

Efecto del extracto hidroalcohólico y aceite esencial de hojas de *Vallesia glabra* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*

Effect of hydroalcoholic extract and essential oil of leaves of *Vallesia glabra* on the growth of resistant methicillin *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*

Milagros Violeta Mogollón García
Icela Marissa Rodríguez Haro

Recibido: 24 de marzo de 2019
Aceptado: 05 de abril de 2019

RESUMEN

En este trabajo se determinó el efecto del extracto hidroalcohólico y aceite esencial de hojas de *Vallesia glabra* "cun cun" sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*. Para evaluar el efecto del extracto etanólico y del aceite esencial sobre las bacterias, se utilizó el ensayo de difusión en agar con discos según el método de Kirby Bauer para la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana. El extracto etanólico de *Vallesia glabra* a la concentración de 500 mg/ml presentó un ligero efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*, obteniendo halos de inhibición de 12 y 13 mm respectivamente en comparación con el antibiótico patrón Ciprofloxacino, con el que se obtuvo un halo de inhibición de 25 y 29 mm para *S. aureus* meticilino resistente y *P. aeruginosa* respectivamente. Lo mismo sucedió para el caso del aceite esencial a las concentraciones utilizadas, con los que se obtuvo halos de inhibición de hasta 7 mm para las bacterias ensayadas. Se concluye que el extracto hidroalcohólico y el aceite esencial de las hojas de *Vallesia glabra* presentaron un ligero efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras clave. Extracto hidroalcohólico, *Staphylococcus aureus*, meticilino resistente, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vallesia glabra*.

ABSTRACT

In this work the effect of the hydroalcoholic extract and essential oil of *Vallesia glabra* leaves "cun cun" on the growth of resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* was determined. To evaluate the effect of the ethanolic extract and the essential oil on the bacteria, the disk agar diffusion test was used according to the Kirby Bauer method for the evaluation of antimicrobial susceptibility. The ethanolic extract of *Vallesia glabra* at a concentration of 500 mg / ml showed a slight inhibitory effect on the growth of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, obtaining inhibition halos of 12 and 13 mm, respectively, compared to the standard antibiotic, Ciprofloxacin with which obtained an inhibition halo of 25 and 29 mm for methicillin-resistant *S. aureus* and *P. aeruginosa* respectively. The same happened in the case of the essential oil at the concentrations used, with which inhibition halos of up to 7 mm were obtained for the bacteria tested. It is concluded that the hydroalcoholic extract and essential oil of the *Vallesia glabra* leaves showed a slight inhibitory effect on the growth of resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. While it is suggested to explore this effect with other types of bacteria and other concentrations with the aim of finding better results that allow endorse or not the use of this plant as an antimicrobial.

Keywords. Hydroalcoholic extract, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vallesia glabra*.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, se observa con frecuencia creciente la presencia de infecciones por gérmenes multirresistentes, causantes de afecciones que llevan a la muerte a pacientes por carencia de un agente terapéutico al que estos sean susceptibles (Echevarría e Iglesias, 2003). La OMS ha dado la voz de alarma con la publicación de su informe anual sobre las enfermedades infecciosas: "Contengamos la resistencia microbiana". Este es el primero que expone con detalle la peligrosa situación a la que se arriesga el mundo ante la progresiva pérdida de la actividad de medicamentos que un día fueron eficaces (OMS, 2013). La resistencia a pesar de ser un fenómeno biológico y natural se ve amplificada por el mal uso que hace el hombre de los antibióticos y por la indiferencia demostrada a las consecuencias del hecho (Urrutia et al, 2003).

Numerosas son las investigaciones encaminadas a la búsqueda de nuevos compuestos con actividades biológicas a partir de fuentes naturales. Entre ellas un considerable número de estudios dedicados a la evaluación de actividades antimicrobianas de extractos y aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas (Hernández y

Rodríguez, 2001). Las propiedades curativas de las plantas se atribuyen a la presencia de un "principio activo", el cual produce un efecto fisiológico. Un gran porcentaje de estos principios activos están comprendidos dentro de los productos naturales o metabolitos que son compuestos de estructura compleja y de distribución restringida, entre ellos alcaloides, esteroides, terpenoides, flavonoides, aceites esenciales, gomas, resinas y taninos, que pueden encontrarse distribuidos en toda la planta o en alguna de sus partes (Escobar y Chávez, 2008).

En las últimas décadas los fitofármacos han ido ganando terreno dentro del arsenal terapéutico mundial, fundamentalmente por su escasa toxicidad, bajos costos y por utilizar tecnologías de bajos niveles de inversión e insumos. Todo esto se refleja en el reconocimiento de la importancia de los programas nacionales de medicina tradicional realizado por la OMS, lo cual ha incidido poderosamente en la expansión, desarrollo y consolidación de la producción de dichos medicamentos. Basta saber que el 80 % de la población mundial utiliza plantas para el tratamiento de las enfermedades y en los países

industrializados el 35 % de los medicamentos prescritos contienen principios activos de origen natural. Todo lo anterior da una medida de la importancia de los fitofármacos para los países del tercer mundo (González, 2002).

Vallesia glabra "cun cun" es un arbusto de hasta 3 m de altura que comúnmente forma parte de las comunidades vegetales llamadas algarrobales. Es frecuente encontrarlas en bordes de acequias, bordes de cercos, llanuras arenosas, bordes de campo de cultivo y bordes de carreteras, ubicados entre los 35 y 1300 m.s.n.m. en los departamentos de la costa norte y centro del Perú. (Mostacero et al, 2002). *Vallesia Glabra* (cun cun o cuncuno) es ampliamente utilizada para combatir la diabetes y la mordedura de mosquitos en el hombre (Pérez et al, 2011), ingiriéndose como infusión (Bussmann y Sharon, 2007) para combatir la diabetes y las picaduras de serpientes. *Vallesia glabra* cuyos sinónimos son *Rauvolfia glabra*, *Vallesia chicocoides*, *Vallesia dicótoma*, se encuentra distribuida en toda la costa y la Amazonía. Aunque por su amargor muchas veces puede ser tóxico (Brack, 1999), su fruto es comestible y su jugo se usa en medicina natural como oftálmico.

Estudios promovidos por la red de acción en alternativas al uso de agroquímicos de la Universidad Pedro Ruiz Gallo han demostrado que extractos de *Vallesia glabra* y *Nerium oleander* "laurel" son eficientes fungicidas especialmente para controlar al hongo *Fusarium solani* y a la *Rhizoctonia solani*, así como también a otros fitopatógenos (Arning y Velásquez, 2000). Manzanero et al, 2010, en su trabajo "Evaluación de parámetros zootécnicos en pollos de engorde alimentados con raciones que incluyen *Vallesia glabra*", han demostrado la utilidad del uso de esta planta como parte de la alimentación de pollos de engorde, con un efecto significativo en el peso de los pollos hembras, lo que constituye una opción favorable económicamente y ajustada a los requerimientos internacionales de la actualidad. Otros estudios realizados demostraron que extractos de *Vallesia glabra* presentan propiedades anti-insectos (García et al, 2002) y sus aplicaciones como pulguicida (Martínez y Barboza, 2010). *Vallesia glabra* "cun cun" es un arbusto que se encuentra comúnmente en toda la costa peruana y, por lo tanto, al alcance de la población. Muchas personas le atribuyen gran poder germicida para las heridas y para cualquier infección dermatológica utilizando las hojas verdes hervidas (Raymundo, 2015).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del extracto hidroalcohólico y aceite

esencial de hojas de *Vallesia glabra* "cun cun" sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SAMR) y *Pseudomonas aeruginosa*, bacterias que se encuentran comúnmente en las infecciones de la piel, quemaduras e infecciones nosocomiales y que tienen la capacidad de adquirir resistencia a la mayoría de los antibióticos disponibles actualmente y con estos resultados incrementar el conocimiento científico, ya que no se han encontrado estudios preliminares de *Vallesia glabra* relacionados con su actividad bactericida y proporcionar así las bases para nuevas investigaciones que propicien alternativas de control microbiano diferentes a las que ya existen.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL BIOLÓGICO

20 Kg de hojas frescas de *Vallesia glabra* "cun cun" colectados en el departamento de Piura durante los meses de marzo a abril del 2016 en el campus de la Universidad Nacional de Piura, paralelo a la rivera del río Piura.

Staphylococcus aureus meticilino resistente (SARM) ATCC 43300 perteneciente a la colección de cultivos del laboratorio de microbiología molecular y biotecnología de la Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO).

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 perteneciente a la colección de cultivos del laboratorio de microbiología molecular y biotecnología de la Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO).

PROCEDIMIENTO

Material vegetal

Las hojas frescas de *Vallesia glabra* "cun cun" colectadas se limpiaron cuidadosamente, eliminándose las partículas de tierra y otras partículas extrañas y luego se transportaron prensadas al laboratorio de tecnología enzimática y productos naturales de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo para su procesamiento y obtención del extracto. El secado de las hojas se realizó a temperatura ambiente, bajo sombra y sobre papel periódico. La determinación taxonómica de la especie vegetal fue realizada en el Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo.

Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de Vallesia glabra

Se procesaron 10 kg aproximadamente de hojas de Vallesia glabra, las cuales fueron deshidratadas en el horno a 45°C por 24 horas y luego pulverizadas empleando un mortero. El polvo obtenido se almacenó en frascos de vidrio color ámbar hasta su tratamiento.

Para la preparación del extracto se agregó etanol al 96% en una proporción de 100g de material seco/400mL del alcohol modificado de De Paula y Martins (2000). Cada frasco se selló con Parafilm para evitar la evaporación del etanol y se agitó frecuentemente durante 15 minutos, luego se dejó macerar con agitación constante durante 7 días en oscuridad.

Pasado ese tiempo el preparado se filtró empleando papel Whatman N°1 y el filtrado se colectó en un balón de vidrio de 100 ml. Posteriormente se evaporó el solvente a presión reducida en un evaporador rotatorio (Heidolph) a una temperatura de 42°C, obteniéndose así el extracto seco.

El extracto seco fue pesado obteniéndose 2.5 g y se le agregó 50 ml aproximadamente de diluyente (agua destilada). Así se obtuvo una concentración del extracto de 500 mg/ mL, posteriormente se colocó en frascos color ámbar y en refrigeración hasta su evaluación. La obtención del extracto seco se realizó en el laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNT.

Extracción del aceite esencial de las hojas de Vallesia glabra

Para la extracción del aceite esencial se trabajó con 10 kg de hojas de Vallesia glabra y se utilizó el método de destilación por arrastre de vapor de agua a partir de las hojas frescas. La fracción de aceite esencial extraído se almacenó en frascos oscuros a 4°C para los análisis posteriores (Lock de Ugaz, 1994). El aceite esencial obtenido fue diluido en una solución de Tween 80 al 0,1% y se obtuvo las siguientes concentraciones a trabajar: 10, 20, 30, 40, 60, 80 y 100 uL/mL.

Reactivación de cepas bacterianas y preparación del inóculo

Los cultivos de *S. aureus* meticilino resistente ATCC 43300 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 fueron reactivados en caldo soya tripticasa (Trypticase Soy Broth: TSB) para luego ser mantenidos en Agar soya tripticasa (TSA).

A partir de este cultivo se realizó una suspensión directa de las colonias de *S. aureus* meticilino resistente y *P. aeruginosa* en solución salina fisiológica (SSF) hasta alcanzar una concentración equivalente al tubo N° 0,5 de nefelómetro de McFarland, lo que corresponde a $1,5 \times 10^8$ UFC/ mL.

Evaluación del efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de Vallesia glabra sobre el crecimiento de Staphylococcus aureus meticilino resistente y Pseudomonas aeruginosa

Para la evaluación del efecto del extracto hidroalcohólico sobre el crecimiento de las bacterias se empleó la técnica de difusión en agar con disco por el método de Kirby-Bauer recomendado por el NCCLS, 2000 (National Committee for Clinical Laboratory Standards). Se utilizó el agar Mueller – Hinton (MERCK), el cual se preparó según las recomendaciones del fabricante y se sirvió en de placas Petri estériles.

A partir de la suspensión bacteriana estandarizada se procedió a inocular de forma homogénea y con un hisopo estéril toda la superficie de las placas con agar Mueller-Hinton. Las placas inoculadas fueron colocadas en estufa a 37°C durante 10 minutos para asegurar el secado de la misma.

Una vez que la superficie del agar se secó con ayuda de una pinza estéril se colocaron sobre ella 1 disco estéril de papel Whatman N°1 de 5 mm de diámetro conteniendo 10 uL de la concentración del extracto puro obtenido (500mg/mL), un disco del antibiótico Ciprofloxacino (control positivo) y un disco impregnado en agua destilada (control negativo).

Las placas fueron incubadas a 37°C por 24 horas. El efecto del extracto hidroalcohólico de Vallesia glabra sobre el crecimiento de *S. aureus* meticilino resistente y *P. aeruginosa* se determinó mediante la lectura del diámetro de los halos de inhibición en mm presentes en las placas. El ensayo se realizó 3 veces para cada una de las cepas a ensayar.

Para determinar el % de efecto inhibitorio de crecimiento se consideró el control positivo aplicando la siguiente fórmula tomada Martínez et al (1996).

$$PEI(\%) = \frac{\text{Diámetro del halo de inhibición del extracto}}{\text{Diámetro del halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

Evaluación de del efecto del aceite esencial de hojas de Vallesia glabra sobre el crecimiento de Staphylococcus aureus meticilino resistente y Pseudomonas aeruginosa.

Para la evaluación del efecto del aceite esencial de hojas de Vallesia glabra sobre el crecimiento de S. aureus meticilino resistente (SARM) y P. aeruginosa, se realizó la prueba de difusión en agar con disco por el método de Kirby Bauer para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

Para el ensayo se utilizaron discos de papel filtro de 5mm de diámetro los cuales fueron impregnados con 10 uL de las diferentes concentraciones del aceite esencial obtenidas: 100, 80, 60, 40, 30, 20 y 10 uL/mL (Karuppiyah y Rajaram, 2012), los cuales se colocaron sobre la superficie del agar en la placa previamente inoculadas con el tubo N° 0,5 del Nefelómetro de Mac Farland (1, 5 x 10⁸ UFC/mL). El ensayo se repitió 3 veces para cada una de las cepas a ensayar.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de hojas de Vallesia glabra.

Para estimar la concentración mínima inhibitoria (CMI) se utilizó el método de macrodilución en caldo Mueller Hinton (MH). Para lo cual se preparó una serie de tubos de ensayo estériles de 13x100 mm con 3ml de caldo Mueller- Hinton y cada tubo se mezcló con una concentración diferente del extracto, obteniendo así las siguientes concentraciones: 0,125; 0,250; 0,500; 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 y 512 mg/L.

Para la obtención de las concentraciones utilizadas en el ensayo se siguió el protocolo de preparación de diluciones de antimicrobianos para pruebas de susceptibilidad bacteriana propuesto por Comité Europeo en Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana (EUCAST, 2003).

Todos los tubos fueron inoculados con 1 ml de la suspensión bacteriana estandarizada equivalente al tubo N°0.5 del nefelómetro de McFarland y se llevaron a incubar a 37°C por 24 horas. Luego se observó la presencia de turbidez en los tubos y se determinó la CMI como la mínima concentración del extracto a la cual no hubo crecimiento visible.

Para estimar la concentración mínima bactericida (CMB) se seleccionaron los tubos en los que no se observó crecimiento visible en la prueba de CMI, de los cuales se tomó una alícuota

de y se sembró en placas con agar Mueller Hinton. Las placas se llevaron a incubar a 37°C por 24 horas. Después se realizó la lectura de las placas observando la presencia o ausencia de colonias bacterianas. Se determinó como concentración mínima bactericida a aquella concentración que fue capaz de matar al 99.9% de las bacterias contenidas en el inóculo inicial.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra el efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de Vallesia glabra sobre el crecimiento de Staphylococcus aureus meticilino resistente y Pseudomonas aeruginosa expresado en diámetro del halo de inhibición promedio (mm). Se puede observar que el halo de inhibición obtenido con el extracto fue de 12 mm (48%) y 13 mm (44,83%) para S. aureus meticilino resistente y P. aeruginosa respectivamente. El antibiótico patrón Ciprofloxacino obtuvo un halo de inhibición de 25mm (100%) y 29 mm (100%) para S. aureus meticilino resistente y P. aeruginosa respectivamente. Este resultado coloca a las bacterias en la categoría de sensibles para el antibiótico patrón.

Tabla 1. Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas de Vallesia glabra sobre el crecimiento de Staphylococcus aureus meticilino resistente y Pseudomonas aeruginosa expresado en diámetro promedio del halo de inhibición del crecimiento (mm) y en porcentaje de inhibición.

Concentración del extracto hidroalcohólico puro de Vallesia glabra mg/mL	Diámetro del halo de inhibición (mm)			
	S. aureus meticilino resistente	% de inhibición de crecimiento	Pseudomonas aeruginosa	% de inhibición de crecimiento
500	12,00	48,00	13,00	44,83
Ciprofloxacino	25,00	100,00	29,00	100,00
Agua destilada	0,00	0,00	0,00	0,00

El extracto hidroalcohólico de hojas Vallesia glabra a la concentración utilizada, presentó una ligera actividad inhibitoria sobre el crecimiento de S. aureus meticilino resistente y de P. aeruginosa. Esto se dedujo comparándolo con las lecturas de los halos de inhibición producidos con el antibiótico utilizado como control positivo, Ciprofloxacino, con el que se obtuvo un halo de hasta 25 mm. Se ha encontrado que las bacterias Gram positivas y Gram negativas, entre ellas las ensayadas resultaron ser resistentes inclusive a concentraciones mas altas de 7000mg/ml del extracto alcohólico

(Jorda et al, 2006). Según el autor esto pudo deberse a la dificultad en la solubilización del extracto seco, lo que no permitió la liberación de los fitoconstituyentes responsables del efecto antibacteriano. Por esto se recomienda encontrar una sustancia que actúe como tensioactivo y permita la solubilización del extracto seco en el agua (Jorda et al, 2006). Por esto es que la búsqueda de antimicrobianos debe estar sujeta a encontrar una concentración adecuada del extracto a utilizar buscando que den un resultado óptimo beneficioso.

La tabla 2 representa el efecto del aceite esencial de hojas de *Vallesia glabra* sobre el crecimiento de *S. aureus* meticilino resistente y *P. aeruginosa* expresado en diámetro de halos de inhibición promedio del crecimiento (mm). Se puede apreciar que el mayor halo de inhibición obtenido fue de 7mm (28%) a la concentración de 100 uL/mL del aceite esencial, tanto para *S. aureus* meticilino resistente y *P. aeruginosa*. El antibiótico ciprofloxacino utilizado como control positivo obtuvo un halo de inhibición de 25 y 29 mm para *S. aureus* y *P. aeruginosa* respectivamente.

Tabla 2. Efecto del aceite esencial de hojas de *Vallesia glabra* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* expresado en diámetro promedio del halo de inhibición del crecimiento (mm) y en porcentaje de inhibición.

Concentración del aceite esencial de <i>Vallesia glabra</i> (uL/mL)	Diámetro del halo de inhibición (mm)			
	<i>S. aureus</i> meticilino resistente	% de inhibición de crecimiento	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	% de inhibición de crecimiento
10,00	0,00	0,00	0,00	0,00
20,00	0,00	0,00	0,00	0,00
30,00	0,00	0,00	0,00	0,00
40,00	0,00	0,00	6,00	20,69
60,00	6,00	24,00	6,00	20,69
80,00	6,00	24,00	7,00	24,14
100,00	7,00	28,00	7,00	24,14
Ciprofloxacino	25,00	100,00	29,00	100,00
Agua destilada	0,00	0,00	0,00	0,00

Al realizar la prueba de difusión en disco con las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Vallesia glabra*, se obtuvo como resultado un ligero halo de inhibición tanto para *S. aureus* como para *P. aeruginosa*. Esto se comparó con las medidas de los halos de inhibición obtenidas con el control positivo, ciprofloxacino, que obtuvo un halo de inhibición de hasta 29 mm (100%). En ambos casos los resultados obtenidos se obtuvieron a las concentraciones más altas del aceite esencial.

Estos resultados sugieren evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Vallesia glabra* con otro tipo de bacterias, tal como lo demuestran trabajos realizados en *Origanum vulgare*, en el que su aceite esencial confirma actividad antibacteriana frente a diversas bacterias gran positivas y gran negativas, a excepción de *P. aeruginosa* que no presenta sensibilidad frente al aceite (Albado et al, 2001). Otro trabajo realizado por Terán et al, 2015 sobre la "Evaluación del efecto del aceite esencial de tara sobre la viabilidad de *S. aureus* meticilino resistente", al realizar la prueba de difusión en agar y excavado en placa, el aceite esencial no muestra actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, según el autor debido a la dificultad de difusión del aceite esencial en el agar Mueller Hinton, lo que no permite una observación clara del efecto antimicrobiano.

La tabla 3 muestra los valores obtenidos de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de hojas de *Vallesia glabra* mediante el método de macrodilución en caldo. Se observa que la CMI es 64 mg/L y 32 mg/L para *S. aureus* y *P. aeruginosa* respectivamente. La CMB fue de 256mg/L para ambas bacterias ensayadas.

Tabla 3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y concentración mínima bactericida (CMB) del extracto hidroalcohólico de *Vallesia glabra* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*.

Concentración del aceite esencial de <i>Vallesia glabra</i> (uL/mL)	<i>S. aureus</i> meticilino resistente		<i>P. aeruginosa</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB
0,125	†		†	
0,250	†		†	
0,500	†		†	
1,000	†		†	
2,000	†		†	
4,000	†		†	
8,000	†		†	
16,000	†		†	C
32,000	†	C	-	C
64,000	-	C	-	C
128,000	-	C	-	C
256,000	-	NC	-	NC
512,000	-	NC	-	NC

C: Crecimiento bacteriano en placa + Turbidez
- Ausencia de turbidez
NC: Ausencia de crecimiento bacteriano

La concentración inhibitoria mínima (CIM) de un agente antimicrobiano es la mínima concentración del agente antimicrobiano que inhibe la multiplicación y producción del crecimiento visible de una cepa bacteriana dada en el sistema de prueba. Se determina la concentración en el laboratorio incubando una cantidad conocida de bacterias con diluciones definidas del agente antimicrobiano. Las pruebas de la CIM pueden ser realizadas usando como medios de cultivo en caldo o agar. (EUCAST, 2003). En el trabajo realizado se determinó la concentración mínima inhibitoria del extracto hidroalcohólico de *Vallesia glabra*, obteniéndose que la mínima concentración del extracto que inhibe el crecimiento visible de *S. aureus* es de 64 mg/L y de 32 ml/L para *P. aeruginosa*. La CMB para ambas bacterias fue de 256 mg/L, lo que indica que se necesita la mayor concentración del extracto para matar el 99,9% de las bacterias.

Los resultados obtenidos de la eficacia antimicrobiana del extracto vegetal son a menudo difíciles de comparar con los resultados publicados debido a la influencia de varios factores, es decir, el medio ambiente y las condiciones climáticas durante el crecimiento de la planta, la elección de extractos de plantas, la elección de métodos de extracción, las pruebas antimicrobianas empleadas y en microorganismos de ensayo. El efecto medicinal beneficioso de los materiales vegetales es básicamente el resultado de los productos secundarios presentes en la planta y no suele atribuirse a un solo compuesto sino a una combinación de los metabolitos (Das et al, 2010). Por eso no podemos desestimar el uso de esta especie vegetal como antimicrobiano y sería conveniente seguir investigando, dado que los datos brindados por el saber popular le atribuyen muchas propiedades, entre ellas el de desinflamante y cicatrizante. Sería ventajoso estandarizar los métodos de extracción y las pruebas "in vitro" para que la búsqueda de nuevos vegetales biológicamente activos pudiera ser más sistemática y los resultados obtenidos sean más confiables.

CONCLUSIONES

El extracto hidroalcohólico y aceite esencial de las hojas de *Vallesia glabra* presentaron un ligero efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Albado, M; Saez, G; Grabiell, S. (2001). Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Rev Med Hered* 12, 16-19.
2. Arning, I y Velásquez, H. (2000). *Plantas con potencial biocida* (1ra ed.). Grafica Sttefhany. Lima-Perú.
3. Brack, A. (1999). *Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú*. Centros de estudios Andinos "Bartolomé de las Casas". Cuzco-Perú.
4. Bussmann, R. y Sharon, D. (2007). *Plantas de los cuatro vientos: plantas mágicas y medicinales del Perú*. Trujillo- Perú. Graficart SRL.
5. Das, K; Tiwari, R y Shrivastava, D. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Medicinal Plants Research*, 4(2), 104-111.
6. De Paula, J y Martins, A. (2000). Acción antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de *Rubias urticaefolius*" .*Cubana de Plantas Medicinales*, 5(1), 26-29.
7. Escobar, B. y Chávez C., M. (2008). Efecto in vitro de diferentes concentraciones de extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae*. *Rev Med Vallejana*, 5(1), 28-37.
8. Echevarría, J. e Iglesias, D. (2003). *Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos*. *Rev Med Hered* 14 (4) ,195-203.
9. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2003). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of Antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and infection*. 9(8).

10. García, S; Prieto, E; Baltar, O; Fuchs, J; Kesten, E; Wood, E. (2002). Comportamiento genotóxico y antigenotóxico de extractos de *Vallesia glabra* en el Ensayo Cometa. Universidad Médica. La Habana-Cuba.
11. Gonzáles, P. (2002). Vigilancia de La resistencia a antimicrobianos. Santiago, Rev. Chilena de infectología, 19 (2).
12. Hernández, I y Rodríguez. (2001). Actividad antimicrobiana de plantas que crecen en Cuba. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 6(2), 44-47.
13. Jorda, G; Prieto, A; Kramer, F; Bargardi, S. (2006). CIM de bacterias Gram Positivas y Negativas por bioactividad de extractos crudos metanólicos de *Cyperus rotundus*. Fac. Farmacia y Bioquímica. Univ. Nac. Misiones.
14. Karuppiyah, P; Rajaram, S. (2012). Antibacterial effect of *Allium sativum* cloves and *Zingiber officinale* rhizomes against multiple-drug resistant clinical pathogens. Asian Pac J Trop Biomed, 2(8), 597-601.
15. Lock de Ugaz, O. (1994). Investigación fotoquímica: métodos en el estudio de los productos naturales (2 ed). Perú: Pontificia Universidad Católica.
16. Martínez, G y Barboza, G. (2010). Natural pharmacopoeia used in traditional Toba medicine for the treatment of parasitosis and skin disorders. Journal of Ethnopharmacology 132, 86- 100.
17. Martínez, M; Betancourt, J; Alonso, N. (1996). Ausencia de actividad antimicrobiana de un extracto acuoso liofilizado de *Aloe vera* (sábila). Cubana de plantas medicinales, 1(3), 18-20.
18. Mostacero, L; Gamarra, O; Mejía, F (2002). Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Trujillo: Normas Legales S.A.C.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). (2000). Performance standards for antimicrobial disk Susceptibility Test: Approved Standard. Seventh. Edition M2-A7. 20 (1)
20. Organización Mundial de la Salud. (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014- 2023. China.
21. Pérez A., F., León A., G., Rodríguez Á., F., y Vásquez N., L. (2011). Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. Pueblo cont. 22(2), 421-426.
22. Raymundo, S. (2015). Etnobotánica de las especies del monte ribereño en el río Chira, Sullana. Tesis para optar el título de Biólogo. Univ. Nac. Piura. Perú
23. Terán, Y; Gonzales, J; Gomez, K; Reyna, L; Avila, E. (2015). Efecto in vitro del aceite esencial de los frutos de *Caesalpinia spinosa* (molina) Kuntze, tara sobre la viabilidad de cultivos de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. Pueblo cont. 26[1], 75-87.
24. Urrutia, O; Fernández, F; Alonso, E; Francisco, J; Pérez, R; López, J. (2003). Comportamiento de la resistencia antibiótica en una unidad de cuidados intensivos pediátricos. Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias.