



“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO DE FRUTOS DE *Psittacanthus calyculatus* CONTRA BACTERIAS ASOCIADAS A MASTITIS BOVINA”

Jossany García-Magaña, José Osvaldo Bernal-Gallardo, Zaida Ochoa-Cruz, Jeanette Guadalupe Cárdenas-Valdovinos, María Valentina Angoa-Pérez y Hortencia Gabriela Mena-Violante

Instituto Tecnológico de Estudios superiores de Zamora, gjossany@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina es una respuesta inflamatoria de las glándulas mamarias, tiene un gran impacto en la producción animal, el bienestar animal y la calidad de la leche producida. Se han identificado aproximadamente 140 especies de patógenos causantes de mastitis, uno de los principales son *Streptococcus agalactiae*, siendo el pezón su principal vía de entrada a la glándula (Mera et al., 2017). Es por eso que se propone utilizar, desarrollar y analizar métodos a base de extractos vegetales, como alternativa al uso de antibióticos, debido a esto el objetivo principal fue evaluar el efecto antimicrobiano de extracto etanólico de los frutos de muérdago (*P. calyculatus*) contra *S. agalactiae* causante de mastitis bovina, determinando in vitro la actividad inhibitoria y la actividad bactericida, ya que es una planta hemiparásita que contiene metabolitos secundarios que podrían actuar contra bacterias asociadas a la mastitis bovina.

MATERIALES Y MÉTODOS

La preparación de los extractos se realizó con base en lo reportado por Mostafa et al. (2018), con algunas modificaciones, se tomó 1 g de muestra y se colocó en 75 mL de etanol acidificado con HCl 1N en una proporción volumétrica de 85:15, enseguida se sonicaron (ULTRASONIK, DENSTPLY, NEYTECH, EUA.) por 30 min. Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm por 30 min, procediendo a la filtración al vacío con filtros de 0.45 µm. Los extractos se concentraron en un rotavapor (Rotavapor r-2, BUCHI, Zúrich, Suiza), y se resuspendieron en agua desionizada estéril. Se obtuvo una concentración de pericarpio de 230 mg/mL de H₂O. Los ensayos de actividad antibacteriana se realizaron según lo reportado por Torres-Chatí et al. (2017). Para evaluar la actividad antimicrobiana se utilizó el método modificado de difusión en pocillos en agar Müeller Hinton. Los aislados de *S. agalactiae* fueron llevadas a una concentración 5 x 10⁸ UFC/ml y se adicionaron al medio. Los pocillos (6 mm de diámetro) se prepararon con ayuda de un sacabocado estéril, donde se depositó el extracto con carga de 1.15, 2.30, 3.45 y 4.60 µg/pocillo. Luego de una incubación a 37 °C por 24 h se realizó la lectura de los halos de inhibición. Se utilizó como control positivo ciprofloxacino (200 mg/mL), siendo el agua estéril el control negativo. Para la medida de los halos de inhibición (mm) se empleó un vernier. Los ensayos se realizaron por triplicado. La CMI se obtuvo utilizando el método estándar de microdilución en caldo. Se añadieron los extractos ajustados a 230.0, 115.0, 57.5, 28.8, 14.4, 7.2, 3.6 y 1.8 mg/mL (50 µL de cada uno). Como controles no tratados se colocaron 200 µL de caldo. Se utilizó el aislado de *S. agalactiae* TI-5 ya que fue el que presentó los mayores halos de inhibición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La actividad antibacteriana de los extractos de pericarpio frente a los aislados de *S. agalactiae* se observa en la Tabla 1. Cabe destacar que, el extracto de *P. calyculatus* obtuvo los mayores halos de inhibición en todos los aislados a una aplicación de 4.6 µg.

BIBLIOGRAFÍA

- Jacobo-Salcedo, M. D. R., Alonso-Castro, A. J., Salazar-Olivo, L. A., Carranza-Alvarez, C., González-Espiñola, L. A., Domínguez, F. et al. 2011. Antimicrobial and cytotoxic effects of Mexican medicinal plants. *Natural Product Communications*, 6(12), 1925–1928. <https://doi.org/10.1177/1934578x1100601234>.
- Mera, R., Muñoz, M., Artieda, J.R., Ortiz, P., González, R., y Vega, V. 2017. Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. *REDVET* 18(11): 1695-7504.
- Mostafa, A. A., Al-Askar, A. A., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Sholkamy, E. N., y Bakri, M. M. 2018. Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 361–366. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.004>.
- Torres-Chatí, J., León-Quipe, J., y Tomas-Chota, G. 2017. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de Luma chequen (Molina) A. Gray “arrayán” frente a patógenos de origen clínico. *Revista de La Sociedad Venezolana de Microbiología*, 37(1), 10–16.

Tabla 1. Halo de inhibición del antibiótico y del extracto de pericarpio de *P. calyculatus* a distintas concentraciones.

Extracto	µg/pocillo	<i>S. agalactiae</i> (TD-3)	<i>S. agalactiae</i> (DI-2)	<i>S. agalactiae</i> (DI-22)	<i>S. agalactiae</i> (TI-12)	<i>S. agalactiae</i> (TI-5)
<i>P. calyculatus</i>	1.15	3.49 ± 1.19 ^d	6.20 ± 2.83 ^e	8.82 ± 0.22 ^d	6.37 ± 0.34 ^d	8.46 ± 0.25 ^d
	2.30	9.15 ± 2.99 ^c	9.55 ± 1.18 ^d	12.73 ± 0.63 ^c	9.45 ± 0.35 ^{cd}	13.32 ± 0.51 ^c
	3.45	12.64 ± 1.81 ^c	11.80 ± 0.36 ^c	14.37 ± 0.21 ^c	12.17 ± 0.20 ^c	13.92 ± 0.82 ^{bc}
	4.60	15.32 ± 1.74 ^b	16.02 ± 0.34 ^b	16.97 ± 1.47 ^b	15.07 ± 0.69 ^b	17.87 ± 1.38 ^b
Antibiótico	4.00	40.48 ± 6.26 ^a	25.01 ± 3.06 ^a	21.80 ± 3.06 ^a	31.40 ± 3.06 ^a	25.15 ± 3.06 ^a

Se presenta la media ± desviación estándar, letras distintas indican diferencia estadística significativa en las columnas. La separación de medias se realizó por prueba de Tukey (p < 0.05).

La mayor efectividad del extracto con relación al antibiótico fue con *S. agalactiae* DI-22 y la menor fue con *S. agalactiae* TD-3 (Tabla 2.). En promedio el extracto obtuvo una efectividad de 60 % respecto al antibiótico, contra los aislados de *S. agalactiae*. Cabe mencionar que, la concentración del antibiótico era mayor a la de los ingredientes activos presentes en el extracto, ya que las cantidades ensayadas fueron de tejido y no de ingrediente activo. Esto sugiere que, si en futuras investigaciones se ensayan dosis de ingredientes activos del extracto su efectividad puede mejorar y acercarse o superar la del antibiótico.

Tabla 2. Efectividad promedio del extracto de pericarpio de *P. calyculatus* con relación al antibiótico.

Aislado	Antibiótico (4.0 µg/pocillo)	Extracto (4.6 µg/pocillo)
<i>S. agalactiae</i> TD-3	100%	38%
<i>S. agalactiae</i> DI-2	100%	64%
<i>S. agalactiae</i> DI-22	100%	78%
<i>S. agalactiae</i> TI-12	100%	48%
<i>S. agalactiae</i> TI-5	100%	71%

La CMI que presentó el extracto etanólico de pericarpio de *P. calyculatus* contra las bacterias *S. agalactiae* DI-22 fue de 7.2 mg/mL de H₂O. Respecto a frutos de *P. calyculatus* no existen estudios antimicrobianos, en cambio existen de su follaje por ejemplo lo realizado por Jacobo-Salcedo et al. (2011), quienes reportaron inhibición a partir de 750 µg/disco contra *Acinetobacter lwoffii*, *Burkholderia cepacia* y *Pseudomonas aeruginosa*.

CONCLUSIÓN

Se logró evaluar el efecto antimicrobiano de extracto etanólico de los frutos de muérdago (*P. calyculatus*) contra *S. agalactiae* causante de mastitis bovina. 2) Se presentó una respuesta distinta de los aislados bacterianos al extracto de pericarpio de muérdago. 3) El aislado más susceptible al extracto de *P. calyculatus* fue el TI-5 y con mayor resistencia fue el TI-12. 4) El estudio deja abierta la posibilidad de continuar la investigación sobre este fruto y sobre su uso potencial como antibacteriano, y con esto proponer un uso sustentable para el aprovechamiento de los recursos naturales.