

Efecto antibacteriano de extractos de *Prunus salicifolia* (Capulli) y *Vaccinium floribundum* (Mortiño) sobre cepas de *Streptococcus Mutans*: Estudio *in vitro*

"Antibacterial effect of extracts of *Prunus salicifolia* (Capulli) and *Vaccinium floribundum* (Mortiño) on strains of *Streptococcus Mutans*: *In vitro* study

Ivonne Yesenia Reyes^{1a}, Víctor Alexander Cruz^{2a}, Marlon Reinaldo Castro^{3b}, Stalin Gustavo Santacruz^{3c}, Clara Elena Villacres^{3d} Ana Del Carmen Armas^{2,4ad}

RESUMEN

Objetivos: Valorar los halos de inhibición del efecto de extracto de la cáscara y pulpa de *Prunus salicifolia* (Capulli) y *Vaccinium floribundum* (Mortiño) sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 35668 vs. gluconato de clorhexidina al 0.12%. **Material y método:** En cajas Petri sembradas con cultivo de cepas de *Streptococcus mutans*, se colocaron 20 discos de fieltro impregnados con *Prunus salicifolia*, *V. floribundum* y gluconato de clorhexidina, la evaluación del efecto inhibitorio se realizó a las 24 y 48 horas de incubación. Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA y prueba de Kruskal Wallis. **Resultados:** No se encontró una diferencia estadísticamente significativa del efecto antibacteriano a las 24 y 48 horas entre el tipo de fruta –capulí y mortiño (cáscara y pulpa) y el gluconato de clorhexidina al 0.12% ($p > 0.05$) **Conclusiones:** Los extractos de *Prunus salicifolia* (Capulli) y *Vaccinium floribundum* (Mortiño) obtenidos tanto de pulpa como de cáscara tienen un efecto antibacteriano *in vitro*, a las 24 y 48 horas, sobre cepas de *Streptococcus mutans*, similar al de la clorhexidina al 0.12% empleada como control.

Palabras claves: *Prunus salicifolia*, *Vaccinium floribundum*, clorhexidina, antibacterianos, bacterias, caries dental. (Fuente: DeCS BIREME)

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the halos of inhibition of the effect of extract of the skin and pulp of *Prunus salicifolia* (Capulli) and *Vaccinium floribundum* (Mortiño) on strains of *Streptococcus mutans* ATCC 35668 vs. Chlorhexidine gluconate 0.12%. **Material and method:** In Petri dishes seeded with strains of *Streptococcus mutans*, 20 felt disks impregnated with *Prunus salicifolia*, *V. floribundum* and chlorhexidine gluconate were placed, the evaluation of the inhibitory effect was carried out at 24 and 48 hours of incubation. The data obtained were analyzed by ANOVA and Kruskal Wallis test. **Results:** No statistically significant difference was found in the antibacterial effect at 24 and 48 hours between the type of fruit -c apulí and mortiño-, the anatomical part -shell and pulp- and chlorhexidine gluconate ($p > 0.05$) **Conclusions:** The extracts of *Prunus salicifolia* (Capulli) and *Vaccinium floribundum* (Mortiño) obtained both from pulp and skin have an antibacterial effect *in vitro*, at 24 and 48 hours, on strains of *Streptococcus mutans*, similar to that of chlorhexidine at 0.12% used as a control.

Keywords: *Prunus salicifolia*, *V. floribundum*, Chlorhexidine, Anti-bacteria-Agents, bacterias, dental caries. (Source: MeSH NLM)

Recibido: 23 de abril de 2018

Aprobado: 12 de agosto de 2018

Publicado: 31 de enero de 2019

¹ Universidad Central del Ecuador

² Universidad Tecnológica Equinoccial

³ Universidad Laica Eloy Alfaro

⁴ Universidad Central del Ecuador

Este es un artículo Open Access distribuido bajo la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-Compartir Igual 4.0

^a Odontólogo ^b Técnico Investigador en Ciencias de Alimentos ^c Docente Investigador ^d Maestría en Ciencias ^d PhD



Correspondencia:

Víctor Alexander Cruz

Teléfono: 593 0983221193

Correo electrónico: alexandercruz1993@hotmail.com

Citar como: Yesenia Reyes, Alexander Cruz V, Reinaldo Castro M, Gustavo Santacruz S, Elena Villacres c, Ana Armas. Efecto Antibacteriano de Extractos de *Prunus Salicifolia* (Capulli) y *Vaccinium Floribundum* (Mortiño) Sobre Cepas de *Streptococcus Mutans*: Estudio *in vitro*. KIRU. 2019; ene-mar; 16(1): 14 -18. https://doi.org/10.24265/kiru.2019.v16n1.02

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas en cavidad bucal –como la caries dental, la periodontitis, entre otras– son producidos por un sin número de bacterias.¹ Se define a la caries dental, como un desarrollo patológico localizado que desencadena el reblandecimiento del tejido duro dental de forma irreversible,² asociado al desequilibrio del metabolismo bacteriano³,², desencadenado por una amplia gama de carbohidratos presentes en la dieta de los seres humanos. Las bacterias, entre ellos los *Streptococcus mutans* degradan la sacarosa formada por dos monosacáridos simples en fructosa y glucosa, convirtiéndolas en ácido láctico y etanol acidificando la boca,⁴ lo que propicia un medio ambiente adecuado para la presencia de otras especies de bacterias acidúricas^{5,6,7}.

En la superficie de los dientes se produce la adherencia del biofilm en el cual se encuentran los *Streptococcus mutans*, los altos grados de infección por *Streptococcus mutans* (>10⁵ mL/saliva), significan elevado riesgo de caries y de transmisión del microorganismo.⁵

Entre las alternativas para control de la adhesión se han estudiado productos derivados de los frutos rojos, se ha observado que estos funcionan como agentes antiadhesivos que inhiben la formación de placa bacteriana y además puedan ser usados como terapia antibacteriana alternativa.⁶

Entre las plantas estudiadas por la fitoterapia se encuentran los frutos rojos,^{8,9} entre ellos el *Vaccinium floribundum* –mortiño o arándano o agraz – el cual se sabe que contiene una gran cantidad de compuestos fenólicos con efectos antioxidantes, antimicrobianos y anti adhesivos.^{9,10} que ayudan a la prevención de infecciones por sus propiedades antibióticas y antisépticas que impiden a las bacterias fijarse en la cavidad bucal por un mecanismo de antiadhesión, e inhiben la propagación de bacterias en cavidad bucal.^{10,11,12,13}

El *Vaccinium floribundum*, pertenece a la familia Ericaceae, es una fruta nativa llamada también uva de monte que se encuentra ubicada en los páramos ecuatorianos, sus propiedades alimenticias se encuentran asociados a la presencia minerales, vitaminas de complejo A, B, C, antioxidantes relacionados con la presencia de antocianinas como cianidina y delfinidina, también metabolitos secundarios con efectos antiproliferativos y cardioprotectores,¹¹ cantidades importante de azúcar, fósforo y calcio lo que le da una gran ventaja al producto no refrigerado al no presentar cambios en su volumen y peso, ni alteraciones en sus características nutricionales, organolépticas, lo que le convierte en un fruto ideal en industrias, campo médico y culinario¹². Su color negro se asocia al alta

concentración de antocianidinas como polifenoles con las con presencia de ácido gálico y sus ésteres así como de proantocianidinas derivadas del ácido clorogénico e hidroxicinámico con una capacidad antioxidantes de 1200 mg/100g.¹²

El *Prunus serotina* var. *capuli* (Cav.) McVaugh –capulí o capulín blanco, pertenece a la familia de las Rosáceas; originario de América, no obstante, alta producción de la especie desarrollada en las tierras altas de Ecuador, es de mayor tamaño y de mejor calidad en su color, El capulí es un fruto de forma esférica con cáscara color rojo oscuro de textura firme, de entre 1.5 y 2 cm de diámetro, de sabor agridulce, y su pulpa es de color verde pálido, es utilizado como alimento en la creación de bebidas, helados.¹⁴

El capulín contiene una gran cantidad de compuestos fenólicos, entre estos se encuentran los flavonoides y los taninos; la fruta contiene antocianinas como el cianuro-3-glucósido y cianuro-3-rutinósido, hay estudios que demuestran que liberan de oxígeno reactivo fisiológicamente relevante y otros radicales con gran capacidad antioxidante relacionada con la actividad antibacteriana y antioxidante relacionada con la inflamación respiratoria o gastrointestinal.¹

En este contexto, el propósito de esta investigación fue evaluar el efecto antibacteriano de los extractos de los frutos rojos *Prunus Salicifolia* (Capulli) y *Vaccinium Floribundum* (Mortiño) ejercen sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 35668 a través de la medición de halos de inhibición.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental in vitro, para evaluar los efectos antibacterianos del extractos de *Prunus Salicifolia*, *Vaccinium Floribundum* y gluconato de clorhexidina al 0.12% como control sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 35668, incubadas durante 24 y 48 horas

Los frutos *P. salicifolia* y *V. Floribundum*, se obtuvieron del súper-mercado debido a que, estos manejan los estándares de calidad, tomando en cuenta el periodo de temporada del capulli y el mortiño.

Previo al análisis experimental se rehidrataron las cepas liofilizadas en caldo Brain Heart Infusion BHI Broth C5141 Criterion, y se incubaron a 37°C, por 48 horas en microaerofilia para su propagación.

Se replicó 2 veces cada cepa en una placa de agar sangre base; por cada cepa se preparó una suspensión bacteriana al 0.5 Mc Farland. Para medir si las cepas se reprodujeron en el tiempo programado, se realizaron lecturas de absorbancia a 625nm de longitud de onda a 24 y 48 horas de incubación. La medida de absorbancia

obtenida fue directamente proporcional a la concentración de los microorganismos presentes.

Para poder correlacionar la medida de absorbancia con la concentración de microorganismos se utilizó un patrón 0.5 Mac Farland que incorporó una concentración de microorganismos de 1.5×10^8 UFC. En las lecturas, se insertó un pozo blanco con caldo BHI virgen, esa lectura se restó a las lecturas realizadas para eliminar la absorbancia procedente del caldo BHI.

Para la preparación de los extractos, se pesaron 30 gr. de cada una de muestras, esto es, pulpa y cascara de *P. Salicifolia*, pulpa y cascara de *V. Floribundum* a continuación, cada muestra fue mezclada con 5 ml. de agua destilada para obtener una pasta homogénea. Posteriormente se procedió a triturar la muestra en un mortero hasta conseguir extraer el líquido.

Para evaluar la sensibilidad de *S. mutans* se colocó 1 mL de inóculo en cajas petri con agar sangre base, posteriormente para evaluar la actividad antibacteriana de los tratamientos se aplicaron los extractos de la cascara y pulpa del capulli y el mortío. El extracto se aplicó directamente en los discos de inhibición de acuerdo al método de difusión en agar acorde a la técnica estandarizada por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

A continuación, se colocó el líquido en tubos de 15 mL y se procedió a centrifugar (Sigma 2 -16p) por 5 min. a 4000 rpm. El sobrenadante –aproximadamente 20 μ L de

cada solución– se utilizó para impregnar los discos de papel filtro (Fisrh Scientific Q2) de 5 mm. de diámetro.

En seguida, se colocaron 3 discos equidistantes en placas con el medio inoculado con *S. mutans*; de forma complementaria el análisis de la capacidad inhibidora de la clorhexidina fue realizado, considerando que es una sustancia de probado poder antibacteriano por lo que fue considerado como un grupo control positivo, se empleó la solución de gluconato de clorhexidina al 0.12%. Las placas inoculadas se incubaron a una temperatura de 37°C durante 2 días. Se midió el halo de inhibición del crecimiento bacteriano con una regla calibrada en mm. a las 24 y 48 horas.

La actividad antimicrobiana fue evaluada en 15 repeticiones de tal forma que cada estrato fue evaluado en 15 cajas petri que contenían cepas de *S. mutans* ATCC 35668 (MEDIBAC, Ecuador).

RESULTADOS

La capacidad inhibitoria del *Prunus Salicifolia* (Capulli), el *Vaccinium Floribundum* (Mortío) y de la clorhexidina como control positivo, se observó por la extensión del halo de inhibición, entendiéndose que, mientras más extendido el halo existe mayor efecto de la sustancia sobre la bacteria presenta.

En la tabla 1 se presenta el promedio de los halos de cada una de las sustancias analizadas a las 24 horas y en el cuadro 2 los valores obtenidos a las 48 horas.

Tabla 1. Evaluación in vitro de la acción antibacteriana de los extractos *Prunus Salicifolia*, *Vaccinium Floribundum* y gluconato de clorhexidina frente *Streptococcus mutans* ATCC 35668

Sustancia	Media	SD	Mediana	Mínimo	Máxima
Mortío pulpa	9.3	2.5		6.3	15.0
Mortío cascara	13.7	3.5		8.0	21.3
Capulí pulpa	15	2.4		0.0	11,7
Capulí cascara	15	4.2		0.0	15.7
Clorhexidina	15	0.9		10.7	13.3
Total	15	13.5		0	11,7

De la Prueba de Kruskal-Wallis el valor de significación de la prueba (Sig. asintótica = 0,000) es menor a 0,05 (95% de confiabilidad).

Tabla 2. Evaluación in vitro de la acción antibacteriana de los extractos *Prunus Salicifolia*, *Vaccinium Floribundum* y gluconato de clorhexidina frente *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Halo a las 48 horas, n = 15.

Sustancia	Media	SD	Mediana	Mínimo	Máxima
Mortiño pulpa	15	2,57		8,3	17.3
Mortiño cascara	15	3.2		11,7	25.3
Capulí pulpa	15	2.9		0.0	12.7
Capulí cascara	15	4.6		0.0	18.0
Clorhexidina	15	11.6		13.7	59.3
Total	15	6,29		8.3	0.0

De la Prueba de Kruskal-Wallis el valor de significación de la prueba (Sig. asintótica = 0,000) es menor a 0,05 (95% de confiabilidad),

DISCUSIÓN

Tanto el *Prunus Salicifolia* como el *Vaccinium Floribundum*, obtuvieron valores de inhibición sobre el crecimiento de cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 35668, semejantes al gluconato de clorhexidina al 0.12%, a las 24 y 48 horas, coincidiendo con estudios previos que refieren que los frutos rojos empleados por su capacidad antioxidante ¹⁵ y antimicrobiano ¹, lo que ha llevado a pensar en su capacidad de actuar sobre cepas de microorganismos que producen enfermedades a nivel bucal como caries dental.

Estudios realizados sobre los compuestos fenólicos en frutas ecuatorianas sobre su acción antimicrobiana, los resultados no mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre el *Vaccinium floribundum*, el *Prunus salicifolia* y la clorhexidina, lo que sugiere que se deben realizar más estudios que permitan identificar cuáles son los compuestos fenólicos responsables de la actividad antimicrobiana. ^{16, 15}

La literatura reporta que los frutos rojos tienen una elevada capacidad antimicrobiana ¹¹, lo que fue reportado también en este estudio, sin embargo es importante evaluar a lo largo del tiempo las consecuencias de su empleo. Un hecho que merece resaltarse es que la clorhexidina al 2% empleada como control, fue usada al 0,12% tras diluirla en agua destilada, acción que fue ejecutada buscando simular lo que ocurre en la boca al mezclar con agua durante su empleo. Acción semejante fue seguida con mortiño y capulí, extractos de los frutos fueron diluidos en agua al

25%. Es recomendable realizar otras investigaciones con diferentes diluciones para determinar su efecto según la concentración.

Los resultados nos llevan a concluir que los extractos de *Prunus Salicifolia* como de *Vaccinium Floribundum*, analizados, tanto de pulpa como de la cáscara, tienen efecto antibacteriano *in vitro* sobre cepas de *S. mutans*, a las 24 y 48 horas.

Si bien los resultados muestran una acción positiva de las sustancias evaluadas, el estudio fue *in vitro*, por tanto, estudios aplicados en seres humanos requieren ser desarrollados.

Contribuciones de autoría: IYR, VAC, MRC, SGS, CEV y AA diseñaron el estudio, recopilaron, analizaron los datos. Redactaron y aprobaron el artículo todos los autores.

Fuente de financiamiento: El estudio fue financiado por los autores.

Conflicto de intereses: Los autores declararon no tener conflictos de interés.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Jimenez M, Castillo I, Azuara E. Actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de Capulín (*Prunus serotina* subsp capuli). Rev. Mex. Ing. 2011; 10 (1): 29-37.
2. Núñez, P. Bioquímica de la caries dental. Rev.haban cienc méd. 2010; 9(2):156-157.

3. Ojeda, G, Oviedo, E, Salas LA. Streptococcus mutans and dental caries. CES Odont. 2013; 26(1): 44-56.
4. Duque, J, Pérez, A, Hidalgo I. Caries dental y ecología bucal. Rev Cubana estomatol. 2006; 43(1): 202-206.
5. Bravo, L, Torres F, Fierro, C, Pérez MA. Estado de salud bucal en preescolares con sobrepeso de Concepción Int. j. odontostomatol. 2010; 4(3): 267-270.
6. Zapata, C, Sepúlveda U, Rojano BA. Efecto del Tiempo de Almacenamiento sobre las Propiedades Fisicoquímicas, Probióticas y Antioxidantes de Yogurt Saborizado con Mortiño. Rev Infor tecnol. 2015; 26(2): 17-28.
7. Kumarasamy B, Manipal S, Duraisamy P, Ahmed A, Mohanaganes S, Jeevika C. Role of aqueous extract of morinda citrifolia (Indian noni) ripe fruits in inhibiting dental caries-causing streptococcus mutans and streptococcus mitis. J Dent (Tehran). 2014; 11(6): 703-10.
8. Mehta VV, Rajesh G, Rao A. Efficacy of punica granatum mesocarp, Nelumbo nucifera Leaf, Psidium guajava Leaf and coffea Canephora Extraxt on Common Oral Patghogens : An In-Vitrio Study. J Clin Diagn. 2014; 8(7): 65-8.
9. Weiss EI, Lev R, Sharon N, Ofek I. Inhibitory Effect of high-molecular-weight constituent of cranberry on adhesion of oral bacteria. Crit Rev Food Sci Nutr. 2002; 42(3): 285-92.
10. SHA magazine [Internet]. Madrid: SHA; 2010 (citado 01/08/2018). Propiedades de los frutos rojos. Disponible: <https://shawellnessclinic.com/es/shamagazine/propiedad-es-de-los-frutos-rojos/>
11. Zapata C, Sepúlveda U, Rojano BA. Efecto del Tiempo de Almacenamiento sobre las Propiedades Fisicoquímicas, Probióticas y Antioxidantes de Yogurt Saborizado con Mortiño. Rev Infor tecnol. 2015; 26(2):17-28.
12. Coba P, Coronel D, Verdugo K, Paredes MF, Yugsi E, Huach L. Estudio etnobotánico del mortiño (Vaccinium floribundum) como alimento ancestral potencial alimento funcional. Rev Cien Vida. 2015; 16(2): 5-13.
13. Lagha AB, Dudonné S, Desjardins Y, Greer D. Wild Blueberry (Vaccinium angustifolium Ait.) Polyphenols Target Fusobacterium nucleatum and the Host Inflammatory Response: Potential Innovative Molecules for Treating Periodontal Diseases. J. Agric. Food Chem. 2015; 63(31): 6999-7008.
14. Asturizaga AS, Øllgaard B, Balslev H. Frutos comestibles. Botánica económica de los Andes Centrales. Rev Univ San Andres.2006;1(1): 329-346.
15. Dawes C. Absorption of urea through the oral mucosa and estimation of the percentage of secreted whole saliva inadvertently swallowed during saliva collection. Arch Oral Biol. 2006 Feb;51(2):111-6.
16. Santamaría PC, Coronel D, Verdugo K, Paredes MF, Yugsi E, Huach L. Estudio etnobotánico del mortiño (Vaccinium floribundum) como alimento ancestral y pontecial alimento funcional. Rev Cien Vida. 2006; 16(2): 5-13.