



Sensibilidad de cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* frente a la acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum* “Ajo”.

Sensitivity of cultured *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* against the antibacterial action of *Allium sativum* extract "Garlic".

Pedro Mercado Martínez¹

Luz Arévalo Campos²

¹ Docente Departamento de Microbiología y Parasitología

² Tesista Escuela de Microbiología y Parasitología

Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo

peemercado_1@hotmail.com

luzare10@hotmail.com

RESUMEN

Se evaluó la sensibilidad de los cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* frente a la acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum* “Ajo” por el método de Kirby Bauer haciendo hoyos de 5mm de diámetro y 5mm de profundidad en agar Mueller-Hinton; independientemente se realizó un control de susceptibilidad utilizando discos de Cefalexina para *Staphylococcus aureus*, Vancomicina para *Staphylococcus epidermidis* y Ciprofloxacino para *Pseudomonas aeruginosa*. En los resultados obtenidos se observa una mayor acción antibacteriana con los cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* a la concentración del 100% extracto de *Allium sativum*; Estos hallazgos coinciden con los publicados en otros trabajos y se confirma el efecto antibacteriano, pues las concentraciones utilizadas del extracto inhiben el



crecimiento formando halos de gran tamaño y con una diferencia significativa elevada.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa*, *Allium sativum*, sensibilidad.

ABSTRACT

Was evaluated sensitivity of cultured *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomona aeruginosa* against the antibacterial action of *Allium sativum* extract "Garlic" by Kirby Bauer method of making holes of 5mm in diameter and 5 mm deep in Mueller-Hinton agar ; independently was performed susceptibility control using discs Cephalexin to *Staphylococcus aureus*, Vancomycin for *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomona aeruginosa* to Ciprofloxacin. In the results obtained show a higher antibacterial action with crops of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* and *Pseudomona aeruginosa* at 100% concentration of extract of *Allium sativum*; These findings are consistent with those reported in other studies and confirmed the antibacterial effect, since the extract concentrations used inhibit the growth forming large halos with a high significant difference.

INTRODUCCIÓN

La resistencia bacteriana es reconocida ampliamente como una amenaza para el tratamiento antibiótico en todo el mundo, la cual apareció con mayor incidencia en los ambientes hospitalarios, por ejemplo las reportadas con *Klebsiella*, *Pseudomona aeruginosa* y *Acinetobacter* y *Staphylococcus aureus* meticilino y vancomicina resistentes, y que actualmente se han ido difundiendo a infecciones bacterianas adquiridas en la comunidad, tales como neumonía, gonorrea e



infecciones del tracto urinario, cada vez más difíciles de tratar con los antibióticos usuales.¹⁻³

En la actualidad las plantas medicinales, por su biodiversidad y riqueza en metabolitos secundarios, proporcionan una interesante fuente de posibles sustancias activas contra muchas bacterias; en los últimos años se ha ido desarrollando un creciente interés en la búsqueda de muchos vegetales con efectos antimicrobianos.^{1,4}

Uno de los vegetales de interés es el *Allium sativum* “Ajo”, especie monocotiledónea perteneciente a la familia Liliáceas de origen asiático, cuyas propiedades medicinales se conocen desde la antigüedad, en el papiro egipcio de Ebers existen recetas curativas, el cual incluye 800 fórmulas magistrales de las cuales 22 hacen referencia al ajo, usadas contra las infecciones, tumores, enfermedades cardíacas, dolores de cabeza y parásitos intestinales.^{5,6}

El bulbo de *Allium sativum* contiene un aminoácido inodoro aliina (S-Alil-L-cisteinasulfoxido) el cual es el responsable del olor característico y no presenta actividad antimicrobiana en su estado natural, pero al ser triturado o fermentado se libera la enzima aliinasa que convierte en ácido 2-propeno sulfónico, que se encarga de dimerizar a la forma de alicina la que posee propiedades antibióticas, antimicóticas, reductoras de lípidos, antioxidantes y fibrinolíticas; además se considera el principio activo del *Allium sativum*.⁷⁻¹⁰

Estudios recientes llevados a cabo por numerosos investigadores han aportado un gran número de evidencias farmacológicas que justifican su uso como antihipertensivos, antifúngico, antimicrobiano, antitrombótico, antihiperlipemizante y antilipemizante.¹¹⁻¹³

Teniendo en cuenta que en la actualidad existen enfermedades recurrentes causadas por muchas bacterias dentro de las cuales se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa* capaces de invadir heridas existentes, además se sabe que están siendo resistentes a los antibióticos tradicionales por el uso irracional de los mismos, por lo mismo que a través de este proyecto se determinó la sensibilidad que presentan



los cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* frente a la acción antibacteriana a las concentraciones de 25%, 50% y 100% del extracto de *Allium sativum* "Ajo" relacionado con un disco.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la investigación se utilizó cultivos puros de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* obtenidos en el laboratorio Referencial de Trujillo, además bulbos *Allium sativum* procedente del Caserío San Ignacio de la Oyola- Distrito de Sinsicap - Provincia de Otuzco.

Obtención del extracto de *Allium sativum*

Los bulbos de *Allium sativum* fueron limpiados retirando impurezas, pelandos y lavados con abundante agua; posteriormente se lavó con agua destilada estéril, seguido de una desinfección utilizando solución de hipoclorito de sodio a una concentración de 200 ppm durante 5 minutos, luego se volvió a enjuagar con agua destilada estéril y se obtuvo el extracto utilizando un extractor común y como solvente al etanol comercial en una proporción 1:1 (p/v) y finalmente se obtuvo un filtrado utilizando papel de filtro Whatman N° 10.

Preparación de las concentraciones del extracto de *Allium sativum*

Se estandarizó las concentraciones a 25%, 50% y 100%, con agua destilada estéril.

Preparación y estandarización de los inóculos bacterianos

A partir de un cultivo joven de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa*, se preparó una suspensión equivalente a 1×10^8 cél/ml utilizando el tubo N° 1 (3×10^8 UFC/ml) de Nefelómetro de Mac Farland.

Evaluación de la sensibilidad

Para evaluar la sensibilidad de los diferentes cultivos se utilizó la técnica de Kirby Bauer modificada, en la cual se prepararon placas Petri con 20 ml de Agar Mueller-Hinton, a las que se sembraron por superficie 0.1ml del inóculo bacteriano



y se distribuyó con asa de Drigalsky. A cada placa se hicieron 3 hoyos de 5 mm de diámetro y 5mm de profundidad, en los cuales se colocaron 50 μ L del extracto de *Allium sativum* a la concentraciones de 25%, 50% y 100% respectivamente.¹⁴

Independientemente se realizó un control de susceptibilidad utilizando discos de Cefalexina (30mcg) para *Staphylococcus aureus*, Vancomicina (30mcg) para *Staphylococcus epidermidis* y Ciprofloxacino (5mcg) para *Pseudomona aeruginosa*^{15,16} y por separado el solvente (Etanol) a las concentraciones de 25%, 50% y 100% utilizado para obtener el extracto. Todas las placas fueron incubadas a 37°C por 24 horas; luego se midió el diámetro de los halos de inhibición, los cuales se compararon con los obtenidos de los discos de Cefalexina, Vancomicina y Ciprofloxacino. Cada cultivo fue sometido a cinco ensayos utilizando el diseño completamente al azar (DCA); y se reportaron promedios de las mediciones hechas.

Análisis de resultados

Los resultados obtenidos fueron sometidos al análisis estadístico de tipo ANVA para hallar la diferencia significativa, DUNNET para comparar las diferentes concentraciones con el control y DUNCAN para hallar la concentración mas adecuada, con un nivel de significancia de 0.05% y con intervalos de confianza de 0 a 95%.¹⁷

RESULTADOS

En el Gráfico N° 1 se observa que los halos formados por las diferentes concentraciones del extracto de *Allium sativum* difieren significativamente del halo formado por Cefalexina, con $p < 0.05$ de acuerdo a las pruebas estadísticas ANVA.

De la misma manera el Gráfico N°2 expresa que *Staphylococcus epidermidis* es altamente sensible al extracto de *Allium sativum*, debido a que los halos formados por las distintas concentraciones del extracto de *Allium sativum* superan



significativamente al halo formado por Vancomicina utilizada como control existiendo $p < 0.05$.

Para el caso de *Pseudomonas aeruginosa*; el Gráfico N°3 muestra que el control Ciprofloxacino forma halos significativamente mayores a los formados por las concentraciones de 25%, 50% de *Allium sativum* con $p < 0.05$, por el contrario el halo formado por la concentración de 100% de *Allium sativum* es estadísticamente igual al halo formado por Ciprofloxacino, encontrándose $p > 0.05$.

El Gráfico N°4 compara el efecto causado por las diferentes concentraciones del extracto de *Allium sativum* frente a las tres bacterias utilizadas, resaltando que la mejor concentración para cualquiera es 100% y la bacteria mas sensible es *Staphylococcus aureus* y la mas resistente es *Pseudomonas aeruginosa*.

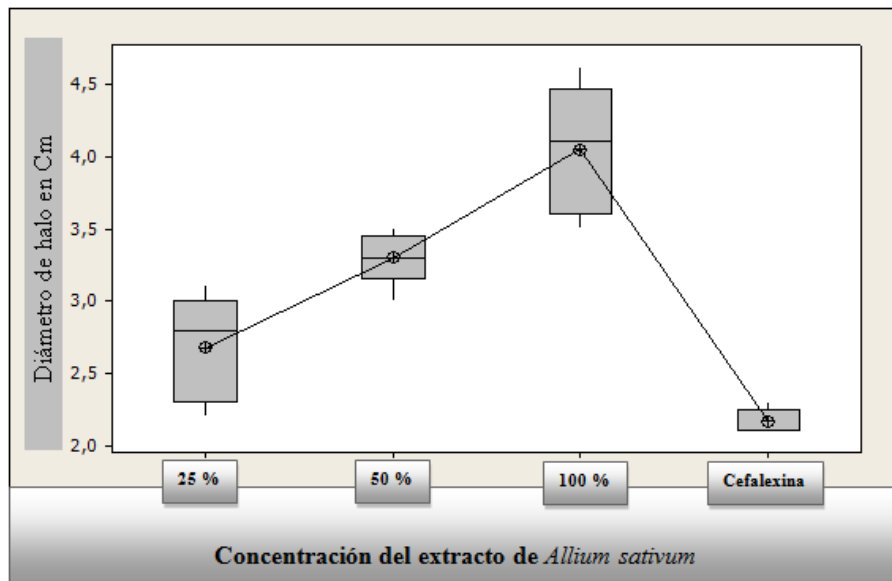


Gráfico N° 1: Sensibilidad de *Staphylococcus aureus* frente a la acción antibacteriana del 25%, 50% y 100% de extracto de *Allium sativum* "Ajo" comparada con el disco control de Cefalexina ($p < 0.05$)

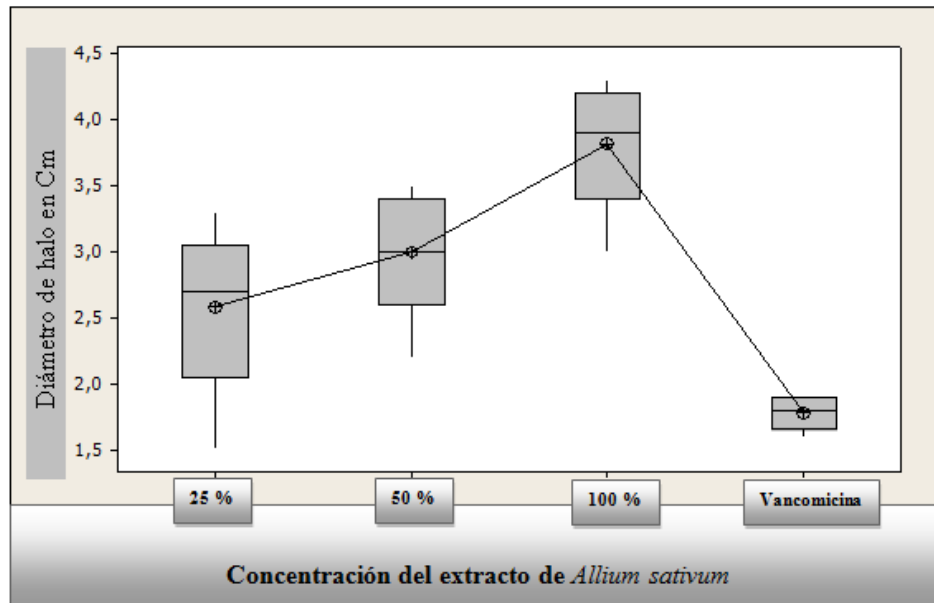


Gráfico N° 2: Sensibilidad de *Staphylococcus epidermidis* frente a la acción antibacteriana del 25%, 50% y 100% de extracto de *Allium sativum* “Ajo” comparada con el disco control de Vancomicina ($p < 0.05$)

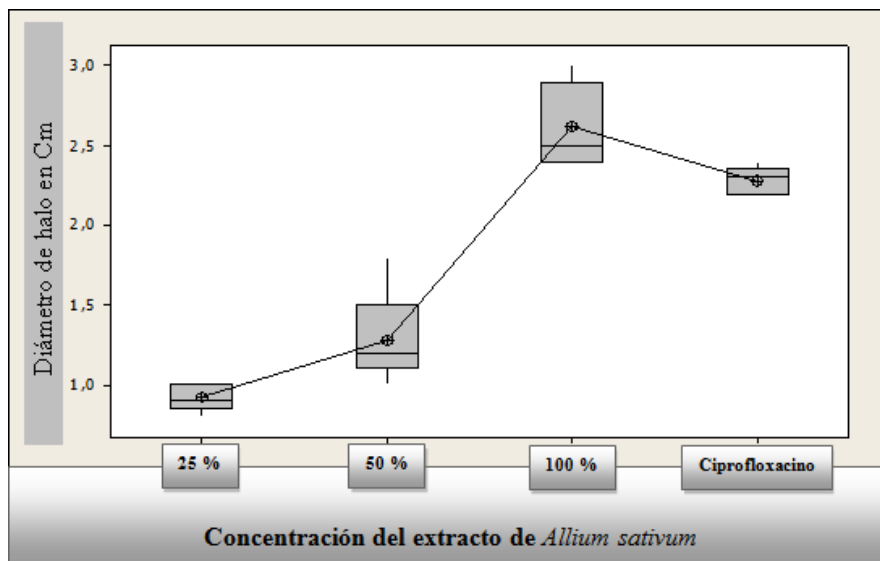


Gráfico N° 3: Sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* frente a la acción antibacteriana del 25%, 50% ($p < 0.05$) y 100% ($p > 0.05$) de extracto de *Allium sativum* “Ajo” comparada con el disco control de Ciprofloxacino.

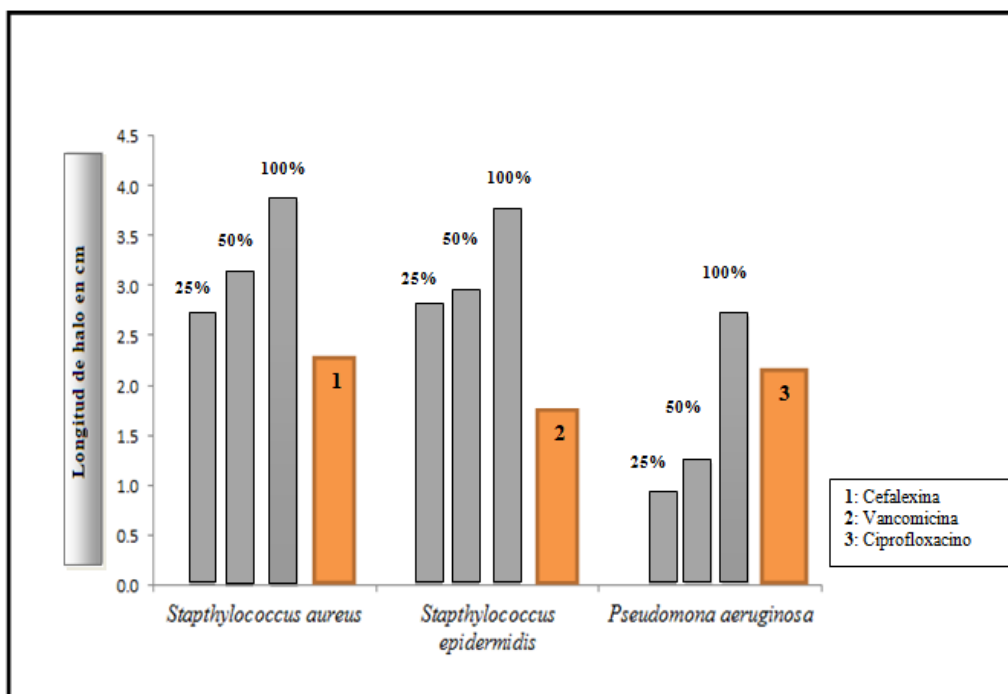


Grafico N° 4: Comparación de la sensibilidad de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* frente a la acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum* “Ajo”, demostrando que el 100% es la mejor concentración para cualquiera.

DISCUSIÓN

Muchos estudios se han realizado con los extractos y aceites esenciales obtenidos de diferentes plantas clasificadas como medicinales o como especias; la intención ha sido buscar compuestos que inhiban el crecimiento ya sea de bacterias, hongos, virus y parásitos en alimentos, en aguas residuales o también para ser utilizados como medicamentos.^{1,2} En aquellos extractos y aceites esenciales que han presentado mayor capacidad inhibitoria se han encontrado mayormente compuestos tales como el timol, el carvacrol, el linalool, el aldehído cinámico, la alicina y el eugenol ^{5,6,12}

ARILDA y Col mencionan que dichos componentes por a su acción lipofílica tienen la capacidad de atravesar la membrana celular, romper polisacáridos, ácidos



grasos y lípidos, provocando su permeabilización, la cual produce pérdida de iones, colapso de la bomba de protones y disminución del ATP, conduciendo a la muerte celular; también se ha encontrado que a nivel citoplasmático pueden actuar sobre lípidos y proteínas coagulando dichas moléculas.⁴

Como se puede apreciar en el Grafico N°1; la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* frente a la acción antibacteriana de las distintas concentraciones del extracto de *Allium sativum* "Ajo" en donde se ve claramente que los halos formados por las concentraciones de 25%, 50% y 100% del extracto de *Allium sativum* superan al halo formado por disco control Cefalexina con $p < 0.05$ existiendo una diferencia altamente significativa; dicha evidencia nos permite asegurar que el extracto utilizado inhibe significativamente a *Staphylococcus aureus* y que el mejor tratamiento es la concentración de 100% *Allium sativum*.

De la misma manera podemos ver el Grafico N°2 en el cual se expresa la sensibilidad de *Staphylococcus epidermidis* frente a la acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum* "Ajo" evidenciando halos mucho mayores al disco control con $p < 0.05$ existiendo una diferencia significativa; dicha evidencia nos permite asegurar que el extracto utilizado inhibe significativamente a *Staphylococcus epidermidis* además cabe mencionar que el tratamiento con mayor efecto es el de 100% de *Allium sativum* al igual que el caso anterior.

Sin embargo el Grafico N° 3; nos muestra la baja sensibilidad que presenta *Pseudomona aeruginosa* frente a la acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum* "Ajo", para las concentraciones de 25% y 50%, existiendo a la vez $p < 0.05$ por lo tanto el disco formado por el Ciprofloxacino es significativamente mayor a los formados por las concentraciones de 25% y 50% del extracto de *Allium sativum*, pero para la concentración de 100% del extracto $p > 0.05$ lo que indica el halo formado por dicho tratamiento es igual al formado por Ciprofloxacino por lo tanto esta es la mejor concentración a la cual *Pseudomona aeruginosa* presenta mayor sensibilidad, además demuestra que *Pseudomona aeruginosa* es la bacteria que presenta mayor resistencia a la acción del extracto de *Allium sativum*.



Dichos resultados mostrados al final de la investigación nos ayudan a confirmar lo escrito por otros autores, los cuales refieren además que el poder antimicrobiano del *Allium sativum* es bien conocido ya que presenta compuestos de carácter inhibitorio para ciertos microorganismos de tal manera se sabe que diente intacto posee un compuesto sulfurado denominado aliina (5-alil-L-cisteina sulfóxido), que es el componente mayoritario y cuando este es macerado, se libera la fosfopiridoxal alinasa, enzima que hidroliza la aliina produciendo alicina (Tiosulfínato dialilo), siendo éste último el componente antibacteriano de dicha planta, que actúa inhibiendo las enzimas respiratorias. La alicina puede ser transformada en otros compuestos, debido a su inestabilidad, dentro de éstos se encuentra el ajoeno [(E,Z)-4,5,9-tritriadodeca-1,6,11-trieno-9-óxido], el cual posee una baja actividad antibacteriana y una excelente actividad antifúngica al afectar la integridad de su pared celular por lo que sugieren que la actividad antimicrobiana del ajoeno estriba en la presencia de enlaces disulfito junto con los grupos sulfimilicos presentes en su estructura.^{11,12}

En base a los resultados obtenidos podemos afirmar que los cultivos de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* fueron los cultivos que mostraron mayor sensibilidad coincidiendo con los resultados obtenidos por otras investigaciones, por el contrario *Pseudomona aeruginosa* es la bacteria con mayor resistencia ya que las bacterias Gram negativas son más resistentes al tratamiento por extracto de *Allium sativum*⁵; cuyos resultados concuerdan con la bibliografía al respecto y además con los resultados esperados, ya que diferentes investigaciones como la de Ardila Q M y col, García Rico R O y Herrera Arias F C.^{4,18} lo mencionan.



CONCLUSIONES

- Se determinó que los cultivos de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomona aeruginosa* son sensibles frente a la acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum*, comparado con su respectivo disco control.
- Se determinó que los halos de inhibición formados por las cepas de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* a distintas concentraciones usadas, muestran diferencia altamente significativa,
- Se demostró que el cultivo de *Pseudomona aeruginosa* solo evidencia sensibilidad al 100% del extracto de *Allium sativum* siendo es igual al control.
- Se determinó que las concentraciones del 25%, 50% y 100 % para *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* difieren significativamente de los halos formados por el disco control para cada especie.
- Se determinó que los cultivos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* son los cultivos que presentan mayor sensibilidad frente a la acción antibacteriana del extracto de *Allium sativum*, superando al disco control utilizado, pero con mayor sensibilidad se muestra *Staphylococcus aureus*.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Pérez C JE, Isaza M G, Acosta SM. Actividad antimicrobiana de *Phenax rugosus* y *Tabeburia chrysantha*. BIOSALUD 2007; 6: 59 – 68.
2. Jacinto G GL y Sánchez M JF. Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). ALAN 2000; 50(3).
3. Aguado G JM, Martín H JE Y Lumbreras B C. Resistencia bacteriana. MED MILIT 2004; 32(4).
4. Ardila Q MI, Vargas A AF, Pérez C JE y Mejía G LF. Ensayo preliminar de la actividad antimicrobiana de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringes*. BIOSALUD 2009; 8: 47 – 45.
5. Tejerina S MT. Estudio de diferentes fracciones y extractos de *Allium sativum* sobre la reacción vascular, niveles de colesterol y cultivos celulares. [Tesis doctotal]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2001.
6. Bptosta G HA. ¿Posee propiedades medicas el ajo?. Médica Sur 2005; 12(4): 223 – 225.
7. Ramirez O MC, Patiño O MM y Maldonado M L. Tratamiento tópico de vaginitis bacteriana con extracto de ajos. Mexico: Unidad Iztapalapa, Universidad Autonoma Metropolitana; 2004.
8. Hall R V, Pocha Palma M y Rodriguez E. Plantas Medicinales. CIMED 2002; 2; 1 – 110.
9. Vladimir AY y Vicente D. Pesticidas naturales y sintéticos. Cientifica 2010; 13(1): 43 – 53.
10. Osuna T L, Tapia P ME y Aguilar C A. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales 2005.
11. Salazar S Y. *Allium sativum* L. un agente antitrombótico diferente. Angiol y Cir Vasc 2000; 1(2): 155 – 160.



12. Órgano oficial SEFIT. Posibilidades terapéuticas del bulbo de ajo (*Allium sativum*). Revista de Fitoterapia 2007; 7(2): 131 – 151
13. Bartolini CM y Cicuta ME. Inhibición del crecimiento de *Proteus mirabilis* por extracto de *Allium sativum*. Argentina: Universidad Nacional Nordeste; 2011. Res. Nº 984/201 – CS.
14. Erna Cona T. Condiciones para un buen estudio de susceptibilidad mediante test de difusión en agar. Rev Chil Infect 2002; 19 supl 2: 77 – 81.
15. Álvarez LF y Palomar MM. Decálogo de normas para la utilización de antibióticos en pacientes críticos. Med Intensiva 2000; 24: 69 – 77.
16. Céspedes Valcárcel AJ, Portan Gonzáles PF. Actualidad y perspectivas de drogas antibacterianas. Rev Cub Med Mil 1989; 27 (2): 1 – 9.
17. Boqué Richar y Marote Alicia. El análisis de varianza. UOC. 2011; 14: 1 – 23.
18. García R RO y Herrera A FC. Evaluación de la inhibición de cinco cepas bacterianas por extractos acuosos de *Allium sativum*. *Allium fistulosum* y *Allium cepa*: Estudio preliminar *in vitro*. BISTUA 2007; 5(2); 68 – 79.