Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2011;16(3):236-243

ARTÍCULO ORIGINAL

Comparación de distintas extracciones hidroalcohólicas de plantas con indicativo etnográfico antiséptico/desinfectante

Comparison of several hydroalcoholic extracts from plants with antiseptic/disinfectant ethnographic indication

Lic. Fernanda Voigt Mota,[I] Lic. Carolina Lambrecht Gonçalves,[I] Dr. Luiz Filipe Damé Schuch,[I] Dra. Helen Silveira Coimbra,[I] MSc. Carla Hartwig[I]

[I] Universidad Federal de Pelotas (UFPel). Brasil.

RESUMEN

Introducción: la utilización de productos naturales y de bajo riesgo en la producción animal ha alcanzado elevada importancia en los últimos años.
Objetivos: comparar la actividad antibacteriana de diferentes extractos hidroalcohólicos de 4 plantas (*Baccharis trimera* [Less] DC, *Bidens pilosa* L., *Eucalyptus* sp. y *Tagetes minuta* L.) frente a 2 microorganismos que causan mastitis (*Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactia*).
Métodos: se obtuvieron extractos de hojas frescas con alcohol a 92,8° y de hojas secas con alcohol a 70 y 50°. La actividad antibacteriana de cada extracto se midió por la capacidad de inactivación de 10^5-10^6 UFC/mL de cada bacteria, en 3 tiempos de contacto, 30 s, 5 y 20 min. Los resultados obtenidos se hicieron por análisis de variación y comparación de las medias utilizando el ensayo de *Turkey*.
Resultados: se obtuvo efecto antibacteriano con los extractos de todas las plantas. Para *T. minuta,* el extracto de hoja seca con alcohol de 70° fue el efecto mayor ($p < 0,05$), mientras que para *Eucalyptus* spp., se encontró que el extracto de hoja fresca resultó más eficaz, con diferencia significativa. Las otras 2 plantas no presentaron diferencia de efecto antibacteriano para las distintas formas de obtención de extracto.
Conclusiones: hay mayor actividad antibacteriana, cuando el extracto de *T. minuta* es obtenido de hojas secas y en *Eucalyptus* spp. de hojas frescas.

Palabras clave: actividad antibacteriana, plantas medicinales, extractos hidralcohólicos, desinfectante/antiséptico.

ABSTRACT

Introduction: the use of low risk natural products in the animal production has acquired growing importance in the last few years.
Objectives: to compare the antibacterial action of several hydroalcoholic extracts from 4 plants (*Baccharis trimera* [Less] DC, *Bidens pilosa* L., *Eucalyptus* sp. and *Tagetes minuta* L.) against 2 microorganisms causing mastitis (*Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactia*).
Methods: extracts from fresh leaves using 92.8°alcohol and from dry leaves using 70° and 50° alcohol were obtained. The antibacterial action of each extract was measured on the basis of the capacity of inactivating 10^5-10^6 CFU/ml of each bacterium at 3 contacting times of 30 s, 5 min and 20 min. The Turkev´s assay-based variation and comparison analysis of the means provided the final outcomes.
Results: all the extracts had some antibacterial effect. The extract from *T. minuta* dry leaves using 70° alcohol showed the biggest effect ($p< 0,05$) whereas the extract from *Eucalyptus* spp. fresh leaves proved to be more effective, being the difference significant. The other 2 plants did not show any difference in terms of antibacterial effect for the various forms of obtaining the extract.
Conclusions: the antibacterial action is greater with dry leaf extract from *T. minuta* and fresh leaf extract from *Eucalyptus* spp.

Key words: antibacterial activity, medicinal plants, hydroalcoholic extracts, disinfectant/antiseptic.

INTRODUCCIÓN

La sociedad humana siempre obtuvo de la naturaleza los recursos indispensables para su evolución, pero la exploración por los recursos naturales viene aumentando con el pasar de los años. Las plantas se tornarron más que un simple auxilio en los procesos medicinales, debido a su comprobada acción en prácticas de cura de enfermedades y en la promoción de la salud.[2] Consideradas por muchos el único recurso medicinal disponible, es posible observar el cultivo de estas plantas en los comercios de regiones más desfavorecidas del país, que sirven como fitoterápico y fuente de renta de familias, comunidades y grupos.[1]

De esta manera, las plantas medicinales vienen siendo blancos de estudios realizados, con la intención de comprobar su potencial medicinal utilizado en la cultura de la población a través del conocimiento y la observación popular, las cuales contribuyen en la divulgación de sus beneficios.[1] Estudios demuestran este potencial en aplicaciones con finalidad broncodilatadora, dérmica, ginecológica, teratogénica, antihelmíntica, hepática, anticáncer, control del colesterol y diabetes, leishmanicida, antidiarreica, fungicida, obesidad, protección contra insectos, tratamiento para quemaduras y bactericida.[1-4]

La medicina veterinaria tiene utilizado el conocimiento de la medicina alternativa en una tentativa de sustituir el uso de antibióticos y otros medicamentos químicos convencionales, los cuales poseen alto costo en el mercado y resultan de difícil acceso a los criadores, donde la mayoría causa efectos colaterales en el enfermo.[5]

Entre los problemas de salud que afectan el ganado lechero, que trae grandes perjuicios al productor, la mastitis infecciosa ocasionada por una inflamación de la glándula mamaria debido a la acción de los microorganismos patogénicos, es una de las enfermedades bovinas de mayor relevancia por la reducción en la producción de la leche, pérdidas por descarte y muertes de animales, elevados gastos en tratamientos, más allá de las consecuencias económicas para la industria de la leche por su cualidad alterada.[6-8] Para la prevención de esa enfermedad, se encuentra la higienización del ambiente, de los equipamientos y la antisepsia de las tetas posordeño, lo que reduce el número de microorganismos patogénicos. El uso de extracto de plantas ha sido sugerido tanto para el tratamiento como para la desinfección de las tetas.[4]

Los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Baccharis trimera* (Less.) DC, *Bidens pilosa* L., *Eucalyptus* sp. y *Tagetes minuta* L. obtenidos de la flora local ya demostraron actividad antibacteriana y antifúngica.[4,9,10]

Por tanto, este trabajo tiene como objetivo la comparación de diferentes maneras de obtener el extracto hidroalcohólico de hojas de *B. trimera*, *B. pilosa*, *Eucalyptus* sp. y *T. minuta*, utilizadas en estado seco y fresco en diferentes concentraciones de etanol en frente de las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactia*.

MÉTODOS

En la realización de este trabajo se utilizaron 4 plantas con indicativo etnográfico antiséptico/desinfectante. Las hojas de las plantas se colectaron en el inicio del otoño, en una área con radio de 1 km, a partir del punto 31º 39' 13" S y 53º 03' 39' O, localizada en el municipio de Piratiní, Rio Grande del Sur, con altitud aproximada de 211 m. Cuando fue necesario, el secado se realizó en el aire, en tendederas a la sombra, protegidas de insectos y de la lluvia. Se prepararon muestras de cada planta, según *Ming*,[11] la identificación y la conservación se hizo en el herbario del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad Federal de Pelotas (UFPel). Las plantas en estudio se sometieron al proceso de extracción hidroalcohólico, según la farmacopea brasileña,[12] con adaptación necesaria para la realización del experimento.

Las hojas frescas se trituraron y colocaron en alcohol etílico de cereales a 92,8° gl, en no más que 12 h poscosecha, mientras las hojas secas se extrajeron en alcohol etílico de cereales a 70 y 50°. Para la realización de los ensayos de desinfección, los extractos se sometieron a destilación, utilizando un evaporador rotativo a presión reducida. Todos los extractos después la extracción se rehidrataron al volumen inicial con agua destilada estéril, manteniendo sus concentraciones iniciales. Para el inóculo, se utilizaron *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* originados a partir de la rutina de diagnósticos del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas (LDI), Departamento de Veterinaria Preventiva, UFPel, como bacterias relacionadas a la mastitis contagiosa de los bovinos. Las bacterias se multiplicaron en agar sangre 24 h antes de la realización del experimento, resuspendidas en salina estéril, ajustadas a la escala 2 de *MacFarland* y diluidas 50x en salina, a fin de obtener un inóculo entre 10^5 y 10^6 UFC/mL.

Para la realización de la actividad antibacteriana de los extractos, las 2 muestras bacterianas se sometieron al contacto con las 4 soluciones desinfectantes, durante 3 intervalos de tiempo diferentes, 30 s, 5 y 20 min. Después de cada tiempo deseado, se tomóuna muestra de 0,1 mL de cada tubo, la cual fue transferida a otro tubo que contenía 0,9 mL de solución neutralizante. Después de la homogeneización, 2 alícuotas de 0,1 mL se sembraron en placas de agar BHI, y se incubaron por 24 h a 37 ºC. Para el experimento con *S. agalactiae*, se utilizaron placas de agar BHI

adicionado de 5 % de plasma equino. Después se verificó la presencia o la ausencia de UFC, las cuales se contaron en contador con lupa. Todo el experimento se hizo en duplicado. La verificación de la esterilidad de los extractos se llevó a cabo a partir de alícuotas de 0,1 mL sembradas en placas de *Petry*, que contenían medio BHI e incubadas a 37 ºC por 24 h.

El resultado se expresó como índice de inhibición conforme publicado.[11] La comparación de los diferentes extractos de cada planta se realizó por análisis de variación y comparación entre medias utilizando la prueba de *Tukey* con 95 % de significación.

RESULTADOS

Todas las plantas testadas presentaron actividad frente a las 2 bacterias en estudio. En las figuras 1, 2, 3 y 4, están presentadas las curvas de inactivación de las 2 muestras testadas con los diferentes extractos. *Eucalyptus* spp. no mostró diferencia estadística en cuanto a la manera de preparar el extracto (p> 0,05). A pesar de eso, el extracto obtenido de las hojas frescas resultó el único capaz de inactivar del todo el *S. aureus* a los 5 min.

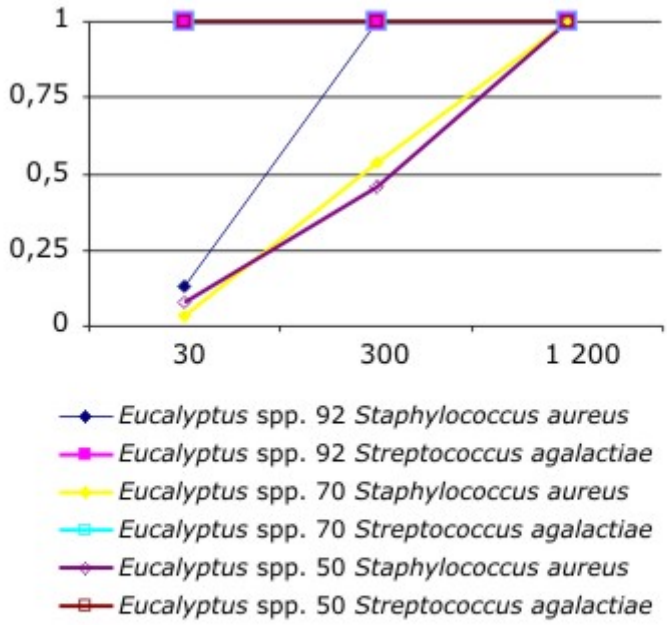

Fig. 1. Índice de inhibición de 3 extractos hidroalcohólicos de *Eucalyptus* spp. frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactia*.

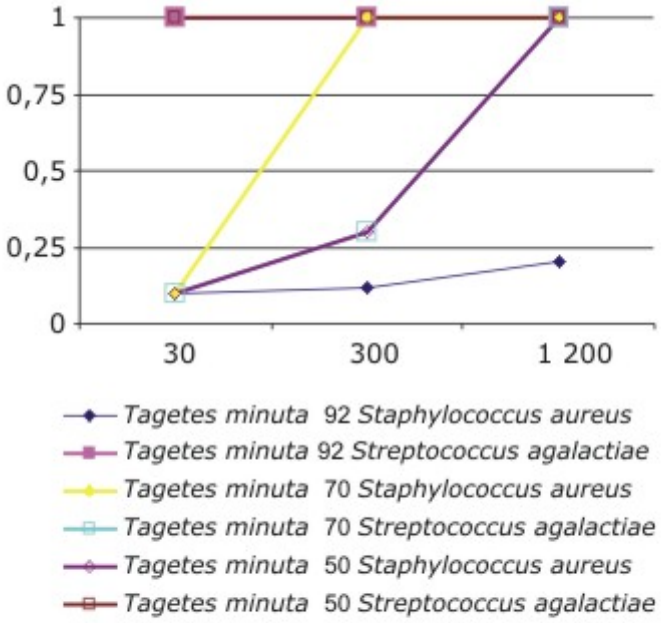

Fig. 2. Índice de inhibición de 3 extractos hidralcohólicos de *Tagetes minuta* frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactia.*

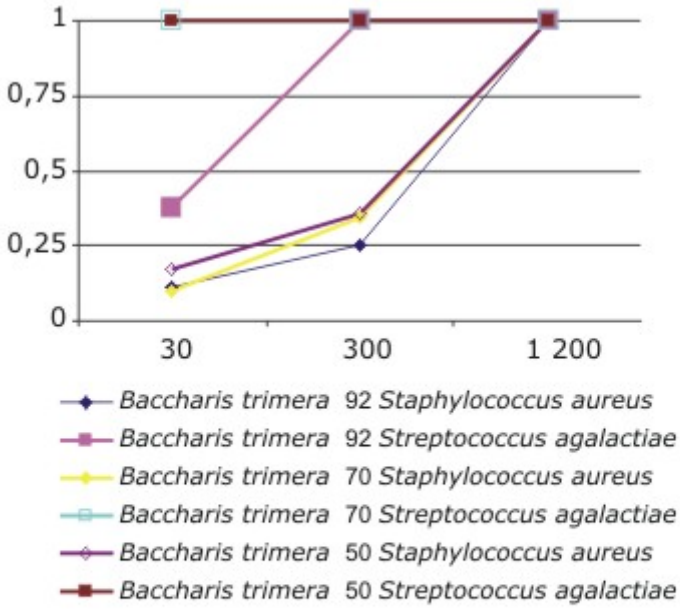

Fig. 3. Índice de inhibición de 3 extractos hidralcohólicos de *Baccharis trimera* frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactia.*

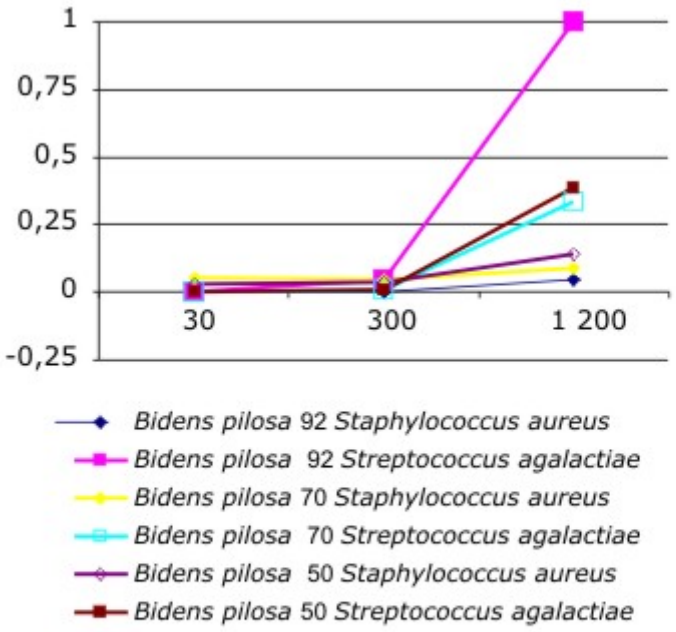

Fig. 4. Índice de inhibición de 3 extractos hidralcohólicos de *Bidens pilosa* frente a *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactia.*

Todos los extractos inactivaron *S. agalactiae* a los 30 s y *S. aureus* a los 20 min. En relación con la *T. minuta*, todos los extractos inactivaran el *S. agalactiae* en 30 s. Sin embargo, hubo diferencias significativas en el efecto sobre *S. aureus* a los 5 y a los 20 min ($p < 0,05$). El extracto de la hoja seca con alcohol 70° se presentó más eficiente que el extracto producido con alcohol 50° a los 5 min, y los 2 fueron mejores que el extracto de la hoja fresca en esos 2 tiempos ($p < 0,05$).

Para la tercera planta evaluada, *B. trimera*, no fueron encontradas diferencias significativas entre los diferentes extractos en ningún tiempo y para ninguna de las 2 bacterias. En los 30 s, solo el extracto de la hoja fresca no inactivó el *S. agalactiae*, mientras que los 3 extractos solo inactivaron el *S. aureus* en los 20 min. Todos los extractos de *B. pilosa* presentaran efecto débil y semejante sobre las 2 bacterias.

DISCUSIÓN

La actividad antibacteriana de los extractos de las plantas ha sido ampliamente demostrada. Los resultados aquí presentados confirman datos obtenidos utilizando esas mismas especies de plantas, juntadas en la misma región en años anteriores.[11] Pudieran ser constatadas diferencias en la actividad antibacteriana de los diferentes extractos de *T. minuta* y, aunque no estadísticamente significativa, del *Eucalyptus* spp.

En el primero caso, la planta seca fue más activa mientras en el segundo la planta fresca presentó mejor actividad. Es sabido que los principales constituyentes

antibacterianos del eucalipto son aceites volátiles que pueden perderse durante el proceso de secado, lo que explica el mejor efecto de la hoja verde.[13]

En cuanto a *T. minuta*, el resultado superior del extracto seco puede ocurrir por concentración de los componentes activos y(o) por metabolización en constituyentes más potentes durante el secado.

Esas informaciones son importantes para la utilización de estos extractos con fines antibacterianos y deben ser incorporadas enseguida al proceso de producción de los extractos para esas plantas.

Se concluye que el extracto de *T. minuta* producido a partir de las hojas secas con alcohol 70° y el extracto de *Eucalyptus* spp. producido a partir de hojas frescas, a pesar de no ser estadísticamente significativo, poseen mayor actividad antibacteriana que las otras maneras de extracción testadas en este trabajo. Para *B. trimera y B. pilosa* no se encontraron diferencias entre las maneras de extracción para la variable testada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Maciel MAM, Pinto AC, Veiga VF, Grynberg NF, Echevarria A. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. Química Nova. 2002;25(3):429-38.

2. Junior VFV. Estudo do consumo de plantas medicinais na Reagião Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profisionais de saúde e modo de uso pela população. Rev Brasileira Farmacol. 2008;18(2):308-13.

3. Morais SM, Dantas JDP, Silva, ARA, Magalhães, EF. Plantas medicinais usadas por índios Tapebas do Ceará. Rev Brasileira Farmacognosia. 2005;15(2):169-77.

4. Schuch LFD. Plantas medicinais em atenção primária veterinária: atividade antimicrobiana em frente a bactérias relacionadas com mastite bovina e dermatófitos [Tese de Doutorado]. PPG en Ciencias Veterinarias, UFRGS, Porto Alegre, Brasil; 2007. p. 256.

5. Matos FJ. Farmacias vivas: sistema de utilización de plantas medicinales proyectado para pequeñas comunidades. 3ª ed. Fortaleza (Brasil): Ed. EUFC; 1994. p. 180.

6. Wellenberg GJ, Van Der Poel WHM, Van Oirshot JT. Viral infections and bovine mastitis: a review. Vet Microbiol. 2002;88(1):27-45.

7. Degraves FJ, Fetrow J. Economics of mastitis and mastitis control. Vet Clin North Amer Food Anim Pract. 1993;9(3):421-34.

8. Hillerton JE, Berry EA. Treating mastitis cow a tradition or an archaism. J Applied Microbiol. 2005;98(6):1250-5.

9. Schuch LFD, Wiest J M, Coimbra HS, Prestes LS, De Toni L, Lemos JS. Cinética da atividade antibacteriana in vitro de extratos naturais em frente de microorganismos relacionados com a mastite bovina. Ciencia Animal Brasilera (UFG). 2008;9(1):161-9.

10. Schuch LFD, Wiest JM, Garcia EM, Coimbra HS, Prestes LS, Schramm RC, et al. Atividades antifúngicas de extratos de plantas utilizadas por agricultores familiares como antimicrobiano. Acta Sci Veterinariae. 2008;36(3):34-42.

11. Ming LC. Coleta de plantas medicinais. DI STASI, L.C. Plantas medicinais: Brasil: Artes Ciência; 1995. p. 69-86.

12. Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil. 2ª ed.São Paulo (Brasil): Ed. Atheneu; 1959. p. 610.

13. Takahashi T, Kokubo R, Sakaino M. Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculate*. Letters Applied Microbiol. 2004;39(1):60-4.

Recibido: 15 de noviembre de 2010.
Aprobado: 26 de mayo de 2011.

Fernanda Voigt Mota. Universidade Federal de Pelotas (UFPel). Campus Universitário s/n, Capão do Leão, RS. Brasil CEP 96010-900. Correo electrónico: bitoxu@ig.com.br