

# **EVALUACION ANTIMICROBIANA DE *Persea americana* SOBRE BACTERIAS DEL TRACTO DIGESTIVO Y RESPIRATORIO.**

**ALICIA BERNARDETT ANDRADE LUCIO**

**TANIA LUCINA GUTIERREZ ESCOBAR**

**ALEXA PAMELA ALVA VENEGAS**

**Asesor. Bióloga. Ivonne Herrera Reyes**

En la actualidad estamos expuestos a muchas enfermedades de índole microbiana que son tratadas con medicamentos comerciales, que al no ser consumidos en la forma correcta producen una resistencia de las bacterias a dicho fármaco, por lo que con mayor frecuencia el medicamento resulta ineficiente. La medicina tradicional o herbolaria es una alternativa para tratar enfermedades. Por esta razón, en este experimento pretendemos demostrar que los compuestos contenidos en la cáscara del aguacate (*Persea Americana*) tienen actividad antimicrobiana. Para ello se prepararon 30 cajas petri con Agar Mueller Hinton y se sembraron *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* caso clínico no patógeno, *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* y se evaluó la actividad antimicrobiana de cuatro extractos: metanólico, hexánico, cloroformo y acetato de etilo. El extracto más efectivo fue el clorofórmico ya que presentó muy buena actividad antimicrobiana con *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y una actividad moderada con *Streptococcus pneumoniae*; el extracto más inocuo fue el metanólico, mientras que los extractos de acetato de etilo y hexano tuvieron una actividad moderada. Las bacterias se seleccionan resistentes a los antibióticos constantemente, la falta de supervisión en la ingesta de los medicamentos ayuda a que los patógenos adquieran la capacidad de tolerar los fármacos; el uso de la medicina tradicional es una excelente opción para contrarrestar y combatir a los microorganismos.

Palabras clave: *Persea americana*, aguacate, antimicrobiana, resistencia bacteriana, sensidiscos, halo de inhibición, bacterias.

## **I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

En la actualidad estamos expuestos a muchas enfermedades de índole microbiana que son tratadas con medicamentos comerciales, que al no ser consumidos en la forma correcta producen una resistencia de las bacterias a dicho fármaco, por lo que con mayor frecuencia el medicamento resulta ineficiente. La medicina tradicional o herbolaria es una alternativa para tratar enfermedades, un ejemplo es el empleo de tés o infusiones para contrarrestar algunos síntomas.

Por esta razón, en este experimento pretendemos demostrar que los compuestos contenidos en la cáscara del aguacate (*Persea Americana*) tienen actividad. Esto ayudaría a que el tratamiento de

enfermedades causadas por estas bacterias fuera más sencillo y con menos efectos secundarios en el organismo.

## **II. HIPÓTESIS.**

Si la cáscara del aguacate contiene compuestos antimicrobianos entonces inhibirá el crecimiento de *Escherichia Coli*, *Vibrio Cholerae*, *Staphylococcus Aureus* y *Streptococcus pneumoniae*.

## **III. MARCO TEÓRICO.**

### **a) Herbolaria**

Las propiedades curativas de las plantas no han cambiado, lo que fue hace mil años una hierba curativa sigue siéndolo (PLANTAS MEDICINALES, 1987).

El hombre prehistórico observó que cuando los animales parecían enfermos comían con frecuencia plantas, así fue como nuestros antepasados comenzaron a usar estas plantas y descubrieron en muchos casos efectos curiosos causados por las plantas como el insomnio, laxación y somnolencia etc (*op cite*).

Para un herbolario las hierbas curativas incluyen todas las plantas con propiedades medicinales y se les ha clasificado en tres grandes grupos: china, europea y la indígena americana. Los químicos del siglo XIX aprovecharon los principios activos de las plantas que ahora se sintetizan de manera artificial en laboratorios químicos (*op cite*).

### **b) Resistencia de las bacterias a los fármacos**

El uso de los antibióticos ha tenido una repercusión muy importante en la medicina moderna por la capacidad de curar infecciones bacterianas que amenazan la vida; sin embargo, desafortunadamente las mutaciones genéticas bacterianas, han permitido el desarrollo de cepas de bacterias resistente a antibióticos (Freeman, 1982).

La resistencia bacteriana a antibióticos, es un grave problema de salud en la actualidad, la cual consiste en que las bacterias, crean mecanismos de defensa (resistencia), frente a los antibióticos, con la consiguiente pérdida de acción de estos medicamentos; muchas cepas bacterianas son resistentes a uno o más antibióticos, por lo tanto los médicos deben ensayar distintas terapias antes de encontrar el antibiótico efectivo (*op cite*).

El problema es grave, porque infecciones, que antes eran sensibles o susceptibles a ciertos antibióticos ya no lo son, debido a que las bacterias transmiten mediante mecanismos genéticos genes de resistencia de una bacteria a otra, lo que imposibilita al antibiótico para realizar su efecto bactericida (*op cite*).

En nuestro país el problema de la Resistencia Bacteriana a Antibióticos, es más grave porque no se han tomado las medidas pertinentes del caso, para controlar este problema; no se realizan estudios de vigilancia de infecciones producidas por bacterias resistentes, no hay control en el uso indiscriminado de antibióticos, que complica el problema, por la falta de conocimiento de los servidores de salud y ausencia de comité de infecciones en los hospitales, que regulen y controlen el uso de los antibióticos (Levinson y Jawetz, 1999).

### c) Bacterias

- *Escherichia coli* es uno de los muchos grupos de bacterias que viven en los intestinos de los humanos sanos y en la mayoría de los animales de sangre caliente. Esta bacteria ayuda a mantener el equilibrio de la flora intestinal normal (flora bacteriana) contra las bacterias nocivas y sintetiza o produce algunas vitaminas. No obstante, existen cientos de tipos o cepas de bacterias *E. coli*. Una cepa de *E. coli* en particular, conocida como *E. coli* O157:H7, causa una grave infección intestinal en los humanos; es la cepa más común que causa enfermedades en las personas. Y produce una potente toxina que daña el revestimiento de la pared intestinal y causa diarrea con sangre. También se conoce como infección entero hemorrágica por *E. coli* (Levinson y Jawetz, 1999).

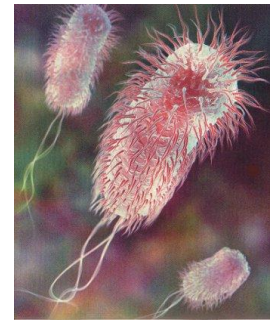


Foto 1. *Escherichia coli*

- *Vibrio cholerae* presenta dos variedades de *V. cholerae* que son potencialmente patógenas para los humanos. El principal tipo que causa el cólera es *V. cholerae* O1, y el otro tipo es conocido como no O1, sólo infecta a los humanos y a otros primates, causando una enfermedad menos severa que el cólera. Tanto las cepas patogénicas como las no patogénicas del organismo son habitantes normales de los ambientes marinos y de los estuarios. En el pasado, este organismo ha sido referido como Vibrio no cólera (VNC) y como Vibrio no aglutinadle (VNA).



Foto 2. *Vibrio cholerae*

Los síntomas del cólera pueden variar desde una diarrea leve y acuosa hasta una diarrea severa (*op cite*).

- *Staphylococcus aureus* es un microorganismo muy resistente a las condiciones ambientales y extremadamente difícil de erradicar; pese a que no es esporulado (formas de resistencia elaboradas de forma natural por algunos microorganismos), soporta bien condiciones extremas aunque se inactiva a temperatura de congelación y puede eliminarse con una cocción correcta. Secreta una toxina termoestable que hace a este patógeno muy resistente (*op cite*).

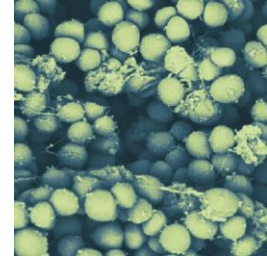


Foto 3. *Staphylococcus aureus*

- *Streptococcus pneumoniae*. Los neumococos causan neumonía, meningitis e infecciones de las vías respiratorias como otitis y sinusitis. Son cocos esféricos en forma de lanceta ordenados por pares o cadenas cortas en agar-sangre producen hemólisis alfa; posee capsulas de polisacáridos con más de 85 tipos antígenos distintos estas capsulas son factores de virulencia es decir alteran la fagocitosis y favorecen la invasividad (*op cite*).

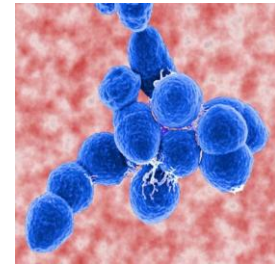


Foto 4. *Streptococcus pneumoniae*

**d) *Persea americana***



Mejor conocido como “aguacate.” Es de color verde oscuro y en ocasiones morado oscuro casi negro dependiendo de la variedad y grado de madurez. Su tamaño, aunque dependiente de la variedad es de cerca de 10 cm de largo y su diámetro máximo de unos 6 cm. Posee un alto contenido de aceites vegetales, por lo que se le considera un excelente alimento en cuanto a nutrición, además se ha descubierto que el aceite de

aguacate posee propiedades antioxidantes. Es rico en grasa vegetal que aporta beneficios al organismo (Castleman, 1997).

Entre sus principales usos están el alimenticio y de manera tradicional se utiliza como planta medicinal. Su fruto y aceites son ampliamente utilizados como productos de belleza tanto para la piel y cabello, y sus hojas para la elaboración de expectorantes (Castleman, 1997).

Según datos de 2004 México es el principal productor, superando el millón de toneladas anuales, luego en segundo lugar se encuentra Estados Unidos, en tercer lugar Chile y luego Sudáfrica. América concentra el 60% de las plantaciones mundiales (Castleman, 1997).

**IV. OBJETIVOS**

- Evaluar la actividad antimicrobiana de la cáscara del aguacate.
- Extraer por polaridad los compuestos activos de la cáscara de aguacate.
- Dar a conocer las propiedades medicinales del aguacate.

## V. MATERIALES Y METODOLOGÍA.

### Materiales

|                      |                            |                    |
|----------------------|----------------------------|--------------------|
| 1 Kg de aguacate     | 100 ml de metanol          | Autoclave          |
| 4 Vidrios de Reloj   | 100 ml de acetato de etilo | Asas de siembra    |
| 100 ml de hexano     | 30 Cajas de Petri          | Micropipetas       |
| 100 ml de cloroformo | Agar Mueller Hinton        | 2 mecheros Fisher  |
| 1 Matraz             | Papel filtro               | Cepas bacterianas. |

### Procedimiento

- Obtención de Bacterias.

Las cepas bacterianas de *Escherichia coli* con número ATCC 53-218, *Vibrio cholerae* caso clínico no patógeno, *Staphylococcus aureus* con número ATCC 29213 y *Streptococcus pneumoniae* con clave ATCC 19430 fueron proporcionadas por el Laboratorio de Fitoquímica de la FES Iztacala.

- Obtención de Muestra

De 1 Kg de aguacate se obtuvieron solo las cáscaras, se pesaron, se dividieron y se colocaron en matraces Erlenmeyer.

- Extracción de solventes por Polaridad

Se colocaron 52g de cáscara de aguacate por matraz; al primero se le agregaron 100 ml de hexano, al segundo 100ml de metanol, al tercero 100 ml de cloroforma y al cuarto 100 ml de acetato de etilo. Se dejó reposar por 7 días.

- Preparación del Agar

Se suspendieron 38g del polvo en un litro de agua purificada, se mezcló perfectamente y se calentó agitando frecuentemente hasta la disolución. Se esterilizó a 121°C durante 15 min. Se prepararon 30 cajas de petri con 30 ml de agar y se dejaron reposar hasta que enfriaron. Posteriormente se incubaron a 37°C por 24 horas para prueba de esterilidad.

- Preparación del Inoculo

Con una micro pipeta se inocularon los discos colocando 2µl del extracto por sensidisco. El control positivo fue Cloranfenicol y el control negativo los solventes utilizados.

- Difusión en Agar

Una vez realizada la prueba de esterilidad se sembraron las bacterias por estrías utilizando un asa de siembra (Anexo 1). Posteriormente se incubaron las cajas a 37°C por 24 horas y se leyeron los halos de inhibición.

## VI. RESULTADOS.

Una vez evaporados los solventes, se raspo el extracto y se calculó el rendimiento.



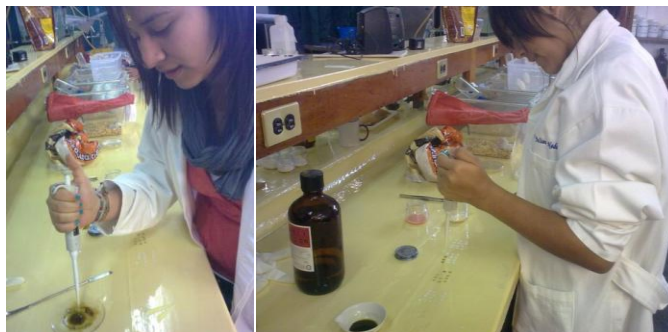
### Extractos de la Cáscara de Aguacate.

| Nombre           | Rendimiento |
|------------------|-------------|
| Metanólico       |             |
| Hexánico         |             |
| Cloroformo       |             |
| Acetato de etilo |             |

Tabla 1. Rendimiento en gramos de los extractos de la cáscara de *Persea Americana*

En esta tabla se observa el rendimiento de los extractos, siendo el más abundante el metanólico, seguido por el extracto clorofórmico, acetato de etilo y finalmente el hexánico.

Calcular el rendimiento es importante ya que nos permite saber la cantidad de compuesto activo por Kg de aguacate. Para poder identificar el compuesto activo se requiere de una cromatografía por columna con sephadex y de pruebas microbiológicas.



Fotografía que muestra la preparación de los sensidiscos.

Los discos se colocaron de la siguiente manera: El control positivo cloranfenicol en el centro, en cada uno de los puntos cardinales de la caja un extracto distinto y el control negativo se intercalo entre dos extractos.

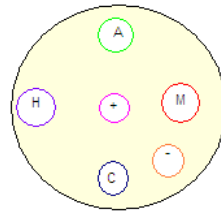


Diagrama de ubicación de discos en cajas. A-acetato de etilo, H-hexano, M-metanol y C-cloroformo.



#### Actividad antimicrobiana de los extractos de la cáscara de Aguacate con *Escherichia coli*

En esta serie de fotografías podemos apreciar que únicamente presentaron actividad antimicrobiana los extractos de hexano y cloroformo. El primero con un promedio en el halo de inhibición de 1.3 cm, el segundo con un halo inhibitorio de 2.6 cm. Por lo tanto *Escherichia coli* es más sensible al extracto de cloroformo de la cáscara de *Persea americana*.



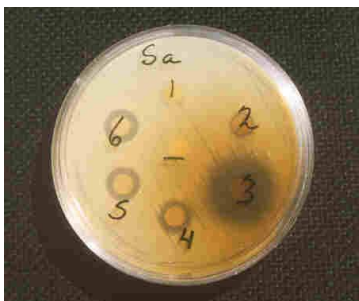
Fotografía en la que se observa la actividad antimicrobiana de los extractos del aguacate sobre *Streptococcus pneumoniae*.

En estas fotografías podemos observar que *Streptococcus pneumoniae* es una cepa resistente para los extractos de *Persea americana*, ya que únicamente el extracto de cloroformo presentó halo de inhibición, pero es un halo muy pequeño de 0.6 cm.



Fotografías donde se observa el desarrollo de *Vibrio cholerae* como clínico no patógeno y su respuesta a los extractos de *Persea americana*.

Para *Vibrio cholerae* caso clínico no patógeno el extracto que presentó actividad antimicrobiana es el de Acetato de etilo, con un halo de inhibición de 2.7 cm, un rango muy amplio, ya que el control positivo tuvo un halo inhibitorio de 3.0 cm; ninguno de los otros extractos presentaron actividad antimicrobiana.



**Actividad antimicrobiana de los extractos de *Persea americana* sobre *Staphylococcus aureus*.**

La actividad de los extractos en *Staphylococcus aureus* es muy limitada, solo se presentó una actividad considerable con el extracto de cloroformo.

| Bacteria             | Hexano | Metanol | Acetato de etilo | Cloroformo |
|----------------------|--------|---------|------------------|------------|
| <i>E. coli</i>       | ++     | --      | --               | ++++       |
| <i>S. pneumoniae</i> | --     | --      | --               | +          |
| <i>V. cholerae</i>   | +      | --      | ++++             | --         |
| <i>S. aureus</i>     | +      | +       | +                | ++++       |

**Tabla en la que se observa la sensibilidad de las bacterias a los extractos de la cáscara de *Persea americana*.**

En esta tabla se puede observar la sensibilidad de las cepas bacterianas a los extractos de la cáscara de aguacate. El extracto más efectivo fue el clorofórmico ya que presentó muy buena actividad antimicrobiana con *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y una actividad moderada con *Streptococcus pneumoniae*.

El extracto más inocuo fue el metanólico, mientras que los extractos de acetato de etilo y hexano tuvieron una actividad moderada.

## VII. CONCLUSIONES.

Mediante este trabajo logramos demostrar que se pueden inhibir bacterias exitosamente, usando los extractos de la cáscara del aguacate.

La cáscara de *Persea americana* contiene compuestos químicos que inhiben el crecimiento y el desarrollo de bacterias comunes como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae* caso clínico no patógeno.

Las bacterias se seleccionan resistentes a los antibióticos constantemente, la falta de supervisión en la ingesta de los medicamentos ayuda a que los patógenos adquieran la capacidad de tolerar los fármacos; el uso de la medicina tradicional es una excelente opción para contrarrestar y combatir a los microorganismos.

México es un país en el que el aguacate se cultiva de manera exitosa y por lo tanto se podrían sintetizar los compuestos activos de la planta sin ningún problema.

El extracto con mayor rendimiento es el metanólico que no presentó actividad antimicrobiana con ninguna cepa bacteriana.

La cepa más sensible a los extractos de *Persea americana* fue *Staphylococcus aureus* que presentó halos moderados con metanol, hexano y acetato de etilo y un halo amplio con el extracto clorofórmico.

El extracto que presentó la mayor eficacia fue el de cloroformo al presentar actividad antimicrobiana con las 4 cepas bacterianas, siendo las más sensibles *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* caso clínico no patógeno y *Staphylococcus aureus*.

El extracto menos efectivo fue el metanólico.

La cepa más resistente a los extractos de *Persea americana* fue *Streptococcus pneumoniae*.

Es muy importante hacer conciencia en los individuos del peligro de la automedicación, ya que además de hacer que las bacterias sean más resistentes a los antibióticos corremos el riesgo de empeorar la situación o nuestra enfermedad. Terminar los tratamientos que nos indican los médicos ayuda a erradicar todas las colonias bacterianas y así evitar que las que sobrevivan transfieran los genes de resistencia a su descendencia.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- [www.Infojardin.net/fichas-medicinales/persea-americana.htm](http://www.Infojardin.net/fichas-medicinales/persea-americana.htm)
- Levinson y Jawetz, (1999). MICROBIOLOGÍA E INMUNOLOGÍA, El manual moderno. México. 121 y 122 pp
- Freeman, (1982). TRATADO DE MICROBIOLOGIA DE BURROWS. Interamericana. México. 440-44pp.
- Castleman. (1997). HIERBAS CURATIVAS. Diana. México. 9 y10 pp.

- PLANTAS MEDICINALES (1987). Reader's digest. México P 100.
- Collins C. y Lyne, P. (1989). MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS. Acribia. S.A. España. pp. 149-211.
- Finegold, S., y Barón, E. (1991). DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO. 7ª edición. Médica Panamericana. Argentina. pp.