

Actividad antibacteriana de aceites esenciales obtenidos de plantas de origen cubano sobre *Streptococcus suis*



Antibacterial activity of essential oils obtained from plants of Cuban origin against *Streptococcus suis*

<http://opn.to/a/nITgL>

Oriela Pino-Pérez ^{1*}, Miriam M. Rojas-Fernández ¹, Yaíma Sánchez-Pérez ¹, Ivette Espinosa-Castaño ¹

¹Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, CP 32 700, Mayabeque, Cuba.

RESUMEN: El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antibacteriana de aceites esenciales obtenidos de plantas de origen cubano sobre *Streptococcus suis* serotipo 2. Los aceites esenciales de *Ruta chalepensis* L., *Piper auritum* Kunth, *Ocimum sanctum* L. y *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blake se obtuvieron por hidrodestilación empleando un equipo Clevenger. La actividad antibacteriana de cada aceite esencial se evaluó por el método de difusión en agar; como control se utilizó Ciprofloxacina. Todos los aceites esenciales evaluados inhibieron el crecimiento de *S. suis*. Los aceites de *R. chalepensis* y *P. auritum* evidenciaron la mayor actividad antibacteriana, superior a la de la Ciprofloxacina. Los tratamientos con los aceites esenciales obtenidos de *O. sanctum* y *M. quinquenervia* mostraron una actividad moderada en la inhibición del crecimiento de la bacteria. Los aceites esenciales de *R. chalepensis* y *P. auritum* poseen potencial para el desarrollo de nuevos antimicrobianos destinados al control de *S. suis*.

Palabras clave: aceite esencial, *Melaleuca*, *Ocimum*, *Piper*, *Ruta*, *Streptococcus suis*.

ABSTRACT: The aim of this work was to determine the antibacterial activity of essential oils obtained from plants of Cuban origin against *Streptococcus suis* serotype 2. The essential oils from *Ruta chalepensis* L., *Piper auritum* Kunth, *Ocimum sanctum* L., and *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blake were obtained by hydrodistillation using a Clevenger type-apparatus. The antibacterial activity of each essential oil was evaluated by the agar diffusion method and Ciprofloxacin was used as control. All the evaluated oils inhibited the growth of *S. suis*. The essential oils from *R. chalepensis* and *P. auritum* showed the highest activity, superior to that of Ciprofloxacin. The treatments with the essential oils obtained from *O. sanctum* and *M. quinquenervia* lightly inhibited the bacterium. The essential oils from *R. chalepensis* and *P. auritum* have potential for the development of new antimicrobials to control *S. suis*.

Key words: essential oil, *Melaleuca*, *Ocimum*, *Piper*, *Ruta*, *Streptococcus suis*.

*Autor para correspondencia: Oriela Pino-Pérez. E-mail: oriela@censa.edu.cu

Recibido: 03/08/2017

Aceptado: 30/04/2018

Streptococcus suis causa infecciones severas en los cerdos y está asociado a meningitis, artritis, endocarditis, septicemia y neumonía (1,2). Además, esta bacteria se ha aislado de aves, caballos, perros, gatos y se considera un problema de salud en humanos (2,3). La emergencia y el incremento de la prevalencia de cepas de *S. suis* resistentes a antibióticos representan un reto clínico y social significativo (3).

La necesidad de disponer de nuevos tratamientos alternativos conduce a la búsqueda de productos naturales con actividad antimicrobiana para promover su integración en la medicina moderna (4,5). Los aceites esenciales son líquidos aromáticos, constituidos por terpenos, terpenoides, fenilpropanoides y otros compuestos volátiles producidos por las plantas, que han ganado interés como fuentes potenciales de moléculas bioactivas naturales para el tratamiento de enfermedades infecciosas (4,6). Muchos aceites se han identificado como antimicrobianos; sin embargo, esta actividad es variable de un aceite a otro y sobre diferentes especies microbianas (4,7). El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad antibacteriana de aceites esenciales obtenidos de plantas de origen cubano sobre *S. suis* serotipo 2.

Las especies vegetales utilizadas como materia prima para la obtención de los aceites fueron: *Melaleuca quinquenervia* (Cav) S.T. Blake (melaleuca), *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada), *Piper auritum* Kunth (caisimón de anís) y *Ruta chalepensis* L. (ruda). Los aceites esenciales se extrajeron por hidrodestilación con el equipo Clevenger durante tres horas, según lo establecido en la norma ISO 65-71:84 (8). Cada aceite se secó sobre sulfato de sodio (Fluka) y se almacenó a 8°C.

La actividad antimicrobiana de los aceites se evaluó sobre una cepa de *S. suis* serotipo 2 proveniente del cepario del Laboratorio de Bacteriología Animal del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. La bacteria se sembró por agotamiento en agar Columbia (Oxoid, UK) suplementado con sangre ovina (5 %) y se incubó a 37°C durante 48 horas. A partir del cultivo, se preparó una suspensión bacteriana en solución salina a una concentración equivalente a 1×10^9

UFC mL⁻¹, ajustada según la escala 4 del estándar MacFarland (Pro-Lab Diagnostics). Un hisopo se sumergió en esta suspensión, se eliminó el exceso de líquido y se esparció en placas de agar Columbia (Oxoid, UK) suplementado con sangre ovina (5 %).

Para evaluar la sensibilidad de este microorganismo a los aceites esenciales se empleó el método de difusión en agar, según la técnica estandarizada por el Instituto de Estándares de Laboratorios y Clínicas (CLSI; 2012) (9), basada en el método de Kirby-Bauer. En cada placa se colocaron cuatro discos de papel de filtro Whatman 1 de 6 mm de diámetro; a dos de los discos se les añadió el aceite esencial sin diluir (10 µL) y los otros dos discos se emplearon como controles negativos. Como control positivo se utilizaron discos impregnados con Ciprofloxacina (10 µg) (Oxoid). La temperatura de incubación fue 37°C y, transcurridas 48 horas, se midió el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano con una regla graduada.

La evaluación se realizó por cuatuplicado para cada tratamiento. Los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza simple, y las medias se compararon mediante la prueba de comparación de rangos múltiples de Duncan con una probabilidad de error de 5 % ($p < 0,05$), usando el paquete estadístico InfoStat/L versión de 2016.

Todos los aceites esenciales evaluados inhibieron el crecimiento de *S. suis* (Tabla 1). Los aceites de *R. chalepensis* y *P. auritum* evidenciaron la mayor actividad antibacteriana, al mostrar diámetros de la zona de inhibición superiores al de la Ciprofloxacina. Los tratamientos de *O. sanctum* y *M. quinquenervia* manifestaron una actividad inferior por mostrar halos de inhibición menores.

La variación en los resultados de los estudios de la actividad antimicrobiana *in vitro* de aceites esenciales no ha permitido establecer reglas generales para su interpretación; entre las diversas razones que inciden en esta situación se reconocen: la variabilidad natural de la composición de los aceites y la susceptibilidad de los microorganismos, los diferentes parámetros en los métodos de evaluación microbiológica y el insuficiente conocimiento de los aceites

TABLA 1. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de origen cubano sobre *Streptococcus suis*./ *Antibacterial activity of essential oils from Cuban origin against Streptococcus suis*.

Tratamiento	Diámetro de la zona de inhibición* (Media ± DE, mm)**
<i>Ruta chalepensis</i>	90,0 ± 0,0 a
<i>Piper auritum</i>	45,0 ± 0,0 b
<i>Melaleuca quinquenervia</i>	11,3 ± 0,5 e
<i>Ocimum sanctum</i>	14,5 ± 3,3 d
Ciprofloxacina	22,5 ± 0,7 c

*Incluye el diámetro del disco

**Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

esenciales evaluados (fitoquímica, producción, almacenamiento) (10). Adicionalmente, en bacterias de interés veterinario, como es el caso de *S. suis*, los criterios armonizados para diferentes familias de fármacos son limitados (11).

En este contexto, un sistema de evaluación microbiológica apropiado debe permitir la comparación de los datos de inhibición de los productos evaluados con antibióticos utilizados en la terapia de estas enfermedades infecciosas (10); por ello, en el presente estudio la actividad antibacteriana de los aceites esenciales se comparó con la del antibiótico utilizado como control. También, se disponía de información sobre la composición química de los aceites evaluados y la caracterización de la cepa de *S. suis* que contribuyen a la reproducibilidad de los resultados.

La actividad antimicrobiana de los aceites estudiados se ha informado sobre bacterias que causan problemas en la salud humana y animal, en la conservación de los alimentos y en los cultivos agrícolas (12-15). En la literatura consultada no se encontraron antecedentes de su efecto sobre *S. suis*. Los resultados amplían los conocimientos existentes sobre las posibilidades de aplicación de estos aceites esenciales en la medicina veterinaria.

La actividad biológica de los aceites esenciales está directamente relacionada con su composición química cualitativa y cuantitativa; existe relación entre las estructuras de los compuestos más abundantes, las proporciones en las que están presentes, las interacciones entre ellos y el efecto antimicrobiano correspondiente (4,16). Los aceites evaluados de *O. sanctum* y *M. quinquenervia* son complejos químicamente y se

caracterizan por la presencia de varios componentes mayoritarios y no por la prevalencia de un solo compuesto (15). La menor actividad antibacteriana que evidenciaron sobre *S. suis* podría deberse a que este microorganismo es menos susceptible a los compuestos presentes en estas esencias y/o a que sus componentes bioactivos son solo una fracción del aceite total utilizado y la cantidad biodisponible es inferior a la requerida para que provoquen una inhibición similar a la del antibiótico de referencia.

El aceite esencial de caisimón de anís estudiado se caracteriza por estar compuesto, fundamentalmente, por safrol (84,38 %) (14). En estudios previos, este compuesto y los aceites esenciales en los que se identificó como componente mayoritario evidenciaron actividad antimicrobiana sobre bacterias y hongos (14); por lo tanto, se pudiera asociar el efecto inhibitor del aceite de *P. auritum* sobre *S. suis* a la presencia del safrol en el aceite bioactivo.

En la composición del aceite esencial de ruda predominaron las cetonas alifáticas; las de mayor abundancia relativa fueron 2-undecanona (34,88 %) y 2-nonanona (25,23 %) (13). Este aceite inhibió el crecimiento de *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson y *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith). Otros autores informaron el amplio espectro de acción de la esencia de ruda sobre 10 especies de hongos fitopatógenos importantes y también identificaron a la 2-undecanona como componente mayoritario (17).

Numerosos estudios abordan la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y sus componentes, pero su modo de acción no está completamente esclarecido (4). Por sus propiedades hidrofóbicas, los aceites de *R.*

chalepensis y *P. auritum* podrían actuar sobre los grupos lipídicos de las membranas de *S. suis*. La hidrofobicidad de los aceites esenciales les permite particionarse en los lípidos de la membrana celular, lo que la hace más permeable y conlleva a la pérdida de contenido celular (6). En dependencia de la estructura y las propiedades físico-químicas de sus componentes, los aceites interactúan con las membranas celulares y pueden afectar la función de varias de sus estructuras moleculares como sistemas de transporte, enzimas, canales iónicos o receptores; cualquiera de estos efectos pudiera estar asociado a la acción del aceite bioactivo evaluado (4).

Los resultados obtenidos indican que los aceites esenciales de *R. chalepensis* y *P. auritum* pueden ser considerados candidatos promisorios para el tratamiento de las enfermedades infecciosas causadas por *S. suis*. Investigaciones posteriores deberán profundizar en su potencial para el desarrollo de nuevos productos y lograr su aplicación práctica.

REFERENCIAS

- Li Q, Ma C, Fu Y, He Y, Yu Y, Du D, et al. Factor H specifically capture novel Factor H-binding proteins of *Streptococcus suis* and contribute to the virulence of the bacteria. *Microbiol Res.* 2017;196:17-25.
- Espinosa I, Áreas M, Percedo MI, Lobo E, Martínez S, Gottschalk M. Serotyping of porcine *Streptococcus suis* recovered from diseased pigs in the western region of Cuba. *Rev Salud Anim.* 2014;36(3):196-200.
- Yuan F, Tan C, Liu Z, Yang K, Zhou D, Liu W, et al. The 1910HK/RR two-component system is essential for the virulence of *Streptococcus suis* serotype 2. *Microb Pathog.* 2017;104:137-145.
- Saad NY, Muller CD, Lobstein A. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour Fragr J.* 2013;28(5):269-279.
- Horváth G, Farkas Á, Papp N, Bencsik T, Ács K, Gyergyák K, et al. Chapter 3 - Natural substances from higher plants as potential anti-MRSA agents. In: Atta-ur-Rahman, editor. *Studies in Natural Products Chemistry.* Elsevier; 2016. pp. 63-110.
- Solórzano-Santos F, Miranda-Navales MG. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol.* 2012;23:136-141.
- Flores-Encarnación M, Nava-Nolazco RM, Carreño-López R, Aguilar-Gutiérrez GR, García-García S del C, Cabrera-Maldonado C. The antibacterial effect of plant-based essential oils. *Int J Res Stud Biosci.* 2016;4(12):1-6.
- ISO. Spices, condiments and herbs. Determination of volatile oil content. ISO 65-71. 1984.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard M02-A12. Twelfth Edition. Wayne, Pa; 2015.
- Pauli A, Schilcher H. In Vitro antimicrobial activities of essential oils monographed in the European Pharmacopoeia. In: *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications.* 8th ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC; 2016. pp. 433-618.
- Nhung NT, Chansiripornchai N, Carrique-Mas JJ. Antimicrobial resistance in bacterial poultry pathogens: a review. *Front Vet Sci.* 2017;4:1-17.
- Pino O, Sánchez Y, Rojas MM. Plant secondary metabolites as alternatives in pest management. II: An overview of their potential in Cuba. *Rev Protección Veg.* 2013;28(2):95-108.
- Pino O, Sánchez Y, Rojas MM, Abreu Y, Correa TM, Martínez D, et al. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Ruta chalepensis* L. *Rev Protección Veg.* 2014;29(3):220-225.
- Sánchez Y, Correa TM, Abreu Y, Pino O. Efecto del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth y sus componentes sobre *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson y *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Pammel) Dowson. *Rev Protección Veg.* 2013;28(3):204-210.
- Pino O, Sánchez Y, Rojas MM, Rodríguez H, Abreu Y, Duarte Y, et al. Composición química y actividad plaguicida del aceite esencial de *Melaleuca quinquenervia* (Cav)

- S.T. Blake. *Rev Protección Veg.* 2011;26(3):177-186.
16. Buchbauer G, Wallner IM. Essential Oils: Properties, Composition and Health Effects. In: *Encyclopedia of Food and Health*. Oxford: Academic Press; 2016. p. 558-562.
17. Bouabidi W, Hanana M, Gargouri S, Amri I, Fezzani T, Ksontini M, et al. Chemical composition, phytotoxic and antifungal properties of *Ruta chalepensis* L. essential oils. *Nat Prod Res.* 2015;29(9):864-868.

Los autores de este trabajo declaran no presentar conflicto de intereses.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

La mención de marcas comerciales de equipos, instrumentos o materiales específicos obedece a propósitos de identificación, no existiendo ningún compromiso promocional con relación a los mismos, ni por los autores ni por el editor.