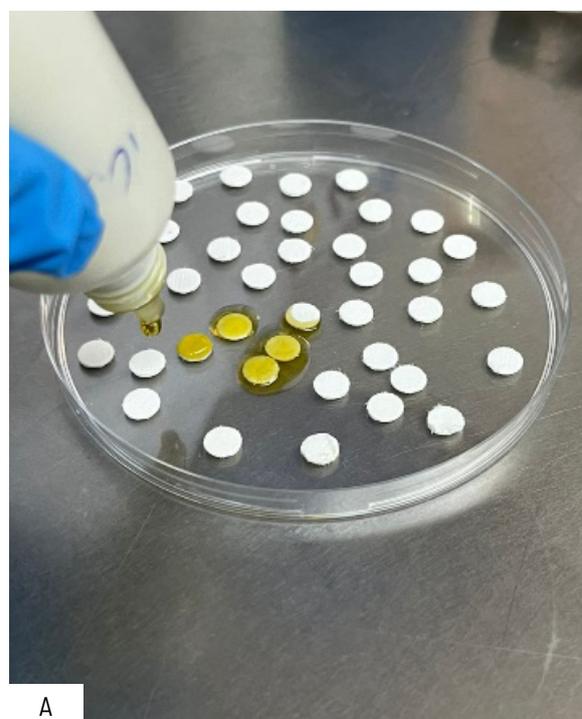




Figura 1: Inoculación del disco con el principio activo A: Colocación del aceite esencial. B: Absorción del aceite en los discos.

Se trabajó con cultivos de *Porphyromonas gingivalis* y *Enterococcus faecalis* bajo estrictos protocolos de bioseguridad, asegurando condiciones óptimas para su desarrollo. Se realizó técnica de siembra para colocar los discos de Tomillo y clorhexidina en sus distintas concentraciones. La eficacia bactericida se evaluó mediante la medición de los halos de inhibición a las 24, 48 y 72 horas, permitiendo comparar la efectividad de ambos agentes frente a cada bacteria. (Figura 2)

Para el estudio se utilizaron materiales como agar sangre, agar Mueller-Hinton, placas de Petri, discos de sensibilidad sin antibiótico, sobres para anaerobiosis, clorhexidina al 2% y el aceite esencial de Tomillo. Estos insumos garantizaron precisión y control experimental. El objetivo principal fue profundizar en el análisis del uso de sustancias naturales y químicas en el tratamiento de infecciones en endodoncia y periodoncia.

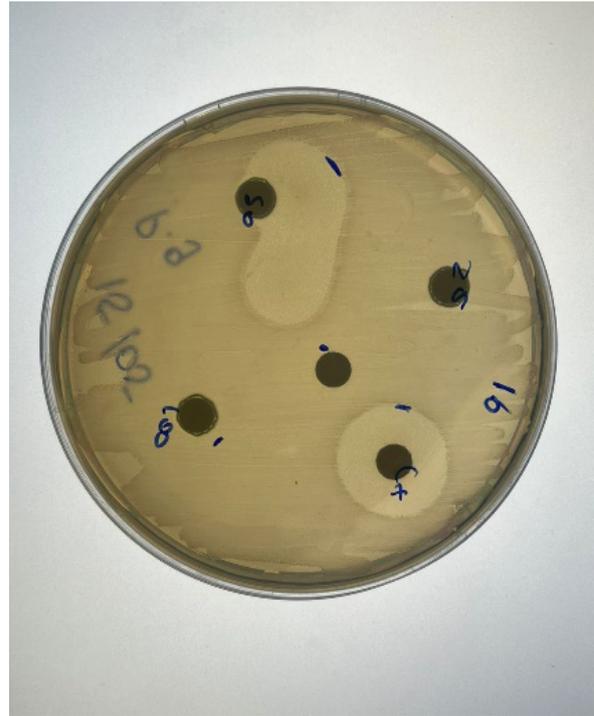


Figura 2: Diámetros de halos de inhibición

Para el examen de los datos recopilados, se utilizaron pruebas estadísticas como las medidas de frecuencia dispersión para determinar las diferencias significativas. La información se distribuyó en tablas y gráficos. Además, se emplearon técnicas de estadística descriptiva e inferencial para interpretar los valores alcanzados.

Dado el enfoque del estudio y la selección de las muestras, se asegura que no se ha vulnerado la dignidad de ningún individuo. Al tratarse de una investigación in vitro, se minimiza el impacto ambiental y sobre los seres vivos. Además, se siguieron protocolos rigurosos que garantizan el cumplimiento de principios éticos y ambientales en todas las etapas del estudio.

RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados alcanzados del uso de la clorhexidina al 2% y el Tomillo en tres concentraciones en 32 muestras. Se incluye la media, mínimos, máximos y desviación estándar.

Porphyromonas gingivalis

A las 24 horas, se observa que el Tomillo al 25% presenta una baja eficacia antimicrobiana. (Tabla 1) En cambio, las concentraciones del 50% y 100% muestran una mayor efectividad. La clorhexidina al 2%, utilizada como control

positivo, alcanza un promedio de 21,74 con una desviación estándar de 1,86, lo que refleja una alta eficacia y

baja variabilidad, siendo constante y confiable frente a *Porphyromonas gingivalis*. (Tabla 1)

Tabla 1. Actividad del Tomillo sobre la bacteria *Porphyromonas gingivalis*

Concentración	24 horas				48 horas				72 horas			
	Media	Mín.	Máx.	Desv.	Media	Mín.	Máx.	Desv.	Media	Mín.	Máx.	Desv.
Tomillo al 25%	10,51	<10	15	1,5	15,48	<10	28	4,84	23,77	<10	40	6,34
Tomillo al 50%	22,82	10	34	6,57	24,53	10	36	6,62	25,47	14	40	6,09
Tomillo al 100%	12,6	10	19	1,99	13,68	10	30	3,31	13,29	10	19	3,03
Clorhexidina al 2%	21,74	14	25	1,86	22,18	19	33	2,17	22,21	16	28	2,19

Mín. = Mínimo Máx. = Máximo, Desv. = Desviación estándar

Tabla 2. Actividad del Tomillo sobre la bacteria *Enterococcus faecalis*

Concentración	24 horas				48 horas				72 horas			
	Media	Mín.	Máx.	Desv.	Media	Mín.	Máx.	Desv.	Media	Mín.	Máx.	Desv.
Tomillo al 25%	10,84	10	14	0,95	11,06	10	14	0,98	11,06	10	14	0,98
Tomillo al 50%	11,28	10	13	0,92	11,5	10	14	0,8	10,66	10	13	0,75
Tomillo al 100%	10,66	10	12	0,79	11,41	10	14	1,04	10,84	10	14	0,85
Clorhexidina al 2%	18,5	16	23	1,19	19,47	16	22	1,29	18,59	10	22	2,21

Mín. = Mínimo Máx. = Máximo, Desv. = Desviación estándar

A las 48 horas, el Tomillo al 50% muestra la mayor eficacia con una media de 24,53, superando a las concentraciones del 25% y 100%. Sin embargo, la desviación estándar indica que los resultados no son completamente uniformes. En contraste, la clorhexidina mantiene su alta efectividad y consistencia, lo que la posiciona como una opción más confiable. (Tabla 1)

Después de 72 horas, el Tomillo al 50% continúa destacándose por su eficacia y consistencia, superando incluso a la clorhexidina en cuanto a la media de acción antimicrobiana. No obstante, la clorhexidina sigue siendo una alternativa más predecible y estable frente a *Porphyromonas gingivalis*. (Tabla 1)

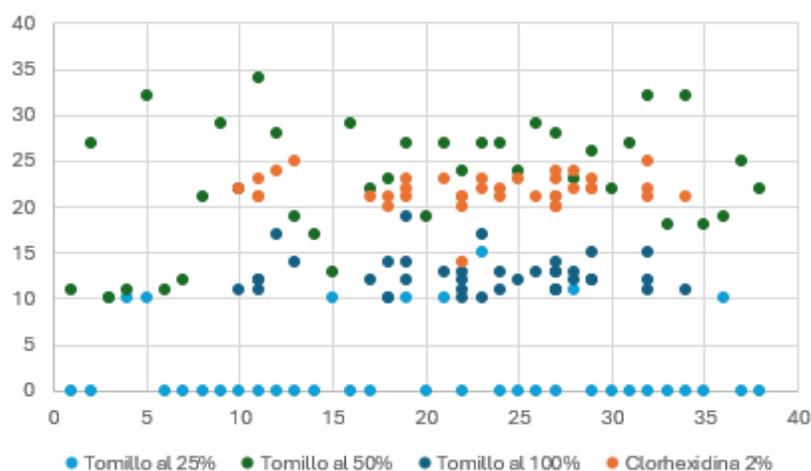


Figura 1. Actividad del *Porphyromonas gingivalis* con el Tomillo en distintas concentraciones y la Clorhexidina al 2%

Por último, se resalta que la Clorhexidina al 2% es más efectiva que las concentraciones de Tomillo sobre la *Porphyromonas gingivalis*. Y, el Tomillo al 25% exhibe una mínima actividad bactericida en contraste con las otras concentraciones. (Figura 1)

Bacteria *Enterococcus faecalis*

En 24 horas, se destaca una variación en la efectividad antimicrobiana entre la clorhexidina al 2% y las concentraciones de Tomillo. El promedio la actividad antimicrobiana revela que el Tomillo en las distintas concentraciones es menor a la clorhexidina. Y el rango de acción antimicrobiana de la clorhexidina (16 a 23) es más amplio en contraste con el Tomillo, lo que indica una mayor variabilidad en su eficacia. Se puede decir que el efecto an-

timicrobiano del Tomillo es más uniforme, sin embargo, es menos potente (Tabla 2).

En 48 horas, se exhibe cierta actividad antimicrobiana en el Tomillo, su eficacia es notablemente inferior en contraste con la clorhexidina. Además, la variabilidad es menor del Tomillo, no obstante, estos son menos potentes que la clorhexidina (Tabla 2).

En 72 horas, se presenta cierta actividad antimicrobiana en el Tomillo, su eficacia sigue siendo inferior a la de la clorhexidina. Por otro lado, la desviación estándar para la clorhexidina es más alta a diferencia del Tomillo, aunque su eficacia media es significativamente superior (Tabla 2).

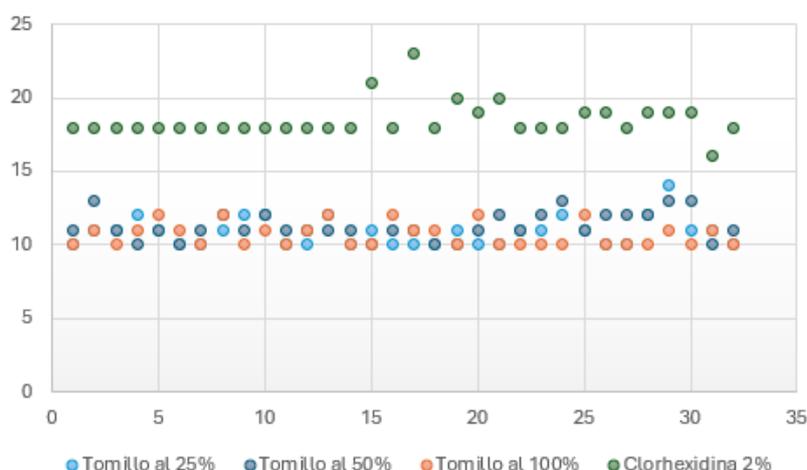


Figura 2. Actividad del *Enterococcus faecalis* con el Tomillo en distintas concentraciones y la Clorhexidina al 2%

Se observa que este último principio activo muestra una acción bactericida consistente contra *Enterococcus faecalis* en las distintas concentraciones, aunque esta es inferior en contraste con el uso de Clorhexidina. (Figura 2)

DISCUSIÓN

Con los resultados obtenidos se puede realizar una crítica sobre el potencial del aceite esencial de Tomillo como alternativa antimicrobiana y bactericida en el tratamiento de infecciones orales, especialmente frente a *Porphyromonas gingivalis* y *Enterococcus faecalis*. Aunque se ha comprobado su actividad bactericida en diferentes concentraciones, su eficacia, en comparación con la clorhexidina al 2%, presenta limitaciones importantes en cuanto a potencia y predictibilidad.

Los resultados experimentales, si bien muestran que el Tomillo posee propiedades antimicrobianas, también re-

velan que su acción depende de variables como la concentración y el tiempo de exposición. Esto sugiere que, si bien es un compuesto natural con efecto biocida, su aplicación clínica podría requerir ajustes en su formulación o combinaciones con otros agentes para lograr una eficacia comparable a la clorhexidina. Esto coincide con estudios previos, que demostraron que el Tomillo puede ser eficaz en biopelículas maduras, pero bajo condiciones específicas de exposición y concentración.⁵

Asimismo, los contrastes con investigaciones, evidencian que la efectividad del Tomillo también está influenciada por factores como el tipo de cepa bacteriana, el ambiente de incubación y la temperatura.^{6,7} Estos elementos podrían explicar la variabilidad observada en este estudio respecto al comportamiento del Tomillo frente a *E. faecalis*, donde la acción fue más uniforme pero menos potente, un patrón recurrente también reportado en la literatura.^{6,7}

Por otro lado, la clorhexidina mantiene su posición como agente de referencia en el control de bacterias patógenas orales. A pesar de presentar cierta variabilidad en su rendimiento, su alta eficacia y constancia la hacen clínicamente confinable.^{8,9} Además, su efectividad prolongada frente a biofilms, le otorgan una ventaja significativa sobre el Tomillo en contextos donde se requiere una acción sostenida y preventiva.^{10,11}

Un aspecto relevante que surge del análisis es que el Tomillo podría considerarse como un agente complementario, más que sustitutivo, de la clorhexidina. Su uso podría explorarse en terapias integrativas o en pacientes con hipersensibilidad a antisépticos sintéticos, siempre que se optimicen sus formulaciones. La literatura respalda esta idea al destacar el potencial del Tomillo en concentraciones elevadas como tratamiento localizado para periodontitis apical.¹²

Finalmente, el hecho de que el Tomillo muestre actividad contra ambas bacterias, aun con una eficacia inferior, refuerza su valor como agente natural con propiedades terapéuticas. Sin embargo, su incorporación a protocolos clínicos requerirá estudios adicionales que evalúen no solo su eficacia in vitro, sino también su comportamiento en entornos clínicos reales, su biocompatibilidad, estabilidad y posibles efectos secundarios.

No obstante, es importante reconocer las limitaciones metodológicas propias de este estudio. Al tratarse de un modelo in vitro, no se replica completamente la complejidad biológica de un organismo vivo. Las interacciones dinámicas entre tejidos, la respuesta inmunológica y los efectos de metabolización quedan fuera del alcance de este enfoque. Asimismo, los efectos secundarios o sistémicos que podrían surgir con el uso del Tomillo o la clorhexidina no pueden ser evaluados en este contexto, lo que limita la extrapolación directa de los resultados a situaciones clínicas reales. Por otro lado, los tiempos de exposición establecidos en el estudio no necesariamente reflejan los tiempos de contacto reales que se darían en la cavidad oral, lo que podría alterar la efectividad observada.

CONCLUSIÓN

Este estudio in vitro permitió comparar la eficacia bactericida del extracto de *Thymus vulgaris* L. en concentraciones del 25%, 50% y 100% frente a la clorhexidina al 2% contra *Enterococcus faecalis* y *Porphyromonas gingivalis*. Los resultados evidenciaron que, aunque el Tomillo posee propiedades antimicrobianas, su efectividad es

considerablemente inferior en comparación con la clorhexidina, especialmente frente a *E. faecalis*, donde esta última mostró mayor potencia y rango de acción.

Sin embargo, frente a *P. gingivalis*, el Tomillo al 50% demostró un desempeño bactericida más destacado, superando en algunos momentos incluso a la clorhexidina en términos de media de eficacia, aunque no en consistencia ni predictibilidad. Esto sugiere que el Tomillo tiene potencial como agente antimicrobiano complementario, particularmente en el control de bacterias periodontales.

En conjunto, se concluye que la clorhexidina al 2% continúa siendo la opción más efectiva y fiable en la práctica odontológica. No obstante, el extracto de *Thymus vulgaris* L., especialmente en su concentración del 50%, se perfila como una alternativa natural prometedora, que merece ser explorada más a fondo en estudios clínicos e in vivo para evaluar su viabilidad terapéutica real.

Referencias bibliográficas

1. Di Stefano M, Polizzi A, Santonocito S., Romano A, Lombardi T & Isola G. Impact of Oral Microbiome in Periodontal Health and Periodontitis: A Critical Review on Prevention and Treatment. *International Journal of Molecular Sciences* 2022;23(9):1-14: 5142. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23095142>
2. Galgano M., Pellegrini F, Del Sambro L, Capozzi L, Capozza P, Bianco A, Iandolo A, Omar A, Parisi A, Pratelli A & Buonavoglia A. *Thyme Essential Oil As an Antibacterial Irrigant in Root Canal Treatment: In Vitro Preliminary Study*. 2023;1:1-12. DOI: <https://doi.org/doi:10.20944/preprints202311.0078.v1>
3. Buonavoglia A, Pellegrini F, Lanave G, Diakoudi G, Lucente M. S, Zamparini, F, Camero M, Gandolfi M. G, Martella V & Prati C. Analysis of oral microbiota in non-vital teeth and clinically intact external surface from patients with severe periodontitis using Nanopore sequencing: A case study. *Journal of Oral Microbiology*. 2023;15(1):1-10: 2185341. DOI: <https://doi.org/10.1080/20002297.2023.2185341>
4. Shallal L. F & Ahmed M. A. Evaluating the Antibacterial Activities of *Thymus vulgaris* L. Essential Oil against Streptococcus Oral in Vitro Study. *Journal of Research in Medical and Dental Science*. 2022;10(8):1-09. Disponible en: <https://www.jrmds.in/archive/jrmds-volume-10-issue-8-year-2022.html>

5. Liu F, Jin P, Gong H, Sun Z, Du L & Wang, D. Antibacterial and antibiofilm activities of thyme oil against foodborne multiple antibiotics-resistant *Enterococcus faecalis*. *Poultry Science*. 2020; 99(10):1-10: 5127-5136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.06.067>
6. Borges B. M, Juglair M M, Alves F, Gabardo M. C. L, Bruzamolín C. D & Brancher J. A. The antimicrobial activity of essential oils of thyme, oregano, copaiba, tea tree, and frankincense against *Enterococcus faecalis* / Análise da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de tomilho, orégano, copaiba, melaleuca, e olíbano contra *Enterococcus faecalis*. *Brazilian Journal of Development*. 2022;8(2):1-13. 9079-9091. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv8n2-045>
7. Duckova V, Čanigová M, Kročko M & Bezeková J. Antibacterial activity of thyme and rosemary essential oil against *Enterococci* isolated from meat. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 2012;6(1):10-13. DOI: <https://doi.org/10.5219/178>
8. Deliberador T, Weiss S, Rychuv F, Cordeiro G, Cate M, Leonardi L, Brancher J & Scariot R. Comparative Analysis in Vitro of the Application of blue[®]m Oral Gel versus Chlorhexidine on *Porphyromonas gingivalis*: A Pilot Study. *Advances in Microbiology*. 2020;10: 194-201. DOI: <https://doi.org/10.4236/aim.2020.104015>
9. Tasken T, Ramesh R. & Rajeshkumar S. Estimation of antibacterial activity of ethanolic of *Clitoria ternatea* against *St.mutans* and *E. faecalis* - an in vitro study. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*. 2023;10(6), 1-15. Disponible en: <https://ejmcm.com/uploads/paper/bb60e72e305f4bf6e5ca-68712ce08223.pdf>
10. Ré A. C. S, Bonjovanni M. C, Ferreira M. P, Freitas O & Aires C. P. Effect of an Experimental Formulation Containing Chlorhexidine on Pathogenic Biofilms and Drug Release Behavior in the Presence or Absence of Bacteria. *Pharmaceutics*. 2019;11(2):1-9: 88. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11020088>
11. Ruiz M. A, Terrones-Campos W, Cueva-Yesán D. A, Sánchez-Villavicencio M. F & Cabrejo-Paredes J. E. Potencial antibacteriano de un enjuague bucal a base de *Azadirachta indica* (neem) sobre patógenos orales. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 2023;52(2)1-17. 02302386. Disponible en: <https://revmedmilitar.sld.cu/index.php/mil/article/view/2386>
12. Hans V, Grover H, Deswal H & Agarwal P. Antimicrobial Efficacy of Various Essential Oils at Varying Concentrations against Periopathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR*. 2016;10(9):16-19: DOI: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/18956.8435>

Aceptado:

Recibido:

Publicado: