



EFECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS Y ACEITES ESENCIALES

—DE *Lepechinia meyenii* WALP (PUNA SALVIA) Y *Minthostachys andina* BRITT EPLING (MUÑA)
FRENTE A CEPAS DE *Escherichia coli* Y *Shiguelia flexneri*, CAUSANTES DE ENFERMEDADES
DIARREICAS AGUDAS—

Magaly Villena Tejada¹, Ingrid Vera Ferchau², Mariela Victoria Calderón Orihuela³ y José Luis Sierra Herrera⁴.

RESUMEN: El presente trabajo de investigación tiene como objetivo realizar el análisis comparativo del efecto antibacteriano que presentan los aceites esenciales de dos especies altoandinas *Lepechinia meyenii* WALP (Puna Salvia) Y *Minthostachys andina* BRITT EPLING (Muña) frente a cepas de *Escherichia coli* y *Shiguelia flexneri*. El método empleado para la determinación del efecto antibac-

teriano fue el método microbiológico de Bauer-Kirby y se utilizaron las cepas de *Escherichia coli* INS 86 y *Shiguelia flexneri* INS 6. En cuanto a los resultados, se tiene que los extractos secos etanólicos de *L. meyenii* Walp y *M. andina* (Britt) Epling presentaron efecto antibacteriano ya que los halos de inhibición fueron mayores a 9 mm mientras que comparativamente, los aceites esenciales de di-

1 Química Farmacéutica, Docente del Departamento Académico de Farmacia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

2 Química Farmacéutica, Docente del Departamento Académico de Farmacia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

3 Química Farmacéutica, Docente del Departamento Académico de Farmacia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

4 Biólogo.

chas especies no presentaron efecto antibacteriano frente a las mismas especies de bacterias, lo que indicaría que las sustancias activas presentes en los extractos son las responsables del efecto farmacológico estudiado.

PALABRAS CLAVE: antibacteriano, muña, salvia, extracto, aceite esencial.

ABSTRACT: This research was done with the objective of a comparative analysis of antibacterial activity of essential oils and the ethanol extracts of two Andean species, *Lepechinia meyenii* WALP (Puna Salvia) Y *Minthostachys andina* BRITT EPLING (Muña) against *Escherichia coli* and *Shiguelia flexneri*. The method used for determining the antibacterial effect was the microbiological method of Bauer-Kirby and the species of bacteria used were *Escheri-*

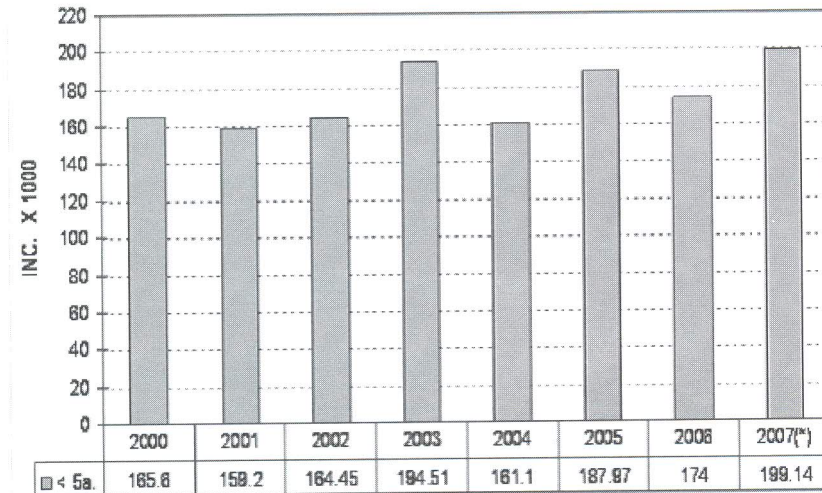
chia coli INS 86 and INS Shiguella flexneri 6. As a result of this investigation, dry ethanolic extracts of *L. meyenii* Walp and *M. Andean* (Britt) Epling presented antibacterial effect because the halos of inhibition were greater than 9 mm while comparatively, the essential oils of these species showed no antibacterial effect against the same bacterial species, suggesting that the active substances in extracts are responsible for the pharmacological effect studied.

KEYWORDS: antibacterial, muña, salvia, extract, essential oil.

Durante los últimos años las Enfermedades Diarreicas Agudas (EDAs) en la Región Cusco han tenido una tendencia de la incidencia de casos

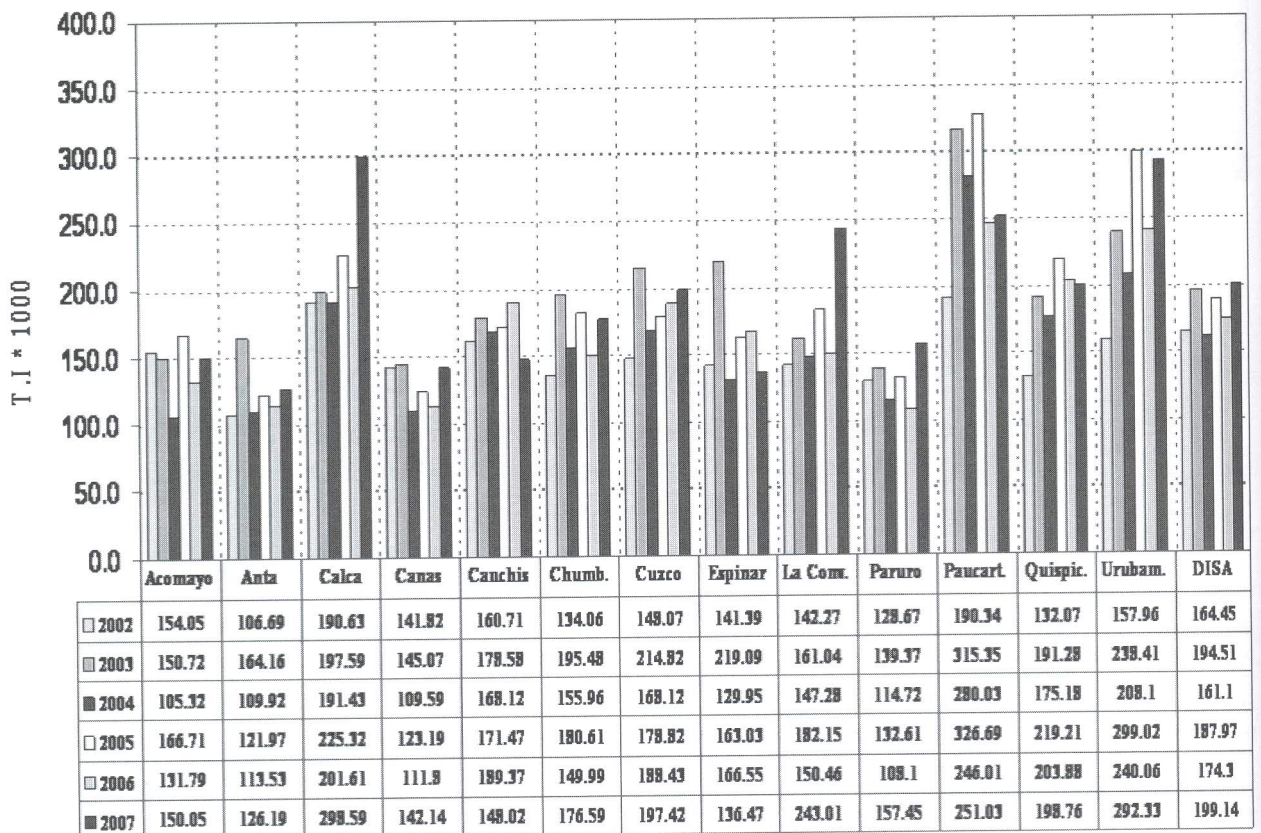
de 159×1000 menores de 5 años en el año 2001, 195×1000 el 2003, 161×1000 el 2004 y 199×1000 el 2007, todos los cuales son considerados todavía como incidencia de alto riesgo, lo que llama a preocupación es la estacionalidad de las tendencias; lo que en parte podría explicarse porque cada vez existe una mayor accesibilidad a los servicios de salud; sin embargo; es necesario tomar en cuenta que es probable, más bien, que las intervenciones del sector salud no tienen el impacto esperado.

Gráfico 1: Tasa de Incidencia de Diarrea Acuosa en Niños menores de 5 años, DIRESA Cusco, 2000-2007.



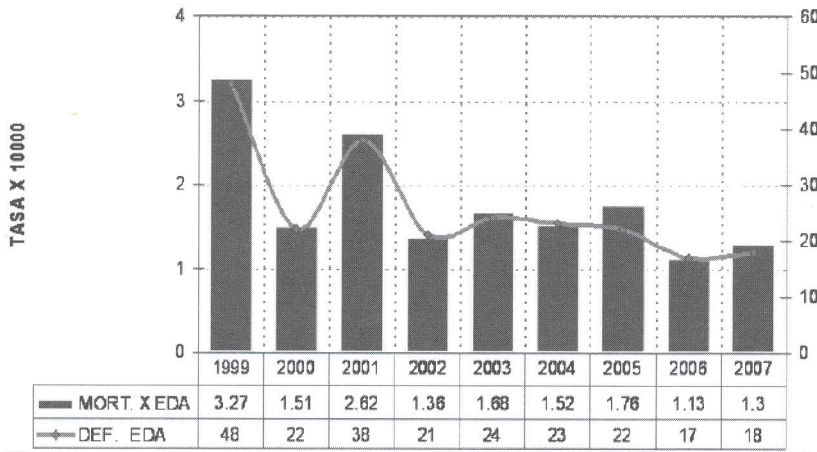
Fuente: DIRESA 2000-2007

Gráfico 2: Tasa de Incidencia de EDAS por provincias en menores de 5 años, DIRESA Cusco, 2002-2007.



Fuente: Dirección de Estadística e Informática, DIRESA Cusco.

Gráfico 3: Tasa de Mortalidad por EDAs en menores de 5 años, DIRESA Cusco, 1999-2007



Fuente: DIRESA CUSCO 1999-2007

De acuerdo a la información encontrada en el Análisis de la Situación de Salud (ASIS) Cusco 2008, la mortalidad por EDAs en menores de 5 años de edad, muestra en los últimos 5 años una tendencia estacionaria, a pesar de que el gobierno ha implementado y priorizado la atención de los niños por el seguro integral de salud (SIS), la atención gratuita y entrega de medicamentos para los pacientes que padecen esta enfermedad.

Uno de los factores que influye en la producción de enfermedades diarreicas agudas, es el sistema de agua y desagüe que, pese a los esfuerzos y la intervención de la Dirección de Salud ambiental y el proyecto Sambasur en saneamiento ambiental, solo un 75% (1200) del total de sistemas de agua se encuentran bajo vigilancia de la calidad del agua.

Se debe buscar estrategias para disminuir los casos de EDAs que son un problema de salud pública, relacionada con los problemas de desnutrición y calidad de agua lo que provoca una disminución de la calidad de vida del poblador andino. El uso de plantas medicinales con acción terapéutica comprobada, es otra forma de superar las barreras de cultura, la cual será fácil de insertar en su tratamiento, ya que es una costumbre arraigada

ancestralmente en las comunidades andinas.

Las provincias de mayor riesgo para EDAs en niños menores de 5 años durante el año 2007 fueron:

- Calca (incidencia de 299 × 1000)
- Urubamba (incidencia 292 × 1000)
- Paucartambo (incidencia 251 × 1000).
- La Convención (incidencia 243 × 1000)

Formulación del Problema

¿Presentan efecto antibacteriano los extractos y los aceites esenciales de *Lepechinia meyenii* Walp Puna Salvia y *Minthostachys andina* (Britt) Epling Muña efecto frente a cepas de *Echerichia coli* y *Shiguella fleneri* causantes de enfermedades diarreicas agudas EDAs?

Objetivos

Objetivo General

Realizar el estudio comparativo del efecto antibacteriano de los extractos y aceites esenciales de *Lepechinia meyenii* Walp (Puna Salvia) y *Minthostachys andina* Britt Epling (muña) frente a cepas de *Escherichia coli* y *Shiguella flexneri* causantes de enfermedades diarreicas agudas EDAs.

Objetivos Específicos

1. Determinar el efecto antibacteriano de los extractos secos etanólicos de *Lepechinia meyenii*



Walp (Puna Salvia) y *Minthostachys andina* (Britt) Epling (Muña) frente a cepas de *Escherichia coli* INS 086 y *Shigella flexneri* INS 6.

2. Determinar el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Lepechinia meyenii* Walp (Puna Salvia) y *Minthostachys andina* (Britt) Epling (Muña) frente a cepas de *Escherichia coli* INS 086 y *Shigella flexneri* INS 6.

3. Comparar el efecto antibacteriano de los extractos secos etanólicos de *Lepechinia meyenii* Walp Puna Salvia y *Minthostachys andina* (Britt) Epling Muña frente a cepas de *Escherichia coli* INS 086 y *Shigella flexneri* INS 6 y con el medicamento patrón.

4. Comparar el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Lepechinia meyenii* Walp Puna Salvia y *Minthostachys andina* (Britt) Epling Muña frente a cepas de *Escherichia coli* INS 086 y *Shigella flexneri* INS 6 y con el medicamento patrón.

Hipótesis

Los extractos secos etanólicos y los aceites esenciales de *Lepechinia meyenii* Walp Puna Salvia y *Minthostachys andina* Britt Epling Muña, presentan efecto antibacteriano frente a cepas de *Escherichia coli* INS 086 y *Shigella flexneri* INS 6 causantes de Enfermedades Diarreicas Agudas EDA's.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

- Aceites Esenciales. Son mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por las plantas, que dan el aroma característico a algunas flores, árboles, frutos, hierbas, especias, semillas y a ciertos extractos de origen animal. Se trata de productos químicos intensamente aromáticos, no grasos (por lo que no se enrancian), volátiles por naturaleza y livianos.
- Antibacteriano. Llamado también antibiótico, es una sustancia química producida por un ser vivo o derivado sintético de ella que mata o impide el crecimiento de ciertas clases de microorganismos sensibles, generalmente bacterias. Los antibióticos se utilizan en medicina humana, animal u horticultura para tratar infecciones provocadas por gérmenes.
- Extracto. Sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua.
- *Minthostachys andina* (Britt.) Epling (Muña). Es un arbusto silvestre, perteneciente a la familia *Lamiaceae*. Se distribuye en vertientes occidentales del noroeste del Perú. Se utiliza medicinalmente como antiflatulento y carminativo.
- *Lepechinia meyenii* Walp (Puna salvia). Hierba silvestre de la familia *Lamiaceae*, que crece en la sierra peruana sobre los 2,500 m.s.n.m. Medicinalmente se emplea para la flatulencia en infusión.



Foto 1: *Minthostachys andina* (Britt.) Epling. Muña.



Foto 2: *Lepechinia meyenii* Walp (Puna salvia).

METODOLOGÍA

La presente investigación constituye un estudio cuasi experimental y correlacional, ya que tiene como propósito medir el grado de relación entre los extractos y aceites esenciales y el efecto antibacteriano.

PROCEDIMIENTO

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS SECOS.

Las muestras recolectadas se pusieron a secar en mesas cubiertas con papel blanco, los que eran reemplazados por lo menos una vez al día para evitar que la humedad malograra la muestra. Las mesas estaban ubicadas en ambientes techados de modo que el secado fuera a la sombra por un período aproximado de 15 días.

Molienda y conservación

Para la molienda se utilizó un molino de granos el cual redujo la muestra a un polvo fino y tamizado con malla 40. Este polvo fue colocado en recipientes de vidrio de boca ancha de color ámbar con tapa para su conservación.

Obtención de los extractos

Se utilizó 200 gramos de muestra seca pulverizada, la misma que se sometió a maceración en frío con agitación con etanol al 70%, filtrándose cada cinco días utilizando algodón. El filtrado fue concentrado a sequedad utilizando un Baño Isotérmico a 37 °C, para luego calcular el porcentaje de extracción.

DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO

Método de Difusión Kirby–Bauer

Fundamento

El crecimiento exponencial de bacterias en el medio de cultivo adecuado es inhibido por las moléculas bioactivas que difunden del papel al agar. Este procedimiento se basa en el descrito por Bauer - Kirby en Cáceres (1996) y es usado para evaluar la actividad antibacteriana vegetal.

Material Biológico

Cepas de *Escherichia coli* INS y Cepas de *Shigella flexneri* ATCC.

Procedimiento

- Impregnar discos de papel secante de 6 mm. de diámetro y 0.6 mm. de grosor.
- Para la CMI aplicar 40, 30, 20 y 10 µl y secar.
- Preparar placas petri con Agar Müller Hinton.
- Estandarizar un cultivo de 24 horas en caldo tripti-casa soya. CTS
- Inocular 25 µL del cultivo del microorganismo masivamente en la superficie de las placas con Agar Müller Hinton.
- Dejar reposar de 3 a 5 minutos.
- Aplicar los discos impregnados en quintuplicado.
- Incubar a 35 °C por 24 horas y medir los halos de inhibición en milímetros.

Interpretación

La actividad esta determinada por el diámetro del halo de inhibición:

- Halo de 6 mm. de diámetro es negativo
- Halo de 6 – 9 mm. de diámetro es intermedio
- Halo mayor a 9 mm. de diámetro es positivo

Este método nos permite comparar estadísticamente con discos impregnados con un disolvente (control negativo) o con un antibiótico de referencia (Furazolidona - control positivo).

RESULTADOS

DE LA DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL

Minthostachys andina (Britt) Epling y Lepechinia meyenii Walp

Cuadro N° 1. RESULTADOS DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys andina* (Britt) Epling

Aceite Esencial de Muña

mg/ml	PPM	E. coli	Shiguela flexneri
1	5	0	0
2	10	0	0
4	20	0	0
10	50	0	0
20	100	0	0
40	200	0	0
80	400	0	0
160	800	0	0
1000	100%	0	0

Fuente: Datos experimentales 2011

Cuadro N° 2. RESULTADOS DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Lepechinia meyenii* Walp

Aceite Esencial de Salvia

mg/ml	PPM	E.coli	Shiguela flexneri
1	5	0	0
2	10	0	0
4	20	0	0
10	50	0	0
20	100	0	0
40	200	0	0
80	400	0	0
160	800	0	0
1000	100%	0	0

DE LA DETERMINACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% de *Minthostachys andina* (Britt) Epling y *Lepechinia meyenii* Walp

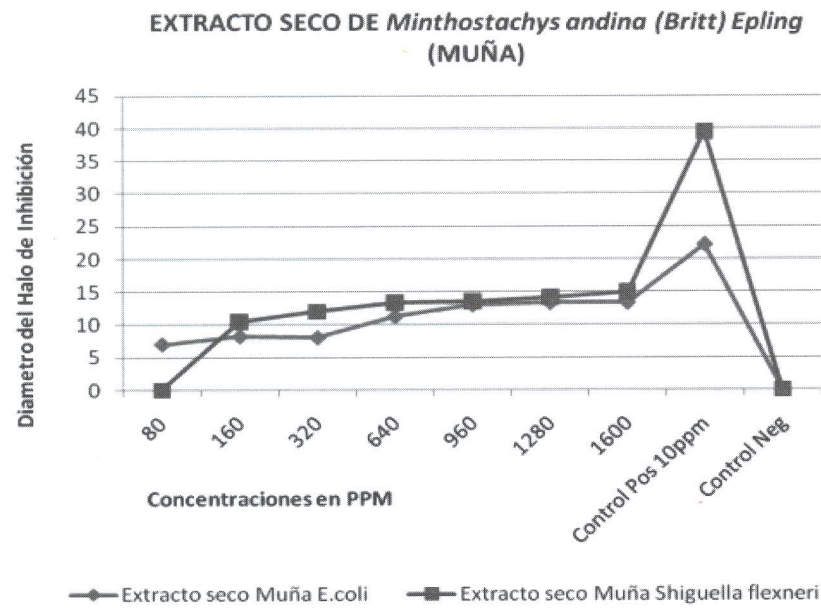
Cuadro N° 3. RESULTADOS DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHOLICO AL 70% DE *Minthostachys andina* (Britt) Epling

Extracto seco Muña

mg/ml	PPM	E.coli	Shiguela flexneri
16	80	7.0	0.0
32	160	8.2	10.5
64	320	8.0	12.0
128	640	11.2	13.3
192	960	13.0	13.5
256	1280	13.3	14.16
320	1600	13.3	14.9
4	Control Positivo 10 ppm	22.2	39.4
0	Control Negativo	0	0

Fuente: Datos experimentales 2011

Gráfico N° 1. Resultados del efecto antibacteriano del extracto seco hidroalcohólico al 70% DE *Minthostachys andina* (Britt) Epling



Fuente: Datos experimentales 2011

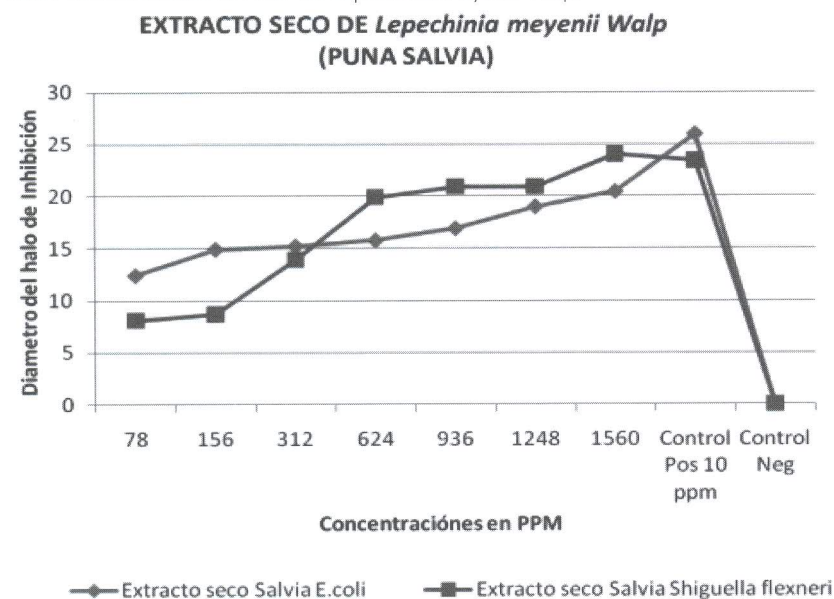
Cuadro N° 4. Resultados del efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico al 70% seco de *Lepechinia meyenii* Walp.

Extracto seco Puna Salvia

mg/ml	PPM	E.coli	Shiguelia flexneri
15.6	78	12.4	8.1
31.2	156	14.9	8.7
64.4	312	15.2	13.9
124.8	624	15.75	19.9
187.2	936	16.9	20.9
249.6	1248	18.99	20.9
312	1560	20.44	24
4	Control Positivo 10 ppm	26	23.4
0	Control Negativo	0	0

Fuente: Datos experimentales 2011

Gráfico N° 2. Resultados del efecto antibacteriano del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Lepechinia meyenii* Walp.



Fuente: Datos experimentales 2011

Resultados y Discusión del efecto Antibacteriano

Como se puede observar en los cuadros N° 1 y 2, los aceites esenciales de *Minthostachys andina* (Britt) Epling y *Lepechinia meyenii* Walp, en las diferentes concentraciones probadas no presentaron ninguna actividad inhibitoria frente al crecimiento de *Escherichia coli* INS 086 y a *Shiguelia flexneri* INS 06, lo que indica la alta resistencia de esta línea de microorganismos, puesto que como es mencionado por Gutierrez, M. et al 2006 y Antonio Brack (1999), que *Escherichia coli* y *Shiguelia dysenteriae* son susceptibles al aceite de *Mintostachys*; pero, en Alzamora et al. 2001, en su investigación sobre la "Actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas" (Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos) reportan que el aceite esencial de *L. meyenii* no presenta actividad antibacteriana frente a *S. flexneri*. Aquí podemos indicar que la diferencia de cepas o líneas de microorganismos agregan caracteres especiales como es el caso de su resistencia a los aceites esenciales.

Sin embargo, para el cuadro N° 3, sobre la pruebas efectuadas con los extractos hidroalcohólicos secos, podemos observar que el extracto seco de *Minthostachys andina* (Britt) Epling (muña) presenta una actividad positiva frente a *Escherichia coli* INS 86 y *Shiguelia flexneri* INS 6, así mismo, el extracto seco de *Lepechinia meyenii* Walp (Puna salvia) presentó mayor actividad inhibitoria frente a estos microorganismos (cuadro N° 4). Como podemos observar en los cuadros y adicionalmente en los gráficos, que a una concentración inhibitoria mínima CIM para el extracto seco de *M. andina* es de 80 ppm para *E. coli* y de 160 ppm para *S. flexneri* en el caso de *L. meyenii* el CIM frente a *E. coli* y *S. flexneri* fue de 78 ppm. Concentraciones mayores a 1000 ppm en el caso de *L. meyenii* son semejantes a la actividad presentada por la Furazolidona.

La actividad antimicrobiana que presentan los extractos secos totales, reportada por antecedentes, Bravo et al 2004, donde los flavonoles dihidroxilados en el anillo B y glicosilados en posición C7, son similares a los detectados en *L. meyenii*.

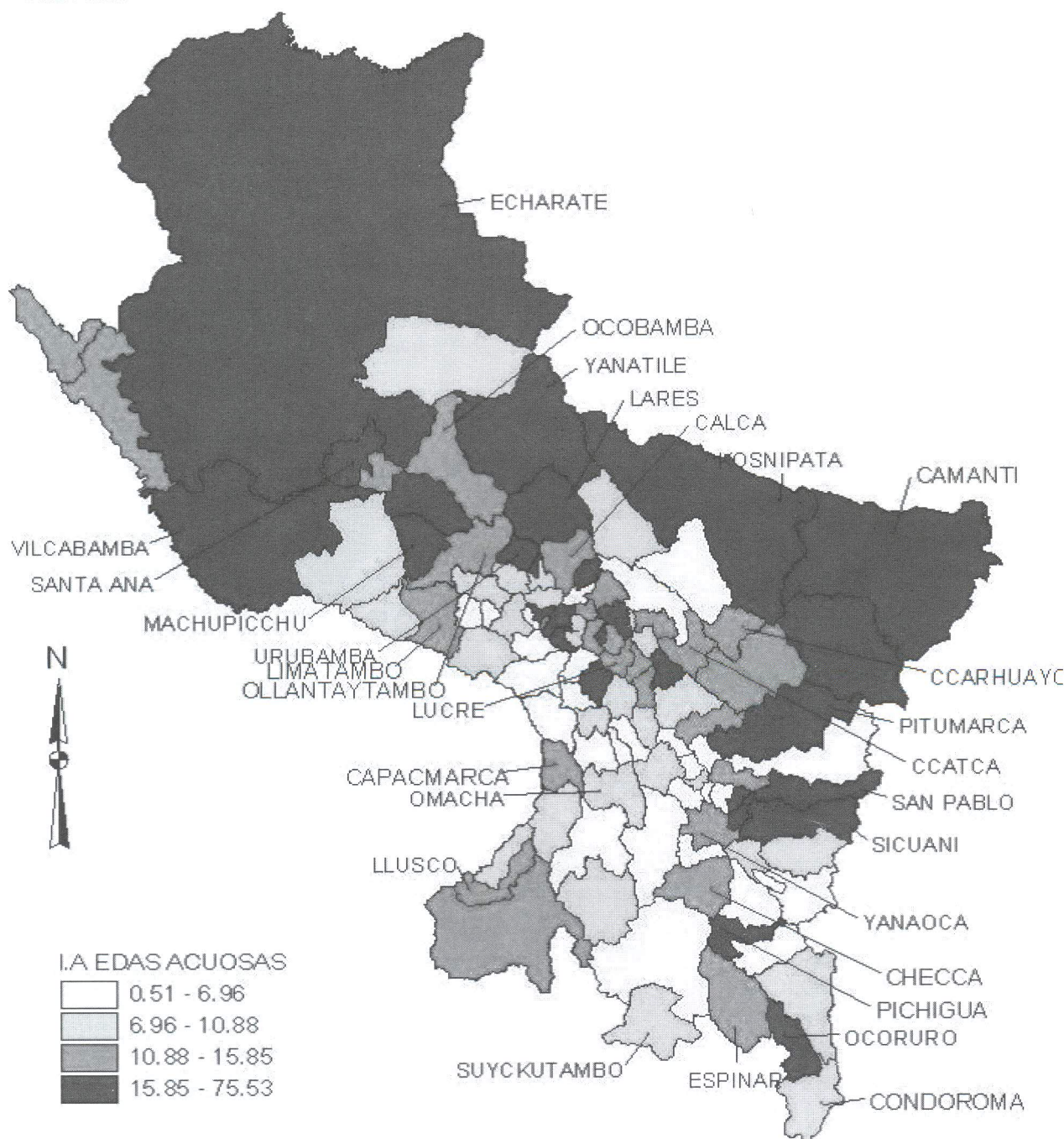
Para todas las concentraciones, tanto de *M. andina* y *L. meyenii* ninguna logró superar la alta sensibilidad que presentan los microorganismos en estudio frente al control positivo de Furazolidona, en una concentración de 10 ppm,

CONCLUSIONES

- Las especies *Lepechinia meyenii* Walp (Puna Salvia) y *Minthostachys andina* Britt Epling (Muña) presentan efecto antibacteriano frente a cepas de *Escherichia coli* INS 086 y *Shigella flexneri* INS 6.
- Los extractos secos etanólicos de *L. meyenii* Walp y *M. andina* (Britt) Epling presentaron efecto antibacteriano positivo por la presencia de halos de inhibición mayores a 9 mm.
- Los aceites esenciales de *L. meye-*

- nii Walp y *M. andina* (Britt) Epling no presentaron efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* INS 086 y *Shigella flexneri* INS 6.
- Las dosis efectivas de los extractos secos etanólicos de *Lepechinia meyenii* Walp (Puna Salvia) y *Minthostachys andina* Britt Epling (Muña) frente a cepas de *Escherichia coli* INS 086 y *Shigella flexneri* INS 6 son 156 a 160 veces menos efectivas en comparación con el fármaco patrón Furazolidona.

—Mapa 1: Riesgo Distrital según Tasa de Incidencia de EDAs acuosas x 1000 en menores de 5 años, Región Cusco, 2007. Fuente: VEA- Dirección de Epidemiología, DIRESA Cusco.



REFERENCIAS

- Alzamora, L. et al 2001 Actividad Antimicrobiana In Vitro de los Aceites Esenciales extraídos de algunas Plantas Aromáticas. Anales de la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Marcos 2001. Lima
- Brack, Antonio (1999) Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú. PNUD. CBC Centro de Estudios Regionales Andinos "Bartolomé de las Casas". Cusco.
- Bravo, M.O.; Hernández, N.E. et al 2004 *Minthostachys Mollis* Griseb. y *Lepechinia Meyenii* (Walp.) Epling. Actividad Antimicrobiana de sus Extractos. Determinaciones Preliminares de sus Flavonoides Mayoritarios. Revista del CIZAS Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Catamarca. Maestro Quiroga. Argentina
- Cáceres, Armando (1996) Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. 1ra. Edición. Editorial Universitaria. Guatemala.
- Cassinelli del Sante, Gino (1999) Árboles y arbustos del Valle Sagrado de los Incas. Rumbos S.A. Editores & Consultores. Cusco. Pág. 82 y ss.
- Castner J.L., Timme S.L. (1998) A Field Guide to Medicinal and Useful Plants of the Upper Amazon. Feline Press, Inc. U.S.A. Pág. 114
- CIPI - Centro de Investigación de la Producción Industrial (1994) Catálogo de Plantas Medicinales. Universidad de Lima. Facultad de Ingeniería Industrial. Lima.
- Claus, E. (1980) Farmacognosia. Editorial El Ateneo. Buenos Aires, Argentina.
- Duke, James y Vásquez, Rodolfo (1994) Amazonian Ethnobotanical Dictionary. CRC Press, Inc. U.S.A. Pág. 158 y ss.
- Font Quer, P. (1982) Diccionario de Botánica.
- Harrison, Jack (1984) Farmacognosia. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Litter, Manuel (1988) Compendio de Farmacología. 4ta. Edición. Editorial El Ateneo, Buenos Aires, Argentina.
- Schauenberg Paul, Paris Ferdinand (1987) Guide des Plantes médicinales. Delachaux & Niestlé. 3ra. Edición. París, Francia. Pág. 49 y ss.
- Trease-Evans (1991) Farmacognosia. 13a. Edición. Editorial Interamericana. México.
- White, Alan (1982) Hierbas del Ecuador. 2da. Edición. Ediciones Libri Mundi. Quito, Ecuador. Pág. 256.

Mapa 2: Riesgo Distrital según Tasa de Incidencia de EDAs disintéricas x 1000 en menores de 5 años, Región Cusco, 2007 Fuente: VEA- Dirección de Epidemiología, DIRESA Cusco.

