

Evaluación in vitro de los extractos Etanólicos y Acuosos de *Allium cepa* y *Allium Sativum* en *Streptococcus Mutans* y *Staphylococcus Aureus*

Jose Gonzalez, Demi Denisse Alvarez Narváz, Wendy Alvarez y Jany Jimenez del Valle
Escuela de Ciencias Estomatológicas
Universidad de Montemorelos

Antecedentes: En el presente estudio el objetivo principal es determinar si los extractos de *Allium cepa* y *Allium sativum* contiene propiedades antibióticas contra *Streptococcus Mutans* y *Staphylococcus Aureus*. **Materiales y métodos:** En este estudio se seleccionaron dos unidades de *Allium cepa*, morada y blanca, y una de *Allium sativum*. Se colocaron debajo de una luz que genera calor, hasta que estuvieran casi secos. Se mandaron al laboratorio para su manipulación con medios. Utilizamos un medio acuoso y uno etanólico. Se evaporaron y se obtuvo el extracto. Cada concentrado quedó diluido en una concentración a 70 mg/ml. Utilizamos el método de microtitulación donde utilizamos un control positivo de antibiótico antimicótico y los extractos contra las bacterias *Streptococcus Mutans* y *Staphylococcus Aureus*. **Resultados:** El control positivo, es decir, el antibiótico antimicótico dió como resultado un 100 % de inhibición bacteriana contra *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*. Los extractos de *Allium cepa* morada y blanca dieron como resultado un inhibición bacteriana igual o cerca del 100 %. El extracto de *Allium sativum* arrojó resultados dando un porcentaje de inhibición aproximadamente de un 80 %. **Conclusión:** Los extractos de *Allium cepa* y *Allium sativum* si refirieron propiedades antibióticas contra las cepas de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Extractos naturales, Cebolla, *Allium cepa*, *Allium sativum*, medicina alternativa, pruebas in vitro, antibiótico, bactericida, caries, *S. mutans*, *S. Aureus*.

Introducción

Diariamente convivimos con microorganismos ya que estos se encuentran en el aire, en el agua, en la tierra y en nuestro cuerpo. Lo cual incluye dentro de nuestra boca muchos de ellos pueden ser inofensivos para nuestra salud, sin embargo, es importante mencionar que en ocasiones algunos de ellos cuando proliferan en exceso pueden causar ciertas infecciones.

Debido a la necesidad de obtener mejores resultados en la consulta odontológica, y capitalizando el creciente interés por los compuestos antimicrobianos naturales del cual se domina muy poco el tema, decidimos orientar esta investigación en hacer pruebas in vitro de algunos extractos naturales y comprobar su actividad antimicrobiana con dos de las bacterias principales en enfermedades de la cavidad oral. Nos concentramos en el extracto de cebolla (*Allium cepa*) del que es conocido su efecto antibiótico y su uso para infecciones del sistema respiratorio y al igual que del extracto de ajo (*Allium sativum*).

Este estudio ampliará el conocimiento sobre los efectos de *Allium cepa* y *Allium Sativum* dentro de la cavidad oral. Con los resultados podremos proveer una base científica sólida que nos invite a considerarlos como alternativa natural al uso de

antibióticos de procedencia sintética o también descartar su uso.

Metodología

Obtención del extracto

Seleccionamos dos unidades de *Allium cepa*, morada y blanca, y una de *Allium sativum*. Se rayaron y se exprimieron hasta dejarlos casi secos. Se colocaron en un recipiente de cristal con perlas antihumedad y una rejilla, para sacar los aceites, se puso debajo de una luz que genera calor, hasta que estuvieran casi secos. Tardó, 10 días. Se tomaron las muestras secas y se mandaron al laboratorio para poder trabajar. Se pulverizaron y se pesaron 5 gramos de cada planta en cada uno de los 6 matraces. En las primeras 3 que eran de extractos acuosos, se colocó 100 ml de agua destilada, en cada matraz, y se colocaron en el agitador magnético hasta su homogeneización. Se tapó y dejó reposar de 24 a 48 horas. En los matraces etanólicos se colocaron 100 ml de alcohol etílico y se revolvió en el agitador magnético. Se tapó y dejó reposar de 24 a 48 horas. (Figura 1)



Figura 1

Se filtraron las plantas y tomamos 30 tubos, que se lavaron, se pesaron en vacío y se etiquetaron. De los cuales, se dividieron en 10 de *Allium cepa* blanca, 10 con *Allium cepa* morada y 10 con *Allium sativum*. Para que posteriormente, de cada una de las 10 muestras, se dividieron en mitad; 5 viales para extractos etanólicos y 5 para extractos acuosos.

Para obtener el extracto etanólico se agregaron de 2 a 5 mg de la planta, se dejó secar el alcohol en campo libre de polvo y tardo 30 días en evaporarse. Se pesaron los viales una vez evaporado el alcohol, para saber cuántos miligramos de extracto neto se obtuvieron. (Figura 2)



Figura 2

Para obtener el extracto acuoso, de igual manera se agregaron de 2 a 5 mg de planta y 100 ml de agua destilada, se acomodaron los viales en un recipiente de cristal. Se colocó en la una placa caliente Corning® PC-400D, hasta su evaporación sin llegar a punto de ebullición.

Dilución del extracto concentrado

Cada concentrado quedó diluido en una concentración a 70 mg/ml.

Todas las diluciones se pasaron por el vortex para ser homogenizados. las disoluciones acuosas se sometieron. Se infiltraron en filtros para jeringa Thermo Scientific™ F2513-3, dentro de viales estériles.

Preparación del medio de cultivo

Como medio de cultivo se utilizó Agar Soya Trypticaseína Bioxon. Se disolvió 52 gr. de medio deshidratado en un litro de agua, se rehidrato de 10 a 15 min. Fue calentando y agitando frecuentemente e hirvió durante un minuto. Se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. (Figura 3)

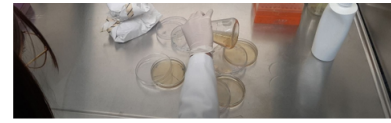


Figura 3

Sembrado de bacterias

Se colocó el agar soya tripticaseína en 4 cajas petri. En dos cajas se cultivó con un hisopo estéril una cantidad de la bacteria *S. Mutans* y en las otras dos otra cantidad de la bacteria *S. Aureus*. Se metió a la incubadora por 24 horas para su crecimiento.(Figura 4)

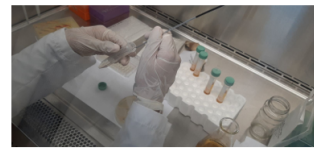


Figura 4

Estandarización de la bacteria

Después de tener la bacteria en crecimiento se estandarizó un inóculo a una escala de McFarland en la cual su absorbancia a 600 nm es entre 0.08 a 0.1 equivalente a 1.5×10^8 cfu/ml mediante un espectrofotómetro SmartSpec Plus BIO RAD. (Figura 5)



Figura 5

Disoluciones

Se marcó la placa de microtitulación donde separamos los primeros tres pozos de las hileras A1, A2 y A3 y se colocaron 200 µl de extracto acuoso. Del pozo B en adelante se colocaron 100 µl de medio y se realizaron las diluciones pasando 100 µl del pozo A al pozo B y así consecutivamente hasta llegar al último pozo (H), donde se retiran y se desechan 100 µl del último pozo, ya que al final cada pozo debía contener 100 µl. (Figura 6)

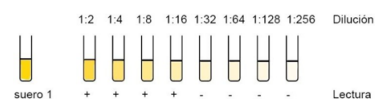


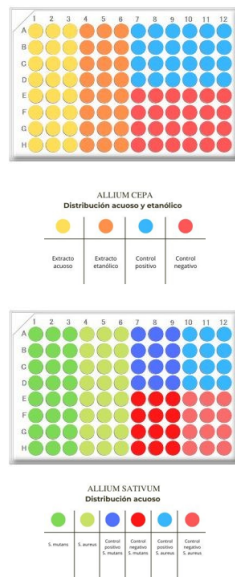
Figura 6

De las hileras A4, A5 y A6 y se colocaron 200 µl de extracto etanólico. Del pozo B en adelante se colocaron 100

μl de medio y se realizaron las diluciones pasando 100 μl del pozo A al pozo B y así consecutivamente hasta llegar al último pozo (H), donde se retiran y se desechan 100 μl del último pozo, ya que al final cada pozo debía contener 100 μl.

Los controles fueron distribuidos de las hileras 7 a la 12, siendo el control positivo de los pozos respectivos de la A-D y el control negativo de las filas E-H.

Al finalizar este procedimiento se colocaron 20 μl de bacteria en los 96 pozos de las 5 cajas de microtitulación respectivas de cada extracto.



Lectura de las placas de microtitulación

Después de 24 horas de incubación a 37. 4º c las cajas fueron puestas en el Microplate Reader iMark™ y se obtuvieron las lecturas. (Figura 8)



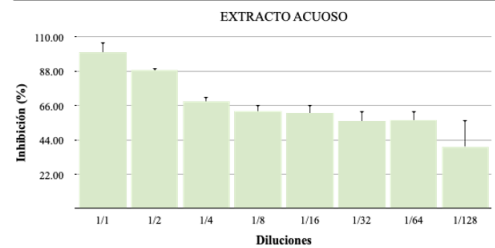
Figura 8

Resultados

En la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de Allium cepa morada contra S. mutans, podemos observar una inhibición del crecimiento bacteriano en la dilución 1/1 (equivalente 35 mg/mL) de 99.98(±6,58 %DE), estadísticamente igual como cuando se usó antibiótico antimicótico con un P ≤ 0,05. Por otro lado, se observó una disminución de

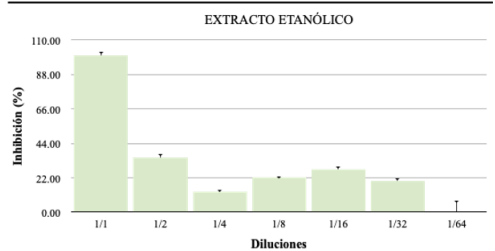
su actividad a medida se avanzaba con las diluciones hasta 1/128 con un 39.67 % (±17,0 %DE).

ALLIUM CEPA MORADA CONTRA S. MUTANS



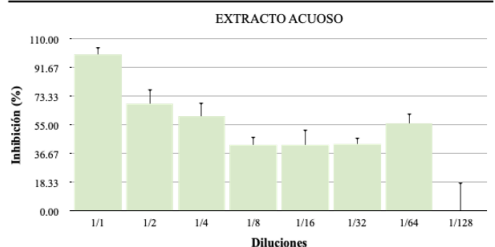
En la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de Allium cepa morada contra S. mutans, podemos observar una inhibición del crecimiento bacteriano en la dilución 1/1 (equivalente 35 mg/mL) de 100.07 % (±2,11 %DE), estadísticamente igual como cuando se usó antibiótico antimicótico con un P ≤0.05. Por otro lado, se observó una disminución de su actividad a medida se avanzaba con las diluciones hasta 1/64 con un 0.00 % (±7.42 %DE).

ALLIUM CEPA MORADA CONTRA S. MUTANS



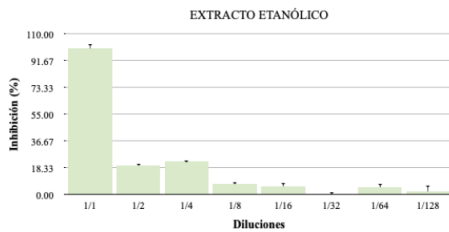
En la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de Allium cepa blanca contra S. mutans, podemos observar una inhibición del crecimiento bacteriano en la dilución 1/1 (equivalente 35 mg/mL) de 100.09(±4.52 %DE), estadísticamente igual como cuando se usó antibiótico antimicótico con un P ≤0.05. Por otro lado, se observó una disminución de su actividad a medida se avanzaba con las diluciones hasta 1/128 con un 0.00 % (±18.03 %DE).

ALLIUM CEPA BLANCA CONTRA S. MUTANS



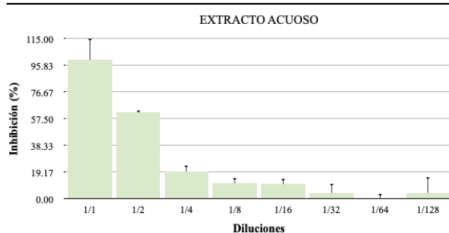
En la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Allium cepa* blanca contra *S. mutans*, podemos observar una inhibición del crecimiento bacteriano en la dilución 1/1 (equivalente 35 mg/mL) de 100.00(±2.89 %DE), estadísticamente igual como cuando se usó antibiótico antimicótico con un $P \leq 0.05$. Por otro lado, se observó una disminución de su actividad a medida se avanzaba con las diluciones hasta 1/128 con un 2.22 % (±4.14 %DE).

ALLIUM CEPA BLANCA* CONTRA *S. MUTANS



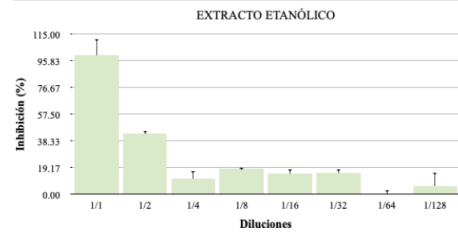
En la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de *Allium cepa* morada contra *S. mutans*, podemos observar una inhibición del crecimiento bacteriano en la dilución 1/1 (equivalente 35 mg/mL) de 100.03(±14.7 %DE), estadísticamente igual como cuando se usó antibiótico antimicótico con un $P \leq 0.05$. Por otro lado, se observó una disminución de su actividad a medida se avanzaba con las diluciones hasta 1/128 con un 4.19 % (±11.43 %DE).

ALLIUM CEPA MORADA* CONTRA *S. AUREUS



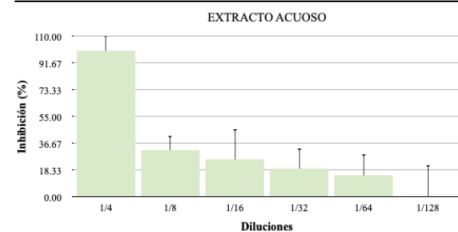
En la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Allium cepa* morada contra *S. aureus*, podemos observar una inhibición del crecimiento bacteriano en la dilución 1/1 (equivalente 35 mg/mL) de 100.00(±10.98 %DE), estadísticamente igual como cuando se usó antibiótico antimicótico con un $P \leq 0.05$. Por otro lado, se observó una disminución de su actividad a medida se avanzaba con las diluciones hasta 1/128 con un 6.18 % (±9.04 %DE).

ALLIUM CEPA MORADA* CONTRA *S. AUREUS



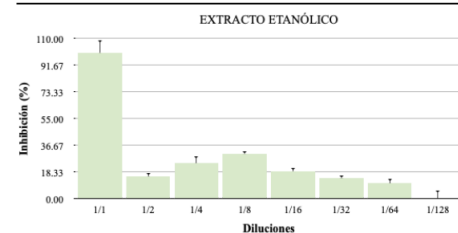
En la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de *Allium cepa* blanca contra *S. aureus*, podemos observar una inhibición del crecimiento bacteriano en la dilución 1/4 (equivalente 8.75 mg/mL) de 99.98(6.58 %DE), estadísticamente igual como cuando se usó antibiótico antimicótico con un $P \leq 0.05$. Por otro lado, se observó una disminución de su actividad a medida se avanzaba con las diluciones hasta 1/128 con un 0.02 % (±21.55 %DE).

ALLIUM CEPA BLANCA* CONTRA *S. AUREUS



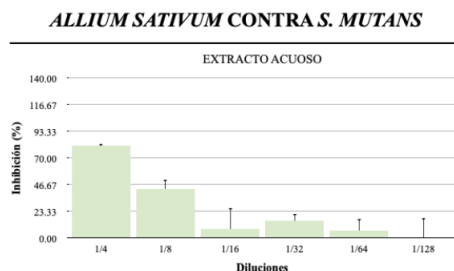
En la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de *Allium cepa* blanca contra *S. aureus*, podemos observar una inhibición del crecimiento bacteriano en la dilución 1/1 (equivalente 35 mg/mL) de 100.04(±8.7 %DE), estadísticamente igual como cuando se usó antibiótico antimicótico con un $P \leq 0.05$. Por otro lado, se observó una disminución de su actividad a medida se avanzaba con las diluciones hasta 1/128 con un 0.04 % (±5.51 %DE).

ALLIUM CEPA BLANCA* CONTRA *S. AUREUS

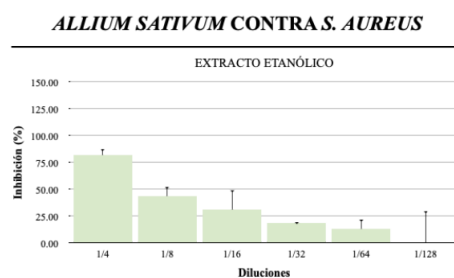


En la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de *Allium sativum* contra *S. mutans*, podemos observar una inhibición del crecimiento bacteriano en la dilución 1/4 (equivalente 8.75 mg/mL) de 80.65 % (±1.7 %DE), estadísticamente diferente como cuando se usó antibiótico antimicótico

con un $P \leq 0.05$. Sin embargo, se observó un mayor potencial de inhibición desde concentraciones más bajas en comparación a los extractos de cebolla morada y blanca. Por otro lado, se observó una disminución de su actividad a medida se avanzaba con las diluciones hasta 1/128 con un 0.02 % (± 17.66 %DE).



La actividad antimicrobiana del extracto acuoso de *Allium sativum* contra *S. mutans*, podemos observar una inhibición del crecimiento bacteriano en la dilución 1/4 (equivalente 8.75 mg/mL) de 82.03 % (± 5.13 %DE), estadísticamente diferente como cuando se usó antibiótico antimicótico con un $P \leq 0.05$. Sin embargo, se observó un mayor potencial de inhibición desde concentraciones más bajas en comparación a los extractos de cebolla morada y blanca. Por otro lado, se observó una disminución de su actividad a medida se avanzaba con las diluciones hasta 1/128 con un 0.02 % (± 29.4 %DE).



Discusión

Esta investigación fue elaborada conforme a uno de diferentes métodos existentes para la obtención del extracto. Tuvimos resultados favorables, similares en comparación a la de otras investigaciones. Cabe resaltar que se pudieron obtener mejores resultados a las pruebas ya existentes si se hubiera utilizado una concentración mayor del extracto.

La concentración utilizada en la investigación fue de 70 mg/mL. Otro punto para considerar es que, quizás utilizando una concentración mayor se podría obtener una inhibición bacteriana superior o semejante a la del antibiótico.

La técnica de microdilución en caldo nos arrojó resultados confiables que iban direccionados hacia nuestros objetivos y lo que buscábamos, es decir, solo nos permite comprobar la

inhibición bacteriana de los extractos. Hubiera sido interesante tener más datos, por lo que sugerimos utilizar otra técnica de sensibilidad bacteriana para obtener información que pudiera complementar esta investigación, como por ejemplo la técnica de disco, que nos permite medir la vida de la bacteria y como el extracto va haciendo efecto.

Las primeras diluciones del extracto de *Allium sativum* no fueron reflejadas debido a que el espectrofotómetro no reconoce soluciones de turbidez densa, por lo que quizás un diferente análisis de sensibilidad bacteriana hubiera sido mejor.

Conclusiones

El control positivo, es decir, el antibiotico antimicótico dió como resultado un 100 % de inhibición bacteriana contra *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*.

Los extractos de *Allium cepa* morada y blanca en la dilución 1/1, en medio acuoso y etanólico, dieron como resultado un inhibición bacteriana igual o cerca del 100 %. Conforme se va diluyendo el extracto el efecto es menor.

Por lo que, puede decirse que el efecto antibiótico de el extracto de *Allium cepa*, ya sea morada o blanca es igual al de el antibiótico de origen sintético.

El extracto de *Allium sativum* arrojó resultados desde la dilución 1/4 en medio acuoso, dando un porcentaje de inhibición aproximadamente de un 80 % en comparación con el antibiótico antimicótico.

En conclusión, los extractos acuosos y etanólicos de *Allium cepa* y *Allium sativum* si tienen propiedades antibióticas contra las bacterias *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, y presentamos las bases para ser consideradas con mayores estudios y pruebas como una alternativa natural a los antibióticos de origen sintético.

Referencias

- Gallegos-Zurita Maritza. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An. Fac. med. [Internet]. 2016 Oct [citado 2020 Abr 13] ; 77(4): 327-332.
- Juárez-Segovia K, Díaz-Darcía E, Méndez-López M, Pina-Cansaco M, Pérez-Santiago A, Sánchez-Medina M. Efecto de extractos crudos de ajo (*allium sativum*) sobre el desarrollo in vitro DE *Aspergillus parasiticus* Y *Aspergillus niger*. Polibotánica. 2019;0(46).
- Whaley Sarah G., Berkow Elizabeth L., Rybak Jeffrey M., Nishimoto Andrew T., Barker Katherine S., Rogers P. David. Azole Antifungal Resistance in *Candida albicans* and Emerging Non-*albicans Candida* Species. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2013 Jul [cited 2019 Apr 9];36(4):156–70.
- Bermúdez Hoyos M, López naranjo L, Zabala González D. Elaboración de un preparado magistral a base de ajo (*Allium sativum*) y caléndula (*Calendula officinalis*) y evaluación de

- su actividad antimicrobiana y antimicótica. *Ciencia, Tecnología e innovación en Salud*. 2016;1.
5. Pérez-Jaramillo CC, Sánchez-Peralta WF, Murillo-Arango W, Méndez-Arteaga JJ. Acción antioxidante conjunta de extractos etanólicos de *Mollinedia lanceolata*, *Croton leptostachyus* y *Siparuna sessiliflora*. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* [Internet]. 2017 Jan [cited 2019 May 4];41(158):64–70.
 6. Guillamón Enrique. Efecto de compuestos fitoquímicos del género *Allium* sobre el sistema inmune y la respuesta inflamatoria. *Ars Pharm* [Internet]. 2018 Sep [citado 2020 Abr 13]; 59(3): 185-196.
 7. Jerez Vilte A, Díaz de Oropeza Martínez R, Vargas Mendoza M, Ramírez Villa N. Estudio de las propiedades benéficas en la cebolla (*allium cepa* l.) en el departamento de taríja. *Ventana científica* [Internet]. 2017 [cited 26 April 2019];8(13):7-12.
 8. Otero Rey E., Peñaranda Mallón M., Rodríguez Piñón M., Martín Biedma B., Blanco Carrión A.. Candidiasis oral en el paciente mayor. *Av Odontostomatol*. 2015; 31(3): 135-148.
 9. Cruz Quintana Sandra Margarita, Díaz Sjöstrom Pedro, Arias Socarrás Dunier, Mazón Baldeón Gloria Marlene. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. *Rev Cubana Estomatol*. 2017 ; 54(1): 84-99.
 10. Berner JE, Will P, Loubies R, et al. Examen físico de la cavidad oral. *Med Cutan Iber Lat Am*. 2016;44(3):167-170.