

Efecto antibacteriano in vitro del *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668

Antibacterial effect in the *Eleutherine* vitrio bulbous (Yahuar piri piri) front *Streptococcus mutans* ATCC 35668

Isella Costa Sinacay¹, Elva M. Mejía Delgado², Orlando M. Alvarado Sánchez³

Recibido: 15 de noviembre de 2016

Aceptado: 03 de diciembre de 2016

Resumen

La presente investigación tuvo como propósito determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) frente a *Streptococcus mutans* ATC 35668. Para determinar el efecto antibacteriano se empleó la concentración mínima bactericida (CMB) y la sensibilidad o resistencia antibacteriana.

El presente estudio experimental incluyó un total de 12 repeticiones de cada concentración al 25%, 50%, 75% y 100%. Se determinó que el extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) tiene efecto sobre el *Streptococcus mutans* en todas las concentraciones 25%, 50%, 75% y 100%,

no hubo crecimiento del *Streptococcus mutans*.

El análisis de varianza muestra que existe una diferencia significativa entre las diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) respecto a la sensibilidad o resistencia antibacteriana.

La prueba de Duncan indica que hay tres (3) grupos de concentraciones del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri)

Palabras claves: Efecto antibacteriano, *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri), *Streptococcus mutans*.

Abstract

The present investigation was to determinate the in vitro antibacterial effect of *Eleutherine bulbosa* ethanolic extract (Yahuar piri piri) against *Streptococcus mutans* ATCC 35668. The strain was obtained from the section of Microbiology. To determine the antibacterial effect was used Minimum Bactericidal Concentration (MBC), and antibacterial sensitivity or resistance.

This experimental study included a total of 12 repetitions of each concentration at 25%, 50%, 75% and 100%. Was determined that the *Eleutherine bulbosa* ethanolic extract (Yahuar piri piri) has an effect on *Streptococcus mutans* at all concentrations 25%, 50%, 75% and 100%, there was no growth of *Streptococcus*

mutans.

The analysis of variance shows that there is a significant difference between different concentrations of *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) for sensitivity or antibacterial resistance.

Duncan test indicates that three (3) groups ethanolic extract *Eleutherine bulbosa* concentrations (Yahuar piri piri)

Keywords: Antibacterial effect, *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri), *Streptococcus mutans*.

1. Cirujano dentista, egresada de UPAO

2. Dra. en Ciencias Biomédicas, docente Facultad Medicina UPAO

3. Médico cirujano, egresado de UPAO

I. INTRODUCCIÓN

La terapia con plantas medicinales se ha utilizado para numerosas enfermedades durante miles de años en todo el mundo con efectos favorables debido a su contenido rico en aceites esenciales, flavonoides, terpenos, alcaloides y otros fotoquímicos. En las zonas rurales de los países en desarrollo siguen siendo utilizados como el principal tratamiento de muchas afecciones, como es el caso del *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri), que podría contribuir con la prevención y tratamiento de enfermedades orales.¹

Aparte de la alimentación para la buena salud de los seres humanos, cuando ésta se pierde se puede recurrir a sustancias activas que alivien las molestias. Los bosques y áreas afines son fuente de estas sustancias, sin embargo, no se aprovechan en su totalidad. Por esta razón se detalla la especie de bosque encontrada (Yahuar piri piri), que es fuente de medicamento para los indígenas, campesinos, naturalistas.²

Eleutherine es un género de plantas bulbosas perteneciente a la familia de las iridáceas y originario de América. El género consta de dos especies caracterizadas por presentar una gran hoja caulinar subapical y flores blancas, estrelladas, pequeñas, que se abren al atardecer. La especie más común es *Eleutherine bulbosa*, que se distribuye a través de América del Sur y es ampliamente cultivada por sus propiedades medicinales. La segunda especie del género, *Eleutherine latifolia*, se distribuye en las regiones tropicales de América Central y del Sur.³

Gupta (2006), en un estudio sobre plantas medicinales originarias del altiplano y los valles centrales de Bolivia, Ecuador y Perú, reportó que el *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri), se usa medicinalmente para combatir el sangrado, la disentería, las infecciones intestinales, la flatulencia y la mordedura de serpiente.⁴

Lacaza (2000), en investigaciones sobre algunas experiencias en medicina tradicional y salud intercultural en la Amazonía ecuatoriana, manifiesta que *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri), tiene aplicación gastrointestinal y en casos de conjuntivitis (antibacteriano).⁵

Rengifo (2007), en un reporte sobre experiencias en el manejo de plantas medicinales amazónicas, indica que la especie *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) se utiliza como anticonceptivo, antidiarreico, antidisentérico, antiespasmódico, antiparasitario intestinal (helmintiasis), cicatrizante de úlceras o heridas en la piel y de úlceras gástricas, en conjuntivitis, para dislocaduras y golpes, para la flatulencia (gases intestinales), hemorragias (posparto), en mordeduras de serpientes, para la tos y contra la uta.⁶

Bianchi y Ceriotti (1975) realizaron diversos ensayos biológicos a partir de Eleutherin y eletherol extraída de los bulbos de *Eleutherine bulbosa*, familia (Iridáceas), colectadas en la selva amazónica, cultivadas en Italia. El procedimiento de extracción y los resultados de ci-

totoxicidad antibacteriano, así como los ensayos farmacológicos son reportados. Indican que la especie tiene un efecto débil y transitorio de disminuir el tiempo de protrombina (in vivo en ratas) y una débil actividad antibacteriana en *Bacillus subtilis* (in vitro).⁷

Según Mejía, K. Rengifo, E., (2000), la planta actúa contra la diarrea, disentería, espasmos, hemorragias postparto, conjuntivitis, úlceras gástricas, hemorragias intestinales, golpes, dislocaduras, tos, helmintiasis y mordedura de serpiente. El zumo de los bulbos aplicados sobre una herida estimula la cicatrización.⁸

Paralelo al desarrollo odontológico de la industria farmacéutica, se ha desplegado un gran interés por parte de los investigadores en estudiar sustancias naturales que posean algunas propiedades farmacológicas con efecto antimicrobiano.⁹

La cavidad oral puede ser considerada como un conjunto de ecosistemas en los que existen diferentes microorganismos que se relacionan entre sí. Se trata de un espacio que se encuentra en constante dinamismo y expuesto a numerosos factores que condicionan la composición y características microbianas.¹⁰

El *Streptococcus mutans* es uno de los principales microorganismos en adherirse a la placa bacteriana y multiplicarse allí. Estos microorganismos son capaces de producir ácidos y polisacáridos a partir de los carbohidratos que consume el individuo, lo que tiene importancia porque los polisacáridos les permiten adherirse a la placa bacteriana y el ácido es capaz de desmineralizar la capa de esmalte de la pieza dentaria, siendo éste último la primera etapa en la formación de la caries dental.^{14,15,16}

II. MATERIAL Y MÉTODOS

MÉTODO

La selección de la muestra se realizó a través de un método no probabilístico, a conveniencia de las investigadoras hasta completar el número requerido.

Se realizó un estudio experimental, el cual se desarrolló en el Laboratorio de la Sección de Microbiología de la Facultad de Medicina, con una muestra de 12 repeticiones para cada una de las cuatro concentraciones de extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668; el cual tuvo como objetivo determinar el efecto antibacteriano in vitro, la concentración mínima bactericida (CMB) y la sensibilidad o resistencia bacteriana.

➤ Método, procedimiento e instrumento de recolección de datos

1) Descripción del procedimiento

- De la recolección y procesamiento del *Eleutherine bulbosa*.

El *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) presentó un color rojo oscuro signo de calidad, libre de piedras y exento de tierra. Se dejó secar por 15 días para luego ser separado en sus respectivos bulbillos.



- **Obtención y procesamiento del extracto etanólico del *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri)**

Antes de realizar la extracción se procedió a purificar el etanol mediante una destilación simple a 78°C. Luego del polvo seco obtenido se extrajo la muestra con etanol a diferentes concentraciones: 25%, 50%, 75%, 100%.

Purificación del alcohol mediante destilación simple



Peso de la muestra necesaria para hacer los extractos respectivos



2) Procesamiento de la bacteria

- **Determinación de las unidades formadoras de colonias (UFC)**

La observación del crecimiento bacteriano se realizó mediante el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC).

La concentración mínima bactericida (CMB) se define como la mínima concentración de antimicrobiano que elimina a más del 99,9% de los microorganismos viables después de un tiempo determinado de incubación (generalmente 24 horas).



- **Determinación de la sensibilidad o resistencia bacteriana**

Para la prueba de sensibilidad se utilizó el método de difusión en discos Kirby y Bauer, se prepararon discos de papel de filtro estériles, los cuales fueron sumergidos dentro de cada concentración del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri), luego con una aguja estéril estos fueron colocados sobre los cultivos de *Streptococcus mutans* en placas petri previamente preparados. En las placas destinadas al grupo control positivo se utilizó penicilina.

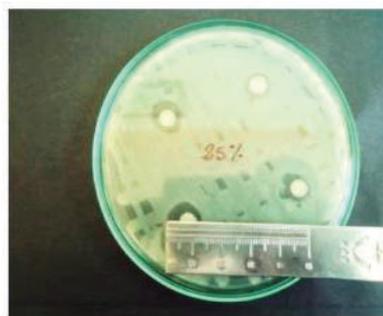
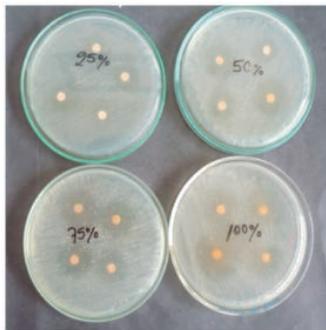
Extractos filtrados



Colación de discos de susceptibilidad



Resultados: Observación de halos de inhibición.



III. RESULTADOS

Tabla N° 01

Unidades formadoras de colonias (UFC), a diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* frente a *Streptococcus mutans*.

Concentración del <i>Eleutherine Bulbosa</i> (Yahuar piri piri)	Ni	Promedio	Desviación estándar
Control bacteriano sin tratamiento	12	10 ⁹	0
25%	12	0	0
50%	12	0	0
75%	12	0	0
100%	12	0	0

Fuente: Datos obtenidos por el grupo investigador.

Tabla N° 02

Análisis de varianza para comparar la sensibilidad o resistencia bacteriana del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Mediciones de halo de inhibición (mm).

FV	SC	Gl	CM	F	P
Tratamientos	257.77	4	64.4417	29.763	3.453E-13
Error	119.08	55	2.1652		
Total	376.85	59			

Fuente: Datos obtenidos por el grupo investigador.

Tabla N° 03

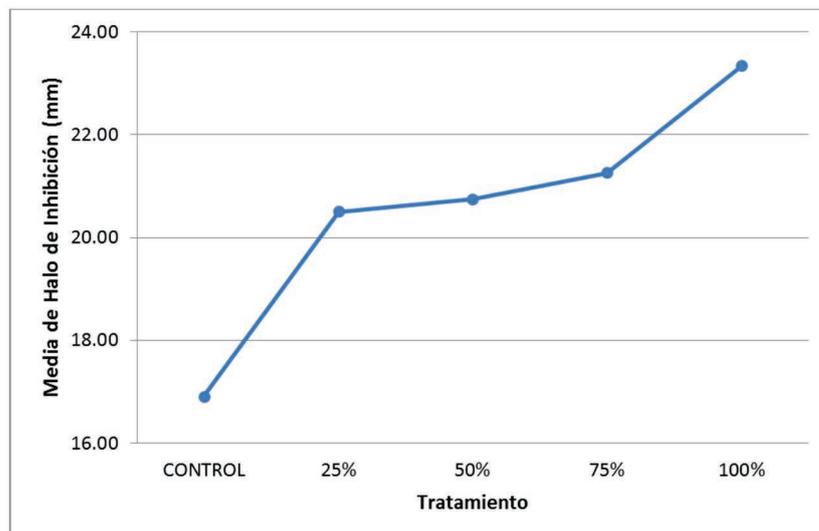
Prueba de DUNCAN para comparar la sensibilidad o resistencia bacteriana del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* a diferentes concentraciones.

Tratamiento	ni	Grupos para alfa= 0.05		
		G1	G2	G3
Control Penicilina	12	16.92		
25%	12		20.5	
50%	12		20.75	
75%	12		21.25	
100%	12			23.33

Fuente: Datos obtenidos por el grupo investigador.

GRÁFICO N°3

Sensibilidad o resistencia bacteriana del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668



Fuente: Datos obtenidos por el grupo investigador.

IV. DISCUSIÓN

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial, siendo el principal recurso de los médicos. Esto hace que se siga profundizando en el conocimiento de especies vegetales que poseen propiedades medicinales, así como el *Euletherine bulbosa* (Yahuar piri piri), planta que ya ha sido estudiada y demostró sus propiedades bacterianas.

El propósito de esta investigación fue determinar el efecto antibacteriano in vitro del *Euletherine bulbosa* (Yahuar piri piri) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668.

El presente estudio de tipo experimental demostró el efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri), a cuatro concentraciones diferentes: a 25%, 50%, 75%, 100%, frente a cepas de *Streptococcus mutans*. Si bien existe un trabajo que manifiesta su efecto bactericida en conjuntivitis, no detalla cómo fue determinado.

La concentración mínima bactericida (CMB) se define como la mínima concentración bacteriana, que elimina a más del 99.9% de los microorganismos viables después de un tiempo determinado de incubación, determinamos la CMB mediante la siembra en placas petri y se midió a través del sistema de conteo de unidades formadoras de colonias (UFC), obteniéndose como resultado una CMB de 25%. Pero al comparar las concentraciones (25%, 50%, 75%, 100%) no se encontraron diferencias significativas. Por tanto se considera que la concentración mínima inhibitoria menor utilizada en este estudio fue de 25%, sin embargo todas las concentraciones tuvieron efecto inhibitorio comparado con el control en donde se observó un crecimiento de UFC de aproximadamente: 10^9 UFC/ml (tabla 01), es decir que solamente en el control bacteriano sin tratamiento hubo crecimiento del *Streptococcus mutans*, en cambio con todas las concentraciones de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) al 25%, 50%, 75%, 100% no hubo crecimiento, lo cual significaría que este extracto etanólico es altamente efectivo.

Para determinar la sensibilidad o resistencia bacteriana, se utilizó el sistema de difusión de discos, registrando promedios de halos de inhibición. La concentración al 100% mostró mayor promedio de halo de inhibición existiendo una similitud con el control positivo (penicilina), mostrándose diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes tratamientos.

La mayor sensibilidad de *Streptococcus mutans* se observó con la concentración al 100%, sin embargo a partir de la concentración de 50% se observó que a medida que aumenta la concentración del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa*, aumenta el promedio de halo de inhibición, es decir que a mayor concentración mayor sensibilidad (gráfico 3).

Por otro lado, Díaz L, demostró que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb (muña) presentaba actividad antibacteriana frente a bacterias orales. Demostró la actividad antibacteriana de tres extractos de la corteza de *Tabebuia serratifolia* (tahuari) sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*.²⁴

Bianchi y Ceriotti (1975) revelaron que el extracto de *Eleutherine bulbosa* posee efecto antibacteriano débil frente a *Bacillus subtilis* in vitro.⁷

En el presente estudio al aplicar el extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri), se obtuvo halos de inhibición promedios entre 20.5, y 20.75 mm de los extractos de 25 y 50% (tabla N° 3), lo que nos estaría indicando que estos extractos etanólicos presentan un efecto inhibitorio mayor al del control en donde se obtuvo halos de inhibición promedio de 16.92 mm, pero tuvieron efecto similar al de 75% (21.25 mm).

Sin embargo, los promedios de halos inhibitorios al aplicar el extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) al 100% sobre *Streptococcus mutans* fue mayor al de las concentraciones de 25%, 50%, 75%.

El efecto inhibitorio de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) podría deberse a que al utilizar un solvente orgánico (etanol) se preserva mejor los compuestos biológicamente activos.

Este efecto se le atribuye a sus propiedades medicinales que se encuentra principalmente en los bulbos de las cuales se obtiene el extracto de *Eleutherine bulbosa*. La efectividad de este extracto se debería a que dentro de su composición química presenta al Eleutherin y eleutherol extraída de los bulbos de *Eleutherine bulbosa*.^{3,7}

Eleutherine es un género de plantas bulbosas perteneciente a la familia de las iridáceas y originario de América. El género consta de dos especies caracterizadas por presentar una gran hoja caulinar subapical y flores blancas, estrelladas, pequeñas, que abren al atardecer. La especie más común es *Eleutherine bulbosa*, que se distribuye a través de América del Sur y es ampliamente cultivada por sus propiedades medicinales.³

En odontología la fitoterapia está ganando mayor interés por parte de los investigadores, de ahí la importancia del presente estudio en el que se comprobó que el extracto de *Eleutherine bulbosa* posee efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans*, constituyendo una base para su utilización en estomatología y para futuras investigaciones in vitro e in vivo.

V. CONCLUSIONES.

1. El extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) posee efecto antibacteriano in vitro frente a *Streptococcus mutans*. ATCC 35668.
2. La concentración mínima bactericida del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668 es de 25%.
3. *Streptococcus mutans* ATCC 35668 fue sensible frente a todas las concentraciones del extracto etanólico de *Eleutherine bulbosa* (Yahuar piri piri), a mayor concentración mayor sensibilidad.

VI. BIBLIOGRAFÍA

1. Sánchez I, Rubio A. *Atención farmacéutica en la enfermedad periodontal*. Ámbito farmacéutico, jul-ago. 2010; 29(4):62-67
2. Sánchez M. (1980). *Diccionario de plantas agrícolas*. Editorial Ministerio de Agricultura.
3. Peter Goldblatt and Neil Snow. 1991. *Systematics and Chromosome Cytology of Eleutherine Herbert (Iridaceae)*. Annals of the Missouri Botanical Garden, Vol. 78, No.4 (1991), pp. 942-949.
4. Gupta, Mahabir P. (2006). *Medicinal Plants Originating In the Andean High Plateau and Central Valleys Region of Bolivia, Ecuador and Peru*. 306 pp. United Nations Industrial Development Organization Investment and Technology Promotion Branch. http://www.unido.org/fileadmin/import/58569/medicinal_final.pdf.
5. Didier Lacaze D. (2000). Experiencia en medicina tradicional y salud intercultural en la Amazonía Ecuatoriana, 1-37 pp. <https://Gupea.Ub.Gu.Se/Bitstream/2077/3235/1/Anales5Lacazepdf>.
6. Rengifo Salgado Elsa (2007). *Las ramas floridas del bosque, Experiencias en el manejo de plantas medicinales amazónicas*, 5-83pp.
7. Bianchi C, Ceriotti G. 1975. *Chemical and pharmacological investigations of constituents of Eleutherinebulbosa (Miller) Urb. (Iridaceae)*. J. Pharm Sci.64 (8):1305-8pp.
8. Mejía, K; Rengifo, E., 2000. *Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía Peruana*. Lima, Agencia Española de Cooperación Internacional. Segunda edición aumentada y corregida. Setiembre del 2000, 286pp.
9. Aricapa D. *Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismoscariogénicos*. (Tesis Odontología). Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2009.
10. Liébana JM. *Estabilidad de genotipos de Streptococcusmutans en escolares usando la técnica AP- PCR y el cebador OPA – 2* (Tesis) España: Universidad de Granada; 2008.
11. Borja F. *Actividad antibacteriana y concentración mínima inhibitoria del aceite esencial Cymbopogon-citratus frente al Streptococcusmutans in vitro*. (Tesis) Lima: Universidad Nacional Federico Villarreal; 2007.
12. Cosco D. *Actividad inhibitoria del crecimiento de Streptococcusmutans y de la flora mixta salival por acción del aceite esencial de la Matricaria chamomilla, manzanilla* (Tesis) Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
13. Neira A, Ramírez M, Sánchez N. *Estudio fotoquímico y actividad antibacterial de PsidiumguineenseSw (Choba) frente a Streptococcusmutans, agente causal de caries dental*. Rev. Cubana PlantMed 2005; 10:3-4
14. Silverstone L.M. *Etiología de la caries dental*. En: Braham R.L, Morris M.E. Editores. *Odontología Pediátrica*. 1ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1987.
15. Barrancos J. *Operatoria dental: Atlas – técnica y clínica*. 1ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1988.

16. Drummond B, Kilpatrick N, Bryant R, Lucas J, Hallett K, Silva M, Johnston T, Verco J, Messer L. B. *Caries dental y odontología pediátrica restauradora*. En: Cameron A, Widmer R. Manual de Odontología Pediátrica. 1ª ed. Madrid: HarcourtBrace; 1998.
17. Gamboa F, Herazo B. *Control microbiológico sobre Streptococcus mutans y su acción ácido génica*. Universitas Scientiarum 2004; 9:45-55.
18. Burnet, G. *Microbiología oral y enfermedades infecciosas de la boca*. México: Edit. Médica Panamericana; 1990.
19. Liu H, Lengua L, León G. *Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos de Caesalpiniaspinosa "tara" y Eucalyptus sp. "eucalipto"*. Horizonte 2002; 2(1).
20. Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruíz J. *Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de Minthostachys mollis*. Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública 2008; 25 (3): 298-301.
21. Dawson B, Trapp G. *Bioestadística médica*. 4da ed. México: Editorial Manual Moderno; 2005.
22. Martínez M, Cuellar M. *Manual de prácticas de laboratorio: Farmacognosia y productos naturales*. Universidad de la Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos. La Habana Cuba: 2000. P125.
23. Liu H, Lengua L, Leon G. *Evaluación de la actividad in vitro de los extractos de Caesalpiniaspinosa "tara" y Eucalyptus sp. "eucalipto"*. Horizonte 2002; 2(1).
24. Calixto M. *Plantas medicinales utilizadas en odontología* (Parte I). Artículo de revisión 2008. (citado 23 junio del 2011): URL Disponible en: www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2006rv2/Kiru7.pdf