

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE EXTRACTOS ALCÓHOLICO DE CUATRO PLANTAS CONTRA CEPAS PATÓGENAS DE *Serratia marcescens* Y *Staphylococcus aureus*

Morales Ibarra Á. D^{a.}, Zamora Saucedo R. D.^{a*}, Rodríguez González J.G^{a.}, Alvarado
Martínez M., Ramírez Pérez M^{a.}

a) Universidad Autónoma de Coahuila. Escuela de Ciencias Biológicas U.T. Depto. De
Fito biotecnología Aplicada. Blvd. Torreón-Matamoros Km 7.5 s/n Ciudad Universitaria.
Ejido el Águila. C.P. 27410. Torreón, Coah. México.

*nahual_49@yahoo.com.mx

RESUMEN

Serratia marcescens se ha considerado responsable de brotes nosocomiales, provocando neumonía, infección urinarias, infección quirúrgicas, meningitis, endocarditis, sepsis. *Staphylococcus aureus* produce enfermedades como infecciones cutáneas, foliculitis, forunculosis, celulitis, abscesos profundos, ostiomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis, y neumonía. La *Ruta graveolens*, posee principios activos como: aceite esencial y un glucósido flavónico. La *Larrea tridentata* fue utilizada por los nativos americanos del suroeste como tratamiento para enfermedades de transmisión sexual, tuberculosis, varicela, dismenorrea, y mordeduras de serpientes. El *Origanum vulgare*, se le han identificado aceites esenciales, flavonoides, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos, derivados del fenilpropano y los ácidos comérico, ferúlico, caféico, p-hidroxibenzóico, y vainillinoico, carvacrol y timol. El *Thymus vulgaris* contiene flavonoides, derivados del apigenol y del Gluteolol; ácidos fenólicos, caféicos, rosmarínicos, clorogénico; ácidos triperpénicos, ursólicos, y oleanólicos; saponinas; elementos minerales; el aceite esencial contiene carvacrol y timol. La capacidad inhibitoria de los extractos se determinó con la Técnica de Magdalli en pocillos de agar. La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria por macrodilución. Presentando los mejores resultados de la prueba los extractos de Gobernadora, seguidos por los extractos de Orégano, luego Ruda y finalmente el Tomillo. Abriéndose una buena posibilidad para formular desinfectantes naturales para áreas de hospitalización.

ABSTRACT

Serratia marcescens has been held responsible for nosocomial outbreaks, causing pneumonia, urinary tract infections, surgical infections, meningitis, endocarditis, sepsis. *Staphylococcus aureus* causes diseases such as skin infections, folliculitis, furunculosis, cellulitis, deep abscess ostiomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis, and pneumonia. The *Ruta graveolens*, has active ingredients such as essential oil and a flavone glycoside. The *Larrea tridentata* was used by Native Americans in the Southwest as a treatment for sexually transmitted diseases, tuberculosis, chickenpox, dysmenorrhea, and snakebites. The *Origanum vulgare*, have identified vainillinoico sFound essential oils, flavonoids, aliphatic alcohols, perpénicos compounds phenylpropane derivatives and comérico acids, ferulic, caffeic acid, p-hydroxybenzoic acid, and, carvacrol and thymol. *Thymus vulgaris* contains flavonoids, and derivatives Gluteolol apigenol; phenolic acids, caffeic, rosmarínicos, chlorogenic; triperpénicos acids, ursólicos and oleanólicos; saponins; minerals; essential oil contains carvacrol and thymol. The inhibitory activity of the extracts was determined with the technique in agar wells Magdalli. Determination of Minimum Inhibitory Concentration by

macrodilution. Presenting the best test results extracts Governor, followed by extracts of oregano, then finally Ruda and Thyme. Opening a good chance to make natural disinfectant for hospital areas.

Palabras clave: Estrés Oxidativo, Polifenoles, Antioxidante

Área: Microbiología y Biotecnología

INTRODUCCIÓN

Serratia marcescens es un bacilo aerobio de la familia Enterobacteriaceae, que se ha considerado responsable de brotes nosocomiales, provocando gran diversidad de infecciones tales como: neumonía, infección de vías urinarias, infección de heridas quirúrgicas, meningitis, endocarditis, sepsis, entre otras. Los brotes nosocomiales de *Serratia marcescens* se relacionan comúnmente a colonización de los tractos respiratorios y urinarios, mientras que los brotes en unidad de cuidados intensivos neonatales se relacionan más al tracto gastro-intestinal, lo cual facilita la contaminación cruzada (Lai KK, 2004). En estudios previos se han identificado factores de riesgo como bajo peso al nacer, estancia hospitalaria prolongada, y maniobras invasivas. Existe una cepa de *Serratia marcescens* de vida libre que produce un pigmento denominada Prodigiosina, cuya estructura química es un pirrol, metabolito secundario que es de color rojo, cuya pigmentación es compartida con género *Pseudomonas* y *Streptomyces*. Este pigmento le da sensibilidad a la luz e insolubilidad al agua. Siendo moderadamente soluble en alcohol y éter, y soluble en cloroformo, metanol, acetonitrilo y DMSO (Khanafari, A. 2006). La *Serratia marcescens* cromogénica, es usualmente aislada del medio ambiente, como agua, suelo, plantas o insectos, sólo 3 especies de *Serratia* son capaces de producir prodigiosina. Éstas son: *S. plymuthica*, *S. rubidaea* y *S. marcescens*. La producción de su pigmento es variable, y depende de algunos factores, como tiempo de incubación, pH, concentración de carbono y nitrógeno, y de sales minerales. Este producto, puede tener actividad antifúngica, antibacterial y antiprotozoica, mostrando una utilidad clínica específica. La prodigiosina y sus derivados sintéticos, tienen actividad potencial y específica inmunosupresora, con nuevos objetivos para la búsqueda de nuevas drogas (D'Alessio, R. 2000). *Staphylococcus aureus*, es una bacteria anaerobia facultativa, gram positiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil, y no esporulada, se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que 1 de cada 3 personas sean colonizadas, aunque no infectadas por la misma (Brooks, Geo.F. 2011). *S. aureus* produce una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas benignas, tales como foliculitis, forunculosis, hasta enfermedades de riesgo vital, como celulitis, abscesos profundos, ostiomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis, y neumonía. Actualmente se encuentra como el principal causante de infecciones nosocomiales, hecho favorecido, ya que este microorganismo penetra a través de las heridas quirúrgicas al torrente sanguíneo, ya sea por contacto indirecto o directo con el personal sanitario, con objetos contaminados o con otro paciente (Kumate, J. 2009). La Ruda (*Ruta graveolens*), pertenece a la familia de las Rutáceas. Es una planta provista de raíz y tallo leñoso, alcanza una altura de 70 a 100 cm. La Ruda

posee distintos tipos de principios activos. De ellos, destacan dos: un aceite esencial y un glucósido flavónico. También posee vitamina C. De los dos primeros, derivan sus cualidades terapéuticas más reconocidas. El aceite esencial, está compuesto principalmente por dos cetonas: metilheptilcetona y metilnonilcetona. El glucósido flavónico es la Rutina, que por hidrólisis puede degradarse en Quercitina, como la Genina o a Glucona, y las gluconas, glucosas y ramnosas (Raedeowsky, J. 1987). La gobernadora (*Larrea tridentata*) es un arbusto perennifolio de 60 a 300 cm de altura. Sus hojas se forman por dos foleolos unidos entre sí en la base, tienen de 4 a 15 cm de largo por 3 a 8 mm de ancho. Tienen flores solitarias de 2.5 cm de diámetro, frutos subglobosos avooides de 7 mm de largo. La *Larrea tridentata* es utilizada como un suplemento herbal por los nativos americanos del suroeste como un tratamiento para numerosas enfermedades, enfermedades de transmisión sexual, tuberculosis, varicela, dismenorrea, y mordeduras de serpientes. Este arbusto, está ampliamente utilizado como remedio medicinal en México (Betley, J. 1974). El orégano (*Origanum vulgare*), es un vegetal perteneciente a la familia Lamiaceae de hasta 80 cm de altura. Tiene tallos erectos, filosos y aromáticos. Hojas ovales pecioladas, dentadas o enteras. Flores rosadas, bioáceas o blancas de hasta 7 mm. La hoja de orégano se utiliza como condimento de alimentos y conservación en la elaboración de carnes y embutidos, en la elaboración de cosméticos, fármacos y licores. La Organización Mundial de la Salud, estima que cerca del 80 % de la población en el mundo, usa sus extractos vegetales o sus compuestos activos. Se le han identificado aceites esenciales, flavonoides, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos, derivados del fenilpropano y los ácidos comérico, ferúlico, caféico, p-hidroxibenzóico, y vainillinoico (Sloguing, P. 2001). El tomillo (*Thymus vulgaris*) pertenece a la familia de las Lamiaceae. Son plantas que pueden alcanzar 40 cm de altura, con tallos leñosos y finos. Las hojas de casi todas las especies están en pares opuestos a lo largo del tallo, miden entre 4 y 20 mm, suelen ser aromáticas. Las flores amarillas, blancas o púrpuras, surgen en densas cabezas terminales, con un cáliz desigual y el labio superior trilobulado. El tomillo en su composición química contiene flavonoides, derivados del apigenol y del Gluteolol; ácidos fenólicos, caféicos, rosmarínicos, clorogénico; ácidos triperpénicos, ursólicos, y oleanólicos; saponinas; elementos minerales; el aceite esencial contiene carvacrol y timol (Fonnegra, R.2006).

El objetivo de este trabajo fue el de evaluar la actividad inhibitoria de los extractos crudos de las plantas *Larrea tridentata*, *Thymus vulgaris*, *Ruta graveolens* y *Origanum vulgare*. Con el fin de formular un desinfectante natural para áreas hospitalarias con problemas de contaminación.

Resultados

Evaluación del efecto inhibitorio de los extractos alcohólicos de las plantas ensayadas (método de Magdalli). De los cuatro extractos totales alcohólicos que se obtuvieron, según la tabla 1, se muestra que la mejor actividad inhibitoria para las cepas de *S. aureus* ATCC25923 fue la Gobernadora, seguida por la Ruda, después el Orégano y Finalmente el Tomillo. Para *S. aureus* silvestre, la mejor inhibición, estuvo dada por la Gobernadora, seguida por el Orégano, luego la Ruda y finalmente con un efecto inhibitorio mínimo está el Tomillo. En cambio para la *S.*

marcescens pigmentada, la actividad inhibitoria mayor la dio Gobernadora, igualada por la actividad del Orégano, después el Tomillo y finalmente la Ruda.

Tabla1. Resultados de halos de inhibición en mm² de los extractos crudos.

	STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 25923 Área de halos en mm ²	STAPHYLOCOCCUS AUREUS SILVESTRE Área de halos en mm ²	SERRATIA MARCESCENS PIGMENTADA Área de halos en mm ²	SERRATIA MARCESCENS SIN PIGMENTO Área de halos en mm ²
GOBERNADORA ETANOL	1032.06	443.01	95.03	92.51
TOMILLO ETANOL	591.94	176.71	63.61	90.76
ORÉGANO ETANOL	706.86	354.65	95.03	122.71
RUDA ETANOL	791.73	306.35	60.13	56.74

La figura 1, nos muestra la comparación de los efectos inhibitorios entre los extractos totales probados y las cepas microbianas patógenas problema. Manifestándose en todos los casos

que la Gobernadora fue la mejor planta que mostró un poder inhibitorio para el crecimiento de los cuatro microorganismos patógenos ensayados, y que los demás de alguna manera guardaron una relación con su actividad inhibitoria.

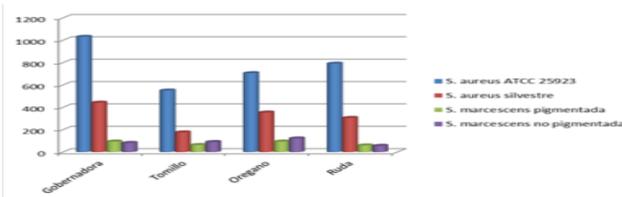


Figura 1.- Comparación de efectividad de la inhibición de los extractos totales de las plantas ensayadas.

Las CMI's, de los cuatro extractos alcohólicos obtenidos, según los resultados mostrados en la tabla 2, el *S. aureus* ATCC 25923 fue desactivado con la mínima concentración utilizada de extracto

de las plantas Gobernadora, Tomillo y Orégano. Para el *S. aureus* silvestre, los mejores extractos fueron, la Gobernadora y el Orégano. En cambio en lo que respecta a la *S. marcescens* pigmentada, los mejores extractos para su destrucción fueron el Tomillo y la Ruda y para la *S. marcescens* no pigmentada fueron la Ruda y el Tomillo.

Tabla 2. Resultados en mg/ml de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) de extractos crudos.

	STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 25923	STAPHYLOCOCCUS AUREUS SILVESTRE	SERRATIA MARCESCENS PIGMENTADA	SERRATIA MARCESCENS SIN PIGMENTO
GOBERNADORA ETANOL	65	65	2000	125
TOMILLO ETANOL	65	125	500	62.5
ORÉGANO ETANOL	65	65	2000	125
RUDA ETANOL	500	500	500	12

La Figura 2, muestra los resultados de la comparación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias de los cuatro extractos ensayados. En Gobernadora,

Tomillo y Orégano, se manifestaron los resultados más sobresalientes a concentraciones mínimas contra la cepa de *Serratia marcescens*. Y el extracto de Ruda, manifestó una mejor actividad destructiva a concentraciones mínimas contra las dos cepas de *Staphylococcus* y la de *S. marcescens* pigmentada.

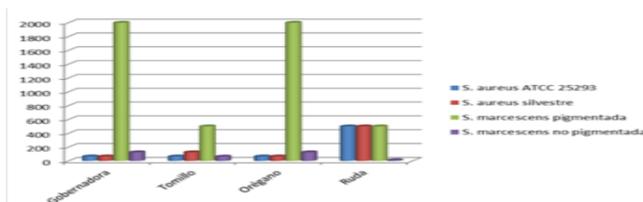


Figura 2.- Comparación de CMI de los extractos totales de las plantas ensayadas.

DISCUSIÓN:

La *Larrea tridentata* (Gobernadora), fue la planta de la cual se obtuvo el mejor extracto

total que manifestó tener la mayor actividad inhibitoria contra las cuatro cepas patógenas: *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* silvestre, *S. marcescens* pigmentada y *S. marcescens* no pigmentada. Esto nos da la pauta a pensar que la Gobernadora podría ser una opción viable para buscar formular un desinfectante natural para áreas de hospitalización comprometidas, en donde se presume tener problemas de infecciones intrahospitalarias. Otra opción de desinfectante podría ser la mezcla de Ruda y Orégano, ya que ambas manifestaron tener una fuerza de inhibición muy precisa contra las cepas problema. Los resultados del trabajo, nos dan una oportunidad de seguir buscando opciones de formulación de mezclas de extractos con el fin de lograr formular un desinfectante natural con el fin de suplir aquellos desinfectantes químicos que podrían ser nocivos para los pacientes que se encuentren en alguna área hospitalaria en riesgo de contaminación. Por lo que se sugiere continuar con este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Beatley, Janice C. 1974. Effect of rainfall and temperature on the distribution and behavior of *Larrea tridentata* in the mojave desert of nevada. Ecology.
- Brooks, Geo. F.; Carroll, Karen C.; Butel, Janets.; Morse, Stephen A; Mietzner, Timothy A. (2011). En Jawetz. Jawetz, Melnck y Adelberg Microbiología medica. McGraw-Hill-Lange. Pp. 185-194.
- D'Alessio, R.; Bargiotti, A.; Carlin, O.; Colotta, F.; Ferrari, M.; Gnocchi, P.; Isetta, A.; Mongelli, N.; Motta, P.; Rossi, A.; Rossi, M.; Tibolla, M.; Vanotti, E. Synthesis and immunosuppressive activity of novel prodigiosin derivatives. J. Med. Chem. 2000, 43, 2557-2565.
- Fonnegra. R. y Gimenez S. 2006. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Universidad Antioquía. Bogotá Colombia.
- Khanafari, A.; Assadi M.M.; Fakhr; F.A. Review of prodigiosin, pigmentation in *Serratia marcescens*. Online J. Biol. Sci. 2006, 1, 1-13.
- Kumate, Jesus; Gutierrez, Gonzalo; Muñoz, Onofre; Santos, Ignacio; Solorzano Fontino; Miranda Guadalupe. (2008) Infectología Clínica Kumate-Gutierrez (17ª edición) Mendez editores (publicado el 2009) pp. 455-467.
- Lai KK, Baker SP, Fontecchio SA. Rapid eradication of a cluster of *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit: use of epidemiologic chromosome profiling by pulsed-field gel electrophoresis. Infect Control Hosp Epidemiol. 2004; 25: 730-4.
- Pascual, Sloguing Carretero Sanchez villar. Lipia: traditional uses chemistry and pharmacologic: A review J. Ethnopharmacologic. 2001.
- Raedeowsky, Jersi y col. 1987. Vegetación de zonas áridas de México McGraw-Hill México.