

Efecto antimicrobiano de extractos de plantas contra bacterias de importancia clínica en la provincia de Chiriquí, Panamá

Mgter. Virgilio Espinoza

Facultad de Ciencias Naturales y Exactas,
Universidad Autónoma de Chiriquí, Panamá,
virgilio.espinoza@unachi.ac.pa

RESUMEN

Las plantas tienen moléculas o compuestos con efecto antimicrobiano para el control o erradicación de bacterias de importancia clínica. La producción de sustancias *in vitro* con potencial antimicrobiano representa un reto y una oportunidad a nivel microbiológico. Se determinó el efecto de los extractos de algunas plantas contra bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. El estudio tiene un enfoque mixto, alcance descriptivo explicativo y de diseño experimental. Los resultados del estudio indican que las especies de ají y la canela tuvieron efectos sobre *E. coli* y *S. aureus*. Según la encuesta la mayor cantidad de información sobre los efectos medicinales de estas plantas proviene de los familiares y en menor medida de otras personas. Se concluye que es muy importante probar plantas con efectos antimicrobianos para su aprovechamiento contra enfermedades y se requiere desarrollar posteriores estudios preclínicos para tratar otras alternativas de antibióticos menos invasivos con el ser humano.

Palabras clave: Ají, Canela, Efecto antimicrobiano, *E. coli*, *S. Aureus*.

ABSTRACT

Plants have molecules or compounds with antimicrobial effect for the control or eradication of bacteria of clinical importance. The production of *in vitro* substances with antimicrobial potential represents a challenge and an opportunity at the microbiological level. The effect of the extracts of some plants against bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was determined. The study has a mixed approach, explanatory descriptive scope and experimental design. The results of the study indicate that the chili pepper and cinnamon species had effects on *E. coli* and *S. aureus*. In addition, the greatest amount of information about the medicinal effects of these plants come from family members and to a lesser extent from other people. It is concluded that it is especially important to test plants with antimicrobial effects for knowledge in the field of microbiology and it is necessary to develop subsequent preclinical studies to treat other less invasive antibiotic alternatives with humans.

Key words: Chili pepper, Cinnamon, antimicrobial effect, *E. coli*, *S. aureus*.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial se documenta un aumento de las resistencias bacterianas que obligan a utilizar otros enfoques farmacoterapéuticos. Las plantas producen una gran variedad de metabolitos secundarios o fitoquímicos con función protectora contra predadores, contando para esto con características biocidas, antimicrobianas y/o de repelencia a herbívoros (Bermúdez *et al.*, 2019). Algunas tienen potenciales usos como antioxidantes, productos alimenticios entre otros (Sánchez, 2012). Productos antimicrobianos han ido ganando importancia como alternativas reales para su aplicación en productos alimenticios y la salud. En la actualidad, la producción de antimicrobianos se enfrenta al mayor reto que es la extracción, purificación, estabilización e incorporación mediante ensayos clínicos como medicamentos a la conservación de los alimentos sin afectar su calidad sensorial y seguridad (Rodríguez, 2011).

La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas se atribuye a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales, y se ha observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antimicrobiana de estos compuestos (Díaz y Garzón, 2017). Un estudio realizado en Alemania registra que *Cinnamomum zeylanicum* - la canela suprime totalmente la causa de la mayor parte de las infecciones del aparato urinario, la bacteria *Escherichia coli*, y también el hongo *Candida albicans*, que causa infecciones vaginales. Debido a su acción antiséptica se puede espolvorear polvo de canela sobre una herida después de limpiarlo cuidadosamente; también aliviará el dolor porque contiene un aceite anestésico natural llamado eugenol. La canela debe sus efectos fisiológicos a este aceite esencial y al tanino.

Los extractos de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y clavo (*Syzygium aromaticum*) bajo la metodología de difusión en agar, registró en sus concentraciones más elevadas (100 y 150 mg/mL), un efecto antimicrobiano sobre *E. coli* y *S. aureus*, clasificándose como sensibles. En la metodología de diluciones dobles en caldo, se determinó que para el *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213TM la CMI y la CMB fueron 512 µg/mL y 4096 µg/mL respectivamente y para *Escherichia coli* O157:H7 la CMI y la CMB fueron 2048 µg/mL y 4096 µg/mL. En cambio no provocaron ningún efecto antimicrobiano sobre *Salmonella spp* (Pastrana *et al.*, 2017).

Capsicum sp. también conocido como ají, chile rojo, es una planta que de la raíz nace un arbusto central perenne que alcanza hasta 1 metro de altura. Existen diferentes especies de *Capsicum*. Presenta propiedades curativas como estimulantes orgánicos, por su principio activo denominado capsina, el cual regula el flujo sanguíneo, fortalece el corazón las arterias, capilares y los nervios.

En Corea el preparado a base del fruto en polvo o en infusión es un agente eficaz contra la neuralgia, neuritis, calambres, enfermedad de Parkinson, baile de San Vito. En México es el país en donde existe mayor demanda del ají, específicamente del habanero o chile picante.

Se ha documentado el efecto inhibitorio de tres variedades de Ají (*Capsicum annum*) en contra de *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella typhimurium* y *B. cereus*; los extractos de estas plantas, todos ellos inhibieron el crecimiento de las cuatro especies de bacterias, relacionado con la presencia de algunos capsainoides y sus precursores como inhibidores microbianos. Se mencionan los fenilpropanoides como: capsina, dihidrocapsicina, ácido cinámico, ácido-coumarico y ácido-coumarico, en conclusión los ácidos cinámico y m-coumarico en los extractos de *Capsicum* contribuyeron a la inhibición de las cuatro bacterias (Llenque *et al.*, 2014).

El objetivo general de la investigación fue evaluar el efecto *in vitro* de las especies de ají (*Capsicum sp.*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*) contra cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* patógenas de importancia clínica e indagar el nivel de conocimientos que tiene la comunidad sobre las plantas medicinales y su aplicación en condiciones de laboratorio *in vitro* contra cepas bacterianas.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Tipo y diseño de la investigación.
Este estudio es de un formato de observación y descriptivo, en el cual se demostró si el *Capsicum* y *Cinnamomum zeylanicum* contienen compuestos bioactivos con efecto microbiano.
- El tipo de estudio es descriptivo correlacional. Enfoque mixto y diseño experimental.
- Donde se tomó en cuenta las variables de inhibición en el que actuaron los extractos para lograr un resultado positivo.
- Población y/o muestra (o Universo de estudio).
La población representa las colonias de bacterias de las especies *E. coli* y *S. aureus* en las cuales se van a probar los extractos de canela y ají *in vitro* en cepas de estas.
- Cálculo del tamaño de muestra
La población del corregimiento de David Sur con una población de 21 341 habitantes según el Censo de Población del año 2010. El muestreo es no probabilístico por conveniencia del investigador de 100 personas seleccionadas al azar.
La muestra corresponde a las colonias de bacterias en dieciséis platos Petri de agar Muller Hinton por triplicados con las especies de bacterias en mención.

- Criterios de Inclusión: Se incluye a todas las personas mayores de 18 años con capacidad de responder la encuesta.
- Técnicas y procedimientos.

El material recolectado fue llevado al laboratorio L-17 de la UNACHI para la preparación de los extractos. Previamente las hojas se dispusieron con la técnica de prensado cubierta las hojas con papel periódico y se secaron en horno con luz eléctrica a temperatura de 40 grados Celsius por una semana. La obtención del extracto se realizó por el método de maceración en alcohol en diferentes concentraciones.

Se calculó el peso de los macerados y concentraciones para su dilución en un solvente etílico, con base al peso macerado de 3 gramos y el volumen de 20 ml (solución madre 100%) se diluyó en serie manteniendo la misma proporción, se extrajo 1 ml de la solución patrón y se diluyó en 10 ml como concentración 75%, 1 ml de la anterior y 10 ml de solvente (50%) y se extrae un mililitro de la anterior en 10 ml (25%). Se tomaron muestras de estas con ayuda de una micropipeta para colocarlo en los platos Petri que contenían los agares Mueller Hilton y McKonkey de Euro Pharm® con las cepas de *E. coli* y *S. aureus*, ambas bacterias estuvieron incubadas a una temperatura de 38 grados Celsius por un tiempo de 72 horas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las concentraciones se prepararon según la siguiente tabla: los platos de control contenían agar Müller Hilton y la inoculación de las bacterias *S. aureus* y *E. Coli*.

TABLA 1. Controles de prueba en dos cepas bacterianas

Controles	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>E. coli</i> (mm)
Amoxicilina + ácido clavulánico	17	15
Cefalexina	19	0

FUENTE: El autor.

La amoxicilina + ácido clavulánico registró un halo de inhibición de 15 mm en *E. coli* y la cefalexina 19 mm en *E. coli*. La amoxicilina más ácido clavulánico inhibió el crecimiento de *S. aureus* con halo de 17 mm y *E. coli* con 15 mm. La amoxicilina más el ácido clavulánico, es una penicilina semisintética con un espectro de acción mayor que el de la penicilina G, de allí la denominación de espectro ampliado o amplio espectro. En cuanto a su actividad antibacteriana, abarca bacterias Gram positivas y Gram negativas como la *E. coli*, algunas cepas de *Proteus mirabilis*, *Haemophilus influenzae* y los géneros *Salmonella* y *Shigella* (Saglimbeni y Salazar, 2002).

La cefalexina inhibió el crecimiento de *S. aureus* con halo de 19 mm. Este antibiótico oral es de la primera generación de cefalosporinas con excelente actividad contra la mayoría de las bacterias Gram positivas. Inhibe el crecimiento de bacterias como *S. aureus* y *Streptococcus* entre otras (Garnique, 2018).

Figura 1. Halos de inhibición de los antibioticos usados como controles.



FUENTE: El autor.

Halos de inhibición de los extractos

TABLA 2. Efecto antimicrobiano de extractos de canela en dos cepas bacterianas

Concentración de los extractos	<i>S. Aureus</i>	<i>E. Coli</i>
100%	4 mm	4 mm
75%	4 mm	10 mm
50%	6 mm	9 mm
25%	0 mm	0 mm

FUENTE: El autor.

El tiempo de exposición fue de 72 horas para ambas bacterias las cuales arrojaron un resultado con halos de 4 mm y 6 mm para *S. aureus*. Y 4 mm a 10 mm para *E. coli* (ver tabla 3). Efecto inhibitorio de los extractos etanólicos sobre *Escherichia coli*. Los extractos con ají dulce verde secados a 100°C tuvieron un efecto inhibitorio mayor para *Escherichia coli* que los obtenidos con ají seco a 70°C (Tabla 2), resultados similares fueron reportados por (Colivet et al., 2006). Sin embargo, plantea que las temperaturas de 60 a 70°C son favorables a las degradaciones enzimáticas y que para la

conservación de los principios activos es preferible secar a una temperatura entre 25 a 30°C, con una fuerte ventilación, o elevarla de 100 a 120°C. En este último caso, los fenómenos enzimáticos se detienen. A esto se llama estabilización.

TABLA 3. Efecto antimicrobiano de extractos de Aji en dos cepas bacterianas

Concentración de los extractos	<i>S. Aureus</i>	<i>E. Coli</i>
100%	0 mm	4 mm
75%	0 mm	5 mm
50%	0 mm	0 mm
25%	0 mm	0 mm

FUENTE: El autor.

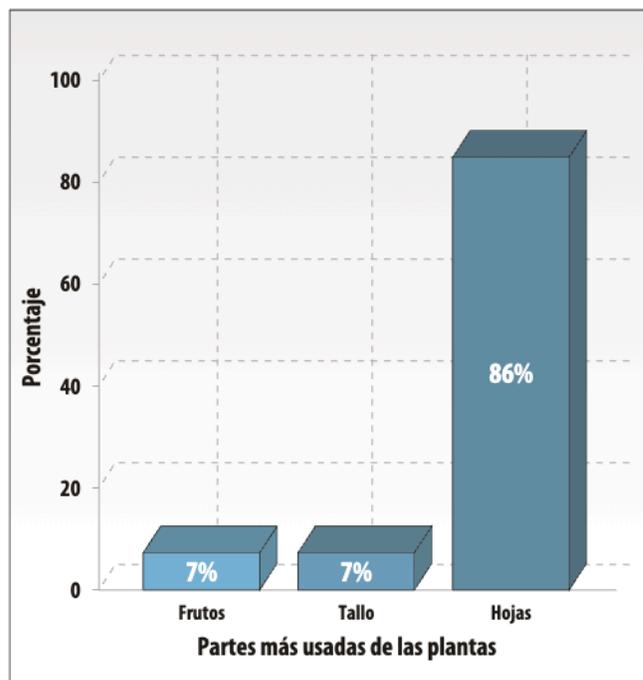
La prueba de la acción inhibitoria sobre el crecimiento de *E. coli* demostró que a mayor concentración de extracto de aji disminuía el crecimiento de estos microorganismos. Sin embargo esta inhibición no se considera significativa ya que se requiere esta inhibición sea mayor a 10 mm en los halos de las colonias para considerarse sensibles. Según Gutiérrez, Silva y Salva, 2014; una curva de letalidad para *E. coli* con distinta concentración de extracto acuoso de ajo, obtuvo que a concentraciones bajas había un detrimento acelerado de la carga microbiana, mientras que en mayores concentraciones la disminución era paulatina casi constante, sin embargo, llega a visualizarse la concentración a la cual el extracto inhibe por completo la carga microbiana. Al parecer, a bajas concentraciones los *E. coli* detectan el extracto, disminuyendo su crecimiento aceleradamente. Luego, la concentración va en aumento y estos saturarían sus receptores, por lo cual el crecimiento disminuiría lentamente. La mayor resistencia de las bacterias Gram negativas a los aceites esenciales ha sido atribuida en parte a la gran complejidad de la doble membrana conteniendo la envoltura celular de estos microorganismos en contraste con la membrana de estructura simple de las Gram positiva. Sin embargo, experimentalmente la *S. aureus* no demostró halos de inhibición para esta prueba. Esto se explica a la actividad antimicrobiana que presentan la capsina y el ácido cumarico, la cual actúa sobre la fluidez de la membrana inhibiendo el transporte en la cadena de electrones (Llenque *et al.*, 2014). El *S. aureus* por ser un Gram positivo presenta una membrana celular más simple, haciéndolo más susceptible.

Resultados de la encuesta de nivel de conocimiento y uso de las plantas canela y aji.

La encuesta fue aplicada a una muestra aleatoria de 100 personas para verificar el uso y conocimientos de las plantas a nivel

domiciliar. La composición genérica fue de 64,1% pertenecen al género femenino y el 35,9% masculino y la razón es 1,78 veces mayor las damas comparadas a los varones encuestados. Se indagó si ha padecido un efecto adverso producto del consumo, se obtuvo que el 53% si ha padecido algún efecto adverso por el consumo excesivo de estas plantas como bebida y 43% no ha padecido ningún síntoma. De acuerdo al nivel de conocimientos sobre efectos adversos del aji y la canela se puede relacionar al escasos conocimientos de la naturaleza de los principios activos que contiene las plantas y las reacciones debido a su consumo como vómitos y diarrea, esto puede ocasionar lesiones, gravitando los cuadros clínicos de las afecciones que se intenta tratar (Gallegos, 2017). Aduciendo a lo investigado se puede mencionar que es importante conocer los efectos adversos de las plantas que diariamente utilizamos ya sea para medicinas o en la alimentación. Además se registra que una gran cantidad de personas a la cuales fueron encuestadas utilizan las plantas medicinales para la piel y la salud. Los servicios de la medicina tradicional presentan una demanda creciente, la que es utilizada como una alternativa para mantener la salud, prevenir y tratar enfermedades, especialmente en las zonas rurales (Gallegos, 2017). Aduciendo a lo investigado se menciona que estas plantas medicinales la mayoría de las personas la utilizan ya que son fáciles de adquirir y de utilizar para diferentes propósitos entre ellos salud, alimentación y como cremas o tratamientos caseros.

Figura 2. Dentro de las partes más utilizadas de las plantas medicinales un 88% dijo que utilizaban las hojas mientras que el 7% utilizaba frutos y tallos.



FUENTE: El autor.

En esta figura 2, se observa que partes de las plantas medicinales se utilizan más por parte de los encuestados ya que un 86% utilizan las hojas y un 7% tanto tallo o frutos. La comprensión de los beneficios y riesgos del uso de las plantas como medicamentos, es necesario aprender a reconocerlas, aislar sus principios tóxicos, comprender sus mecanismos de acción e intentar contrarrestarlos, lo cual es una tarea delicada que apenas está comenzando, la variedad de estos agentes, su ubicación en la planta (hoja, semilla, tallo, etc.), su biodisponibilidad estacional y las características intrínsecas del huésped humano (García *et al.*, 2012) dificultan a la persona desinformada correlacionar la variada sintomatología con el contacto o la ingestión de plantas. Aduciendo a lo investigado podemos decir que la falta de información sobre los beneficios de las partes de las plantas medicinales no permite que las personas puedan usar aparte de sus hojas otra parte de la planta que también puede servir diferentes funciones o tratamientos.

DISCUSIÓN

La resistencia bacteriana ha alcanzado varios campos de antibiótico por lo que en la actualidad intentamos demostrada mediante investigaciones la importancia de las plantas como agentes antimicrobianos con nuevos componentes, particularmente y en consideración a las investigaciones intentamos probar con *E. coli* y *S. aureus* y observar su resistencia ante la canela y el ají donde podemos encontrar y analizar que al trabajar con una bacteria Gram y una Gram + vamos a notar una gran diferencia en cuanto a los halos de inhibición reportados como podemos observar en las diferentes tablas y graficas encontradas en la fase de resultados. Cuando hablamos de Contra qué tipos de bacterias tienen mayor efecto antimicrobiano como podemos observar en la *E.coli* tuvo mayor efecto lo cual se lo atribuimos a la membrana celular de las Gram Vs las Gram +. Los fundamentos de la diferenciación entre ambos grupos se basan exclusivamente en las características diferentes de las paredes celulares entre ambos grupos de bacterias. La clave es el peptidoglucano -más conocido como mureína, uno de los principales constituyentes de la pared celular, formando una gruesa capa en los Gram+, mientras que tienen una delgada capa en los Gram- La membrana externa de las bacterias Gram- ejerce una notable influencia en la resistencia frente a varios antibióticos, sobre todo a los que actúan sobre la pared de peptidoglicanos, que es el punto débil de la bacteria Gram+ (Murray,. Hay que pensar que el antibiótico no induce resistencia, solamente actúa en una interferencia clara de la humanidad en el proceso de selección natural. La pared de las bacterias Gram+ ejerce un efecto protector o de resistencia contra numerosos antibióticos que tienen que atravesar esta estructura para llegar a su interior y ejercer su efecto antibacteriano. Sin embargo, el mantenimiento de esta estructura se convierte en el punto de ataque de varios antibióticos, afectando fácilmente en la viabilidad de estas bacterias y creando una

susceptibilidad diferente a los mismos entre las bacterias Gram+ y Gram-. Otro efecto importante que ejerce la pared en las bacterias Gram+ es la dificultad de transmisión de resistencias entre bacterias a través de plásmidos, muy frecuente en bacterias Gram-, aunque, por el contrario, la pared bacteriana en Gram+ se encuentra inmediatamente accesible y constituye un blanco ideal para los antibióticos. Esto no ocurre en bacterias Gram-, donde la pared es mucho menor y se encuentra entre dos membranas que dificultan su acceso a los antibióticos. Las exotoxinas son toxinas secretadas por cualquier microorganismo, ya sea Gram+ o Gram-, aunque tradicionalmente se asociaban de forma exclusiva a organismos Gram+ antiguamente. En general son muy potentes y producen un gran daño al hospedador.

CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio son muy importantes para el campo microbiológico y clínico ya que se encuentran alternativas de antibióticos menos invasivas para el organismo.

Se prueba la hipótesis que los extractos al 100% de la Canela (*Cinamomum zeylanicum*) y el ají (*Capsicum sp.*) tienen efecto antimicrobiano contra las diferentes especies bacterianas como el *S. Aureus* y *E. Coli*.

La percepción de los encuestados que el conocimiento de las plantas y sus sustancias activas pueden tener efectos medicinales similares a los fármacos tradicionales y menos perjudiciales a largo plazo.

AGRADECIMIENTOS

A los profesores Luis González por su guía y revisión del artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bermúdez, A; Granados, F. y Molina, A. (2019). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y *Cymbopogon citratus*. *Agronomía Mesoamericana*, 30(1), 147-163.
- Colivet, J; Belloso, G; Hurtado, E. (2006). Comparación del efecto inhibidor de extractos de ají dulce (*Capsicum chinense*) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Bacillus sp.* *Saber*, 18 (2):168-173.
- Diaz, L. y Garzón D. (2017). Capacidad antimicrobiana del extracto de la parte aérea de *Tropaeolum tuberosum* (mashua) frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. (Tesis de grado), Facultad de ingeniería, Universidad de la Salle, (Colombia).
- Gallegos, M. (2017). Plantas medicinales utilizadas en el tratamiento

de enfermedades de la piel en comunidades rurales de la provincia de Los Ríos Ecuador. *An Fac med.* 78(3):315-321. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832017000300011

- García, J; Ramírez, B; Robles, G; Zañudo, J; Salcedo, A; García, J. (2012). Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos*, (39):29-44.
- Garnique, S. (2018). *Efecto de la Temperatura en la actividad Bactericida de la Cefalexina*. (Tesis de grado), Facultad de Medicina, Universidad de San Pedro (Perú).
- Gutiérrez, A; Silva, M; Salvá, B. (2014). Determinación de la concentración mínima inhibitoria del ají Panca (*Capsicum chinense*) en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. *Rev. Infinitum*. 4(2):113-120.
- Llenque, L., Otiniano, R. y Otiniano, L. (2014). Supervivencia de *Staphylococcus aureus* en crema huancaína preparada con diferentes concentraciones de *Capsicum annum* var. Longum "ají escabeche. *Revista "Ciencia y Tecnología", Escuela de Postgrado UNT*, (4): 9-19. Recuperado de <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/PGM/article/download/341/320/0>.
- Murray, P; Rosenthal, K; Pfaller, M. (2014). *Microbiología médica*. Séptima edición. España: Elsevier.
- Pastrana, Y., Durango, A., y Acevedo, D. (2017). Efecto antimicrobiano del clavo y la canela sobre patógenos. *Biocología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(1): 56-65. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v15n1/v15n1a07.pdf>
- Rodríguez, E. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*, 7 (1): 153-170.
- Sánchez, E. (2012). Efecto de compuestos fitoquímicos sobre microorganismos de importancia en alimentos. (Tesis de doctorado), Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, (México).
- Saglimbeni, M. y Salazar, E. (2002). Uso Terapéutico de la Amoxicilina-Ácido Clavulánico en la Enfermedad Periodontal. *Acta odontol. Venez*, 40 (3): 320-328. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0001-63652002000300015&script=sci_arttext&lng=e

