

Efecto del extracto de plantas medicinales sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

Effect of medicinal plant extract on the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

Flor Teresa García Huamán¹, Marleny Angeles Trauco²

RESUMEN

crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. El diseño de estudio fue experimental, diseño factorial, de corte transversal. Se aislaron las bacterias y se obtuvieron extractos, utilizando 1 L. de etanol (QP) por cada 100g. de hoja triturada. Se almacenó a temperatura ambiente por 20 días, se filtró y evaporó a 40°C. Posteriormente se colocó 10ul a discos de papel de 6mm., luego se realizó la siembra y colocación de los discos, después de 48 horas se midió los halos de inhibición. Se encontró que los extractos no afectan el crecimiento de *E. Coli* pero si inhiben el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Se concluye que el efecto de los extractos de las plantas medicinales como: *Aloysia citriodora* “cedrón”, *Ambrosia arborescens* “marco”, *Bidens pilosa* “cadillo”, *Dodonaea viscosa* “chamana”, *Matricaria chamomilla* “manzanilla”, *Minthostachys mollis* “poleo”, *Psidium guajaba* “guayaba”, *Plantago major* “llantén”, *Taraxacum officinale* “diente de león” es negativa para *Escherichia coli*, pues no se evidenciaron halos de inhibición a diferencia de *Staphylococcus aureus* donde se observó un efecto positivo, evidenciándose halos de inhibición, siendo el mayor (23.3 mm) con *Aloysia citriodora* y el menor (9 mm) con *Matricaria chamomilla*.

Palabras clave: Extracto de plantas, antibacterianos

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of the extract of medicinal plants on the growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The study design was experimental, factorial design, cross sectional. The bacteria were isolated and extracts were obtained, using 1 L. of ethanol (QP) per 100g. of crushed leaf. It was stored at room temperature for 20 days, filtered and evaporated at 40 ° C. Subsequently, 10ul was placed on 6mm paper discs, then sowing and placement of the discs was performed, after 48 hours the inhibition halos were measured. It was found that the extracts do not affect the growth of *E. coli* but do inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*. It is concluded that the effect of medicinal plant extracts such as: *Aloysia citriodora* “cedrón”, *Ambrosia arborescens* “marco”, *Bidens pilosa* “cadillo”, *Dodonaea viscosa* “chamana”, *Matricaria chamomilla* “manzanilla”, *Minthostachys mollis* “poleo”, *Psidium guajaba* “guayaba”, *Plantago major* “llantén”, *Taraxacum officinale* “diente de león” is negative for *Escherichia coli*, since no inhibition halos were evidenced unlike *Staphylococcus aureus* where a positive effect was observed, evidencing inhibition halos, being the major (23.3 mm) with *Aloysia citriodora* and the minor (9 mm) with *Matricaria chamomilla*.

Keywords: Plant extract, antibacterial

¹Docente Principal de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Biólogo-Microbiólogo, Magister en Ciencias con Mención en Gestión Ambiental, Doctora en Ciencias Ambientales y Especialista en Gestión de la Biodiversidad. Universidad Nacional de Trujillo. Correo Electrónico: flor.garcia@untrm.edu.pe

²Técnica del Laboratorio de Tecnología Agroindustrial. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. .

I. INTRODUCCIÓN

El control de diferentes patologías, ya sean causadas por hongos o bacterias, utilizando extractos metanólicos de una gran variedad de plantas medicinales cultivadas en Ecuador, es algo que aún no ha sido probado. La mayoría de plantas sometidas a estudio han demostrado poseer efectos antibacterianos y antifúngicos, aparte de que poseen propiedades curativas además de las mencionadas, las cuales podrían estar relacionadas con la biosíntesis de metabolitos biológicamente activos, según el hábitat donde crecen las plantas. (Azüero, et al., 2016).

En las distintas regiones del Perú, costa, sierra y selva se cuenta con gran variedad de plantas medicinales que la ciencia está considerando como objeto de estudio por sus metabolitos secundarios con carácter antimicrobiano.

El Fundo Vitaliano está ubicado a 2,450 m.s.n.m, se encuentra en la provincia de Chachapoyas región Amazonas, cuenta con gran variedad de plantas medicinales tales como *Aloysia citriodora*, *Ambrosia arborescens*, *Bidens pilosa*, *Dodonaea viscosa*, *Matricaria chamomilla*, *Mintostachys mollis*, *Psidium guajaba*, *Plantago major*, *Taraxacum officinale*, cuyos metabolitos secundarios con poder antibacteriano todavía no han sido investigadas.

La multi resistencia de los microorganismos se ha desarrollado debido al uso indiscriminado de antibióticos comerciales comúnmente utilizados para tratar las enfermedades infecciosas. Esta situación, así como la aparición de efectos indeseables de ciertos antibióticos, ha llevado a los científicos a investigar nuevas sustancias antimicrobianas a partir de plantas consideradas popularmente medicinales, los ensayos realizados hasta la actualidad revelan que las plantas representan un potencial frente a nuevos agentes antimicrobianos. (Zampini, et al., 2007).

Actualmente uno de los problemas más comunes es que existen plantas medicinales que tienen una actividad antimicrobiana conocida por la población, sin embargo, no han sido analizadas a fondo, para determinar cuáles son sus beneficios, pasando muchas veces desapercibidas (Azüero, et al., 2016). Se han aislado alrededor de 12,000 compuestos procedentes de organismos vegetales y se estima que constituyen tan sólo el 10% de los metabolitos secundarios. Un porcentaje importante posee cierta actividad frente a los microorganismos. La razón de ser de estos compuestos se desconoce por el momento, existen distintas teorías, podrán ser compuestos con diferentes funciones y que de forma accidental aportan un poder antimicrobiano o realmente tienen una actividad antimicrobiana como primer fin. (Domingo y López, 2003).

Existen reportes en la literatura de que numerosas investigaciones están encaminadas a la búsqueda de

nuevos compuestos con actividades biológicas a partir de fuentes naturales, mientras otras están destinadas a verificar las propiedades que se les atribuye. (Avellaneda, et. al.; 2005).

II. MATERIAL Y MÉTODO

El diseño de estudio fue experimental: Diseño Factorial, de corte transversal. Se definieron dos factores: Las especies microbianas a dos niveles (*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*) y la aplicación del extracto de las plantas a nueve niveles (*Aloysia citriodora*, *Ambrosia arborescens*, *Bidens pilosa*, *Dodonaea viscosa*, *Matricaria chamomilla*, *Mintostachys mollis*, *Psidium guajaba*, *Plantago major*, *Taraxacum officinale*).

El aislamiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* se realizó a partir de muestras de carne.

Se aislaron cepas de *Escherichia coli*, utilizando agar Mac conkey a través de aislamiento primario mediante el método de estría y la identificación bioquímica se realizó en agar TSI, LIA, mediante la técnica de puntura posteriormente se realizó la prueba de indol. Las placas y tubos se incubaron a 37°C durante 18 a 24 h. *Escherichia coli* en agar Mac Conkey. Se aislaron colonias medianas, circulares, convexas, bordes redondeados, lactosa positiva, con coloración rosada.

El aislamiento de cepas de *Staphylococcus aureus*, se realizó mediante la técnica de estría en agar sangre de carnero al 5 % y se incubaron a 37 °C durante 18-24 h. Pasado ese tiempo se observaron las características de las colonias desde el punto de vista macroscópico (redondas, lisas, elevadas y resplandecientes que iban desde un color gris a amarillo dorado intenso, tornándose traslúcidas a casi transparentes, por lo general con una zona de β hemólisis). A una colonia característica se le realizó las pruebas de catalasa y coagulasa, confirmando la presencia de *S. aureus*, al resultar las mismas positivas. (Duquesne, et al., 2015).

Las hojas de plantas medicinales se recolectaron del fundo Vitaliano ubicado en el distrito de Chachapoyas, para ello se utilizaron bolsas de primer uso, las mismas que fueron transportadas al laboratorio de bioquímica y microbiología de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Se recolectaron hojas de las siguientes plantas: *Aloysia citriodora* "cedrón", *Ambrosia arborescens* "marco", *Bidens pilosa* "cadillo", *Dodonaea viscosa* "chamana", *Matricaria chamomilla* "manzanilla", *Mintostachys mollis* "poleo", *Psidium guajaba* "guayaba", *Plantago major* "llantén", *Taraxacum officinale* "diente de león".

Se recolectaron aproximadamente 5kg. de hojas de cada planta, se lavaron con agua destilada y se

pusieron a secar a temperatura ambiente, sin exposición solar para su deshidratación, por 24 horas y posteriormente en una estufa a 37°C por 24 horas. (Pimentel et al., 2015), (Azüero, et al., 2016).

Los 5kg de hojas secas fueron extendidas en una mesa y se seleccionaron las hojas libres de hongos. Luego se pulverizaron en una trituradora y se colocaron en un matraz de vidrio y se le agregó 1 L. de etanol químicamente puro (QP) por cada 100g. de hoja triturada. Se almacenó a temperatura ambiente por un lapso de 20 días para su maceración. (Pimentel et al., 2015).

El macerado se filtró usando un papel de filtro Whatman N°40, los remanentes se dejaron en maceración por 8 días y luego se filtraron con la misma técnica.

Posteriormente el filtrado fue sometido a evaporación a 40°C para extraer el etanol. (Pimentel et al., 2015),

A los extractos etanólicos se le realizó la prueba de esterilización utilizando caldo tioglicolato, evidenciándose el crecimiento microbiano por el enturbiamiento del medio de cultivo (Pimentel et al., 2015).

Con la ayuda de una micropipeta se aplicó 10ul. de extracto etanólico de plantas en discos de papel de filtro Whatman N°3, de 6mm. de diámetro (Azüero, et al., 2016).

Se procedió a realizar la siembra de los inóculos en placas Petri conteniendo en agar Mueller Hinton,

mediante la técnica de difusión, usando un hisopo, el cual se pasó de manera uniforme sobre la superficie del agar, luego se colocaron los discos antimicrobianos y se incubaron a 37°C de 24h a 48h. (Pimentel et al., 2015).

Después de 24 a 48h de incubación de las placas Petri, se midió los halos de inhibición. Las zonas claras que se formaron alrededor de los discos, se consideraron halos de inhibición, los cuales fueron medidos, registrando para cada uno el diámetro en milímetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano. (Azüero, et al., 2016).

El efecto antimicrobiano se determinó por los diferentes grados de inhibición del crecimiento bacteriano, se consideraron los rangos de los diámetros de inhibición. Los experimentos de análisis del efecto antimicrobiano de los extractos, fueron realizados por triplicado para cada una de las especies vegetales estudiadas. (Ríos et al., 2009).

Grados de inhibición	Rangos de diámetros
Ninguna actividad antimicrobiana	(-) Menor 6 mm.
Poca actividad antimicrobiana	(1+) 6-8 mm.
Mediana actividad antimicrobiana	(2+) 8-10 mm.
Alta actividad antimicrobiana	(3+) 10-14 mm.

III. RESULTADOS

Tabla1. Ausencia de halos de inhibición en los diferentes tratamientos para *Escherichia coli*

PLANTAS MEDICINALES	Número de tratamiento	Tamaño de halo de inhibición (mm)			PROMEDIO
		1	2	3	
Aloysia citriodora "cedrón"	T1	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I
Ambrosia arborescens "marco"	T1	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I
Bidens pilosa "cadillo"	T1	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I
Dononaea viscosa "chamana"	T1	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I
Matricaria chamomilla "manzanilla"	T1	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I
Mínthostachys mollis "poleo"	T1	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I
Psidium guajaba "guayaba"	T1	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I
Plantago mayor "llanten"	T1	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I
Taraxacum officinale "diente de león"	T1	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I

S/H.I : SIN HALO DE INHIBICIÓN

Tabla 2. Halos de inhibición (mm) en los diferentes tratamientos para *Staphylococcus aureus*

PLANTAS MEDICINALES	Número de tratamiento	Tamaño de halo de inhibición (mm)			PROMEDIO
		1	2	3	
Aloysia citriodora “cedrón”	T10	24mm	23mm	24	23.3mm
Ambrosia arborescens “marco”	T11	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I
Bidens pilosa “cadillo”	T12	14mm	13mm	13mm	13.3mm
Dononaea viscosa “chamana”	T13	12mm	13mm	13mm	12.6mm
Matricaria chamomilla “manzanilla”	T14	9mm	9mm	9mm	9mm
Mintostachys mollis “poleo”	T15	11mm	10mm	10mm	10.3mm
Psidium guajaba “guayaba”	T16	13mm	13mm	13mm	13mm
Plantago major “llanten”	T17	16mm	15mm	15mm	15.3mm
Taraxacum officinale “diente de león”	T18	S/H.I	S/H.I	S/H.I	S/H.I

S/H.I : SIN HALO DE INHIBICIÓN

IV. DISCUSIÓN

En años recientes se ha incrementado el interés en el uso de extractos naturales como alternativa para el control de microorganismos patógenos al hombre, como por ejemplo los extractos obtenidos del árbol del neen (*Azadirachta indica* A. Juss), que son una fuente natural contra una gran variedad de microorganismos patógenos (López, et al. ,2007).

La región Amazonas en el Perú; es una fuente de gran cantidad de plantas medicinales tales como: *Aloysia citriodora* “cedrón”, *Ambrosia arborescens* “marco”, *Bidens pilosa* “cadillo”, *Dononaea viscosa* “chamana”, *Matricaria chamomilla* “manzanilla”, *Mintostachys mollis* “poleo”, *Psidium guajaba* “guayaba”, *Plantago major* “llanten”, *Taraxacum officinale* “diente de león”, de las cuales a través de un tratamiento se pueden obtener extractos etanólicos y posteriormente elaborar discos antibacterianos para microorganismos patógenos para el hombre como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, bacterias Gram negativa y Gram positiva, respectivamente.

En la presente investigación se aplicaron distintos tratamientos pero no se encontró efecto inhibitorio de los extractos aplicados sobre *Escherichia coli* (Tabla 1); corroborando estos resultados con Panda, Mohanta, Padhi, & Luyten,(2019) donde se demostró que no existía actividad antimicrobiana de extractos crudos (hexano, acetona, etanol y acuoso) de 46 plantas comestibles de Odisha, India, sobre 8 patógenos comunes transmitidos por alimentos (Grampositivo: *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis*, *Listeria innocua*, *Micrococcus luteus* y Gram-negativos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Shigella sonnei*.)

En el tratamiento aplicado con extracto etanólico de guayaba sobre *E. coli* no se encontró halos de inhibición (Tabla 1); sin embargo en los estudios realizados por Neira-González & Ramírez-González, (2005) evaluaron el efecto antimicrobiano con extractos crudos de dos especies de guayaba (*Psidium guajava* L) y ambos presentaron actividad antimicrobiana contra *E. coli*; demostraron que los

extractos de guayaba pintón y verde tienen mayor actividad antimicrobiana, incluso que las mismas hojas. La actividad antimicrobiana se atribuyó a las quercetinas presentes en corteza y que la acción pudo atribuirse a la inhibición de las enzimas involucradas en el desarrollo de la bacteria.

El efecto inhibitorio que presentaron los tratamientos frente a *Staphylococcus Aereus* (Tabla 2), según Rodríguez (2011) es atribuida generalmente a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales, y que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antimicrobiana de estos compuestos.

En nuestro estudio se encontró que *E. coli* (bacteria Gram negativa) es más resistente a los extractos etanólicos (Tabla 1) que *S. aureus* (bacteria Gram positiva). En la Tabla 2, se observan halos de inhibición, esto se reafirma con los estudios de Panda, Mohanta, Padhi, & Luyten,(2019) quienes demostraron que los patógenos Gram-positivos fueron claramente más susceptibles a la mayoría de los extractos en comparación con las especies Gram-negativas; reportaron que los extractos se distinguieron en gran medida por la presencia de diferentes fito constituyentes como fenoles, flavonoides, taninos, saponinas, esteroides y terpenos.

Generalmente los agentes antimicrobianos se dirigen a algún mecanismo celular involucrado en el metabolismo celular de los microorganismos patógenos –(Sondi & Salopek-Sondi, 2004). La resistencia antimicrobiana comienza cuando los mecanismos o procesos como la replicación del ADN, la producción de ATP, la síntesis de proteínas, la síntesis de la pared celular, etc., están inactivos o ya no están influenciados por agentes antimicrobianos. De este modo las bacterias Gram-negativas son menos susceptibles que las bacterias Gram-positivas, lo que puede deberse a la falta de permeabilidad de la membrana externa del lipopolisacárido (Panda et al., 2019); Es por eso que en la investigación se encontró halos de inhibición de la mayoría de los extractos sobre *S. Aereus*; pero de ninguno sobre *E. Coli*. (Tabla 1 y 2).

V. CONCLUSIONES

- El efecto de los extractos de las plantas medicinales como: *Aloysia citriodora* “cedrón”, *Ambrosia arborescens* “marco”, *Bidens pilosa* “cadillo”, *Dodonaea viscosa* “chamana”, *Matricaria chamomilla* “manzanilla”, *Minthostachys mollis* “poleo”, *Psidium guajaba* “guayaba”, *Plantago major* “llantén”, *Taraxacum officinale* “diente de león” es negativa para *Escherichia coli*, pues no se evidenciaron halos de inhibición a diferencia de *Staphylococcus aureus* donde se observó un efecto positivo, evidenciándose halos de inhibición.

- *Staphylococcus aureus* es resistente al extracto de *Ambrosia arborescens* “marco”.

- *Staphylococcus aureus* presenta mayor halo de inhibición (23.3 mm) al extracto de *Aloysia citriodora* “cedrón”.

- *Staphylococcus aureus* presenta menor halo de inhibición (9 mm) al extracto de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avellaneda S., Rojas N., Cuellar R., Fonseca R. (2005). *Actividad antibacteriana de Diphysa minutiflora* Rose. *Revista Cubana Plant. Med.* 10(2),1-10.
- Azuero A., Jaramillo C., San Martín, D., D'Armas H. (2016). *Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en el Ecuador*. *Revista Ciencia UNEMI* 9(20),11-18.
- Domingo D., López M. (2003). *Plantas con acción antimicrobiana*. *Revista Esp. Quimioterap.* 16(4),385-393.
- Duquesne A., Castro N., Monzote A., Paredes I. (2015). *Caracterización de aislamiento de Staphylococcus aureus comunitarios en muestras purulentas*. *Revista Cubana de Medicina General Integral.* 31(3),295-307.
- López Y., Angulo M., Martínez C., Soto J., Chávez C. (2007). *Efecto antimicrobiano de extractos crudos de neem (Azadirachta indica A. Juss) y venadillo (Swietenia humilis zucc) contra E.coli, S. aureus y bacteriófago P22*. *Revista Bioquímica* 32(4), 117-125.
- Neira A., y Ramírez M. (2005). *Actividad antibacteriana de extractos dos especies de guayaba contra Streptococcus mutans y Escherichia coli*. *Revista Actual Biol.* 27(1),27-30.
- Panda, S. K., Mohanta, Y. K., Padhi, L., & Luyten, W. (2019). *Antimicrobial activity of select edible plants from Odisha, India against food-borne pathogens*. *LWT*, 113, 108246. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.06.013>
- Pimentel E., Castillo D., Quintana M., Maurtua D., Villegas L., Díaz C. (2015), *Efecto antibacteriano de extractos etanólicos de plantas utilizadas en las tradiciones culinarias andinas sobre microorganismos de la cavidad bucal*. *Revista Estomatol Herediana* 25(3),268-267.
- Ríos N., Medina G., Jiménez J., Yañez C., García M., Di Bernardo M., Guaita M. (2009). *Actividad antibacteriana y antifúngica de extracto de algas venezolanas*. *Revista Perú Biol.* 16(1),97-100.
- Rodríguez E, (2011). *Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas*. *Revista Ra Ximhai* 7(1), 153-170.
- Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.012>
- Zampini I., Cudmani N., Isla M. (2007). *Actividad antimicrobiana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibioco-resistentes*. *Revista Bioquím Clín Latinoam* 41(3),385-393.