

Determinación antibacteriana *in vitro* de *Menthostachys mollis* (Muña) frente a bacterias orales de importancia estomatológica

Karin Díaz L.¹ Hilda Moromi N.^{2*}

¹ Bachiller en Odontología
² Departamento Académico de Ciencias Básicas, Microbiología
* Facultad de Odontología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú
E-mail: hmbio@hotmail.com

Antibacterial *in vitro* determination of *Menthostachys mollis* (Muña) opposite to oral bacterial stomatological importance

Resumen

Con el objetivo de determinar la acción antimicrobiana del aceite esencial de *Menthostachys mollis* (Muña); en diseño al azar se enfrentó cepas estándares ATCC de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetencomitans* y *Actinomyces sp*, a: Amoxicilina (testigo positivo), aceite esencial de *Menthostachys mollis* y, agua destilada (testigo negativo); para medir los halos de acción antimicrobiana. Para las citadas bacterias se halló, respectivamente, en Amoxicilina los siguientes diámetros promedios en mm: 68; 42,75; 50,5; 51,58 y 33,25; en *Menthostachys mollis*: 16,50; 14,38; 20,13; 18,43 y 11. Estos resultados son estadísticamente diferentes. No se observó halo en el testigo negativo. Se concluye que *Menthostachys mollis* tiene efectos antimicrobianos sobre las bacterias orales más importantes, con una media de 16,75 mm de diámetro del halo.

Abstract

With the aim to determine the antimicrobial action of the essential oil of *Menthostachys mollis* (Muña); in design at random one strains standard ATCC of *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetencomitans* and *Actinomyces sp*, to: Amoxicilina (positive witness), essential oil of *Menthostachys mollis* and, distilled water (negative witness); to measure the halos of antimicrobial action. For the mentioned bacteria one found, respectively, in Amoxicilina the following diameters averages in mm: 68; 42,75; 50,5; 51,58 and 33,25; in *Menthostachys mollis*: 16,50; 14,38; 20,13; 18,43 and 11. These results are statistically different. Halo of antimicrobial action was not observed in the negative witness. One concludes that *Menthostachys mollis* has antimicrobial effects on the most important oral bacteria, with an average of 16,75 mm of diameter of the halo.

Palabras clave: Acción antimicrobiana, Antibiosis, *in vitro*, bacterias orales, Amoxicilina, *Menthostachys mollis* (Muña).

Key words: Antibiosis, *in vitro*, oral bacteria, Amoxicilina, *Menthostachys mollis* (Muña).

Introducción

El advenimiento de la fitoterapia o terapia empírica con plantas medicinales para el tratamiento de diversas enfermedades, tanto orgánicas, nutricionales e infecciosas, han planteado la necesidad de estudiarlas en el marco del rigor científico. En varias plantas se han visto empíricamente y determinado metodológicamente principios activos de naturaleza antimicrobiana diversa. Una de tales plantas es la *Menthostachys mollis* (Mm), que ha demostrado efectos sobre una serie de microorganismos¹ y concretamente contra bacterias como *Shigella dysenteriae*, *Salmo-*

nella typhi y *Escherichia coli*². En tanto que Salmon³ no obtuvo efectos contra *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Sin embargo, Inga⁴ halló efectos contra *Staphylococcus aureus* ATT 25923, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* ATT 25922 y *Klebsiella pneumoniae*; así como contra *Fusarium moniliforme* y *Aspergillus niger*.

Por otro lado, en la cavidad bucal colonizan más de 400 especies de bacterias aerobias y anaerobias, algunas de ellas, ligadas a la etiología directa o indirecta de la caries dental y de la enfermedad periodontal.⁵

El efecto antimicrobiano de la *Mn* observadas en otras bacterias distintas como los de la cavidad bucal, al parecer, no han recibido la atención de la investigación científica correspondiente; por lo que el objetivo del presente estudio es evaluar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de la *Mn* contra las cepas estándar de la American Type Culture Collection (ATCC): *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus sp*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetencomitans* y *Actinomyces sp*.

Material y métodos

1. Obtención del aceite esencial de *Menthostachys mollis*.

Las hojas verdes y talluelos de *Mm* se colectaron en Huancayo, ubicado a 3 249 m de altitud. Se licuó 300 g en dos litros de agua destilada y sometida al proceso de hidrodestilación por arrastre en vapor de agua, durante cuatro horas; se obtuvo aproximadamente 2 ml de aceite esencial por cada destilación. Luego las alícuotas se conservaron en congelación a -20 °C en frascos de vidrio oscuro.

2. Cultivo de las cepas bacterianas.

Las cepas estándar: *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus* sp ATCC 10746, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Actinobacillus actinomicetencomitans* ATCC 43718 y *Actinomyces* sp ATCC 15214; fueron cultivadas en medios enriquecidos, correspondientes, y en condiciones de anaerobiosis a 37 °C por 24-72 horas.

3. Prueba para la determinación de la sensibilidad antibacteriana.

Para cada una de las cepas, bajo condiciones estériles se procedió a sembrar con un hisopo en cuatro placas Petri conteniendo Agar sangre para: *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Lactobacillus* sp ATCC 10746 y *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586; y en BHA y TSA para *Actinobacillus actinomicetencomitans* ATCC 43718, y Agar carne para *Actinomyces* sp ATCC 15214.

Luego con pinzas estériles se colocó un disco de Amoxicilina de 30 µg (control positivo), otro disco con agua destilada (control negativo) y dos discos embebidos en aceite esencial de *Mm*.

Seguidamente se incubaron en condiciones de anaerobiosis a 37 °C por 48-72 horas, para después proceder a la lectura de los resultados en términos de mm de diámetro de los halos de inhibición.

Resultados

En el Cuadro 1 y Fig 1, se observan los resultados de las acciones antibacterianas del control positivo (Amoxicilina) y de *Mm*, basados en las mediciones promedio de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano.

En general se puede apreciar los ma-

Cuadro 1. Diámetros de la acción antimicrobiana de Amoxicilina y *Menthostachys mollis* contra cepas bacterianas orales estandarizadas.

Bacteria	Amoxicilina			<i>Menthostachys mollis</i>		
	n	Ø mm*	D.S	n	Ø mm*	D.S
<i>Streptococcus mutans</i>	4	68,00 ^a	2,16	4	16,50 ^f	5,28
<i>Lactobacillus</i> sp.	4	42,75 ^b	2,22	4	14,38 ^g	2,93
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	4	50,50 ^c	6,45	4	20,13 ^h	1,31
<i>Actinobacillus actinomicetencomitans</i>	12	51,58 ^d	3,75	12	18,42 ⁱ	3,98
<i>Actinomyces</i> sp.	4	33,25 ^e	2,63	4	11,00 ^j	0,41

*Hay diferencia estadística, cuando las letrillas son diferentes.

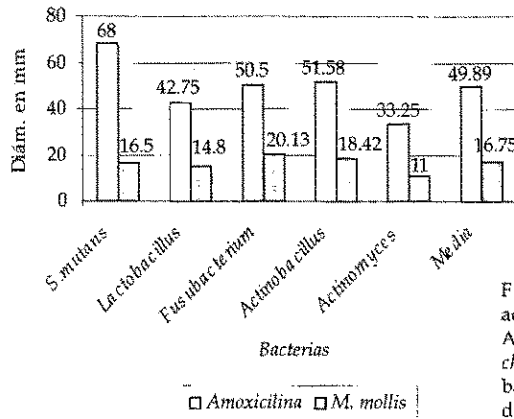


Fig 1. Diámetros de la acción antimicrobiana de Amoxicilina y *Menthostachys mollis* contra cepas bacterianas orales estandarizadas.

yores efectos de la Amoxicilina (49,89 mm), respecto a *Mm* (16,75 mm), estadísticamente diferentes ($p < 0,05$). Dentro del conjunto de Amoxicilina, también los resultados fueron diferentes ($p < 0,05$), notándose el mayor valor para *Streptococcus mutans*. En el conjunto de *Mm*, los resultados fueron diferentes para las diferentes cepas, siendo mayores en *Fusobacterium nucleatum* y en *Actinobacillus actinomicetencomitans*.

En los controles negativos no se observaron ningún halo de inhibición.

En las Figuras 2 al 5 se aprecian los halos de inhibición antibacteriana materias de la investigación. En la Fig 2 se aprecia los halos contra *Streptococcus mutans* generado por el disco (oscuro) de la Amoxicilina, el de mayor área; a la izquierda el disco del control negativo, sin halo; y en la parte inferior los dos discos de *Mm*, con halos pequeños.

En la Fig 3 se aprecia los halos contra *Lactobacillus* sp generado por el disco (oscuro) de la Amoxicilina, el de mayor área; a la derecha el disco del control negativo, sin halo; y en la parte inferior los dos

discos de *Mm*, con halos pequeños.

En la Fig 4 se aprecia los halos contra *Fusobacterium nucleatum* generado por el disco (oscuro) de la Amoxicilina, el de mayor área; a la izquierda el disco del control negativo, sin halo; y en la parte inferior los dos discos de *Mm*, con halos de menor tamaño.

En la Fig 5 se aprecia los halos contra *Actinobacillus actinomicetencomitans* generado por el disco (oscuro) de la Amoxicilina, el de mayor área; a la izquierda el disco del control negativo, sin halo; y en la parte inferior los dos discos de *Mm*, con halos de menor tamaño.

Discusión

El aceite esencial de *Menthostachys mollis* ha demostrado tener propiedades antibacterianas *in vitro* contra las bacterias orales estandarizadas como: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomicetencomitans* y *Actinomyces* sp; que son conformantes de la flora bacteriana bucal. Si bien la actividad antibacteriana en términos de tamaño del halo de inhibición fue

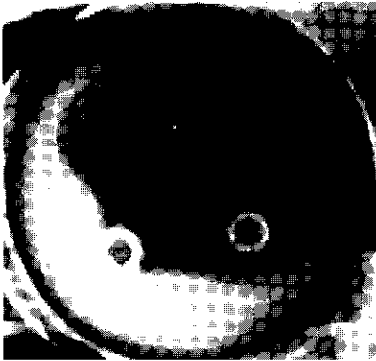


Fig 2. Halos de inhibición contra *Streptococcus mutans*: Discos superiores, en el lado izquierdo el control negativo, y el derecho, oscuro, el disco con Amoxicilina; y en la parte inferior los discos con *Menthostachys mollis*.

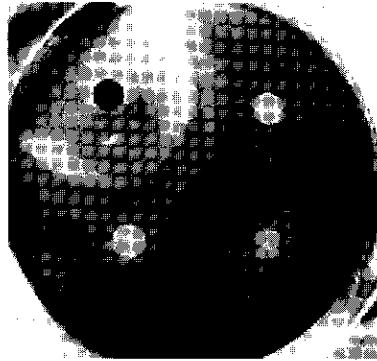


Fig 3. Halos de inhibición contra *Lactobacillus* sp: Discos superiores, en el lado izquierdo el disco oscuro con Amoxicilina, al lado derecho el control negativo, y en la parte inferior los discos con *Menthostachys mollis*.

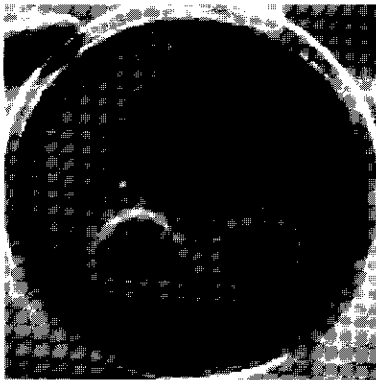


Fig 4. Halos de inhibición contra *Fusobacterium nucleatum*: Discos superiores, en el lado izquierdo el control negativo, en el derecho, oscuro, el disco con Amoxicilina; y en la parte inferior los discos con *Menthostachys mollis*.

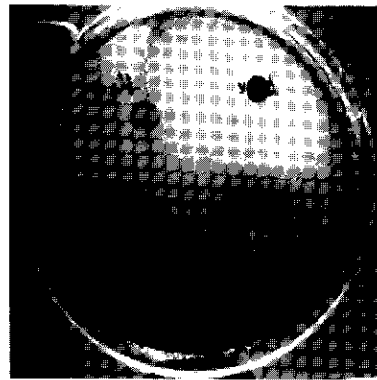


Fig 5. Halos de inhibición contra *Actinobacillus actinomicetenum*: Discos superiores, en el lado izquierdo el control negativo, en el derecho, oscuro, el disco con Amoxicilina; y en la parte inferior los discos con *Menthostachys mollis*.

notoriamente menor a la generada por el control positivo Amoxicilina; también hubo evidencia de actividad antibacteriana por efecto del aceite esencial de *Mm*. Hasta qué nivel tal halo de inhibición puede tener efectos antibacterianos terapéuticos, eso será materia de nuevas investigaciones.

El orden de acción antibacteriana encontrada y ordenada de mayor a menor, fue la siguiente: *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomicetenum*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp y *Actinomyces* sp.

A la luz de la investigación bibliográfica realizada, al parecer este es el primero en la búsqueda de resultados similares; y por consiguientes no es posible ensayar comparaciones.

Los resultados sugieren la necesidad de otros nuevos estudios, similares o complementarios, en vías de verificar o profundizar las bondades antibacterianas de la *Menthostachys mollis*, que ya ha demostrado tales acciones contra otras bacterias, especialmente entéricas.^{2,3} La patología oral de origen infeccioso es tan importante, y cualquier conocimiento que ayude a su tratamiento, control y al eventual desarrollo de resistencia bacteriana a los biocidas, siempre será una alternativa bienvenida; máxime proveniente de una fuente nativa.

Conclusiones

1. El aceite esencial de *Menthostachys mollis* ha demostrado tener propiedades antibacterianas *in*

vitro contra las bacterias orales estandarizadas: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomicetenum* y *Actinomyces* sp.

2. La bacteria más sensible a la Amoxicilina fue *Streptococcus mutans*, con un diámetro de 68 mm de inhibición, y la menos sensible *Actinomyces* sp con 33,25 mm.
3. Para el caso de *Menthostachys mollis*, la cepa más sensible fue *Fusobacterium nucleatum* con 20,13 mm de inhibición, seguida por *Actinobacillus actinomicetenum* con 18,42 mm y la menos sensible *Actinomyces* sp con 11 mm.

Agradecimiento

A la Dra. Dora Maurtua Torres de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por la donación de la cepa de *S mutans* ATCC.

Referencias

1. Primo V, Rovera M, Zanón S, Oliva M, Demo M, Daghero J, et al. Determinación de la actividad microbiana y antiviral del aceite esencial de *Menthostachys verticillata* (Griseb) Epiing. Rev Argentina Microbiol. 2001;33(2):133-137
2. Contreras G. Actividad antimicrobiana del aceite esencial *Menthostachys mollis* (muña) frente a bacterias enteropatógenas. [Tesis Biólogo]. Universidad Nacional Agraria La Molina: Facultad de Biología. 1983.
3. Salmon Barrantes Laurence Romel. Contribución al estudio de la especie vegetal (*Menthostachys mollis*) KuntGriseb, «Muña» en los aspectos fotoquímico, toxicológico y bromatológico. Tesis Facultad de Farmacia. UNMSM 1994
4. Inga A, Guerra B. Efecto del aceite esencial de *Menthostachys mollis* (Muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud. [Tesis Químico Farmacéutico]. Facultad de Farmacia y Bioquímica: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2000.
5. Axelsson P. Diagnosis and Risk Prediction of Periodontal Diseases. Chicago: Quintessence Publishing Co, Inc. 2002:1.