

ARTÍCULO ORIGINAL

Actividad antibacteriana de *Plantago major*, *Eucalyptus globulus* y *Matricaria chamomilla*, frente a *Streptococcus mutans*

Antibacterial activity of Plantago Major, Eucalyptus globulus and Matricaria chamomilla against Streptococcus mutans

Lysanne del Carmen Carranza Villaty¹  

RESUMEN

Introducción: Debido al consumo indiscriminado de fármacos, muchas bacterias han comenzado a mostrar resistencia. No obstante, cada vez hay más investigaciones que buscan soluciones a este problema, y para lograrlo indagamos en los beneficios médicos de determinadas plantas sobre la cavidad oral y su menor efecto tóxico. El 10 % de las plantas a nivel mundial se usan con fines medicinales. El Instituto Nacional de Cáncer indica que el 67 % de los fármacos tiene su origen en la naturaleza, y el 25 % derivan de las plantas.

Objetivo: Determinar el efecto inhibitorio del crecimiento in vitro de los extractos de *Plantago major*, *Eucalyptus globulus* y *Matricaria chamomilla* a diferentes concentraciones (100 %, 50 %, 25 % y 12,5 %) sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Métodos: Estudio cuasiexperimental, in vitro, longitudinal y prospectivo. El universo estuvo formado por las cepas *Streptococcus mutans*, y la población por las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). El tamaño de la muestra se basó en el método estandarizado del CLSI. La muestra fueron 10 discos por extracto, embebidos con 50 uL., colocados sobre agar Mueller Hinton con sembrado de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Se realizaron las medidas de los halos de inhibición a las 24 horas. Se usaron pruebas paramétricas de análisis de varianza y la prueba Tukey.

Resultados: El halo inhibitorio promedio de la clorhexidina al 0,12 % fue de 12,76 mm ($p = 0,006$). El extracto de "eucalipto" al 25 % presentó diferencias significativas respecto a los otros grupos ($p = 0,040$), al 50 % ($p = 0,002$) y al 100 % ($p = 0,000$).

Conclusiones: El extracto hidroalcohólico de *Eucalyptus globulus* al 100 % presentó efecto inhibitorio frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) in vitro.

Palabras clave: *Plantago major*; *Eucalyptus globulus*; *Matricaria chamomilla*; *Streptococcus mutans*; in vitro.

ABSTRACT

Introduction: Due to the indiscriminate consumption of drugs, many bacteria have begun to show resistance. However, there is more and more research that seeks solutions to this problem, and to achieve this they investigate the medical benefits of certain plants on the oral cavity and its less toxic effect. 10% of the world's plants are used for medicinal purposes. The National Cancer Institute indicates that 67% of drugs originate in nature, and 25% are derived from plants.

Objective: Determine the inhibitory effect of in vitro growth of the extracts of *Plantago major*, *Eucalyptus globulus* and *Matricaria chamomilla* at different concentrations (100%, 50%, 25% and 12.5%) on strains of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175).

Methods: Quasiexperimental, in vitro, longitudinal and prospective study. The universe was formed by the strains *Streptococcus mutans*, and the population by the strains of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). The sample size was based on the standardized CLSI method. The sample was 10 discs per extract, embedded with 50 uL., placed on Mueller Hinton agar with *Streptococcus mutans* seeding (ATCC 25175). Inhibition halo measurements were performed at 24 hours. Parametric analysis of variance tests and the Tukey test were used.

Results: The average inhibitory halo of 0.12% chlorhexidine was 12.76 mm ($p = 0.006$). The extract of "eucalyptus" at 25% showed significant differences with respect to the other groups ($p = 0.040$), 50% ($p = 0.002$) and 100% ($p = 0.000$).

Conclusions: The hydroalcoholic extract of *Eucalyptus globulus* at 100% presented inhibitory effect against *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) in vitro.

Key words: *Plantago major*; *Eucalyptus globulus*; *Matricaria chamomilla*; *Streptococcus mutans*; in vitro.

INTRODUCCIÓN

Las especies bacterianas acidogénicas - acidúricas más relevantes en la cavidad oral que se relacionan con la enfermedad de la caries dental son *Streptococcus mutans* (iniciadores), *Bifidobacterium* spp, y *Lactobacillus acidophilus* (potenciadores del progreso).^(1,2) Aunque *S. mutans* no actúa como único agente causal, altera el medio, haciéndolo rico

en polisacáridos extracelulares en pH bajo.⁽³⁾

Recibido: 09/05/2021
Aceptado: 31/03/2022

¹Universidad Nacional de Trujillo, Departamento de Estomatología. Facultad de Ciencias Médicas. Trujillo, Perú.



Con el consumo indiscriminado de fármacos, las bacterias han mostrado resistencia. Para solucionar esto, hay investigaciones que buscan encontrar los beneficios médicos de determinadas plantas, con el menor efecto tóxico. A la fecha, el 10 % de las plantas a nivel mundial se usan con fines medicinales.⁽⁴⁾ Y el Instituto Nacional de Cáncer indica que el 67 % de los fármacos tiene origen en la naturaleza, y que el 25 % derivan de plantas.⁽⁵⁾

El Plantago major es una hierba medicinal introducida hace 4000 años aproximadamente en países nórdicos.⁽⁶⁾ Estudios como los de Eduardo y otros⁽⁷⁾, Choque⁽⁸⁾, Gontijo y otros⁽⁹⁾ demostraron su poder antibacteriano en *S. mutans* y *P. gingivalis* a nivel in vitro.

La introducción del *Eucalyptus* spp data del siglo XVIII, donde se usaba en la fisioterapia occidental. Estudios como los de Cahuana⁽¹⁰⁾, Vela⁽¹¹⁾, Meléndez⁽¹²⁾, Chaudhari⁽¹³⁾ y Coswing⁽¹⁴⁾ demostraron su poder antibacteriano en *S. mutans*, *S. aureus* y *S. sobrinus*, bacterias relacionadas con la enfermedad de caries dental; y en *F. nucleatum* y *P. gingivalis*, relacionadas con enfermedades periodontales.

La *Matricaria chamomilla* tiene propiedades antibacterianas, antiinflamatoria, antifúngica y antiulcerígena. Estudios como los de Andonayre⁽¹⁵⁾, Jáuregui⁽¹⁶⁾ y Acuña⁽¹⁷⁾ demostraron su eficacia antibacteriana sobre *S. mutans* y *P. gingivalis*.

El objetivo fue determinar el efecto inhibitorio del crecimiento in vitro de los extractos en concentraciones (100 %, 50 %, 25 % y 12,5 %) sobre cepas de *S. mutans* (ATCC 25175).

MÉTODOS

El estudio fue cuasiexperimental, in vitro, longitudinal y prospectivo. El universo estuvo conformado por las cepas *S. mutans*, la población fueron las cepas *S. mutans* (ATCC 25175) y el tamaño muestral estuvo basado en el método estandarizado del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Se realizaron 10 repeticiones por cada grupo.

La parte experimental y el registro de datos se realizó en el laboratorio de microbiología InvBiomed de la ciudad de Cajamarca, Perú.

Las variables del estudio fueron: Extractos hidroalcohólicos de las plantas *E. globulus*, *P. major* y *M. chamomilla* (a concentraciones de 12,5 %, 25 %, 50 % y 100 %); gluconato de clorhexidina al 0,12 % (control positivo); alcohol al 96° (control negativo); y actividad antibacteriana (evaluada según la escala de Duraffourd).

No se trabajó con seres humanos ni animales, por lo que no se requirió de consideraciones especiales.

Técnica y procedimiento de obtención de la información

Obtención de extractos hidroalcohólicos

Se recolectó 2 kg de cada planta, libres de hongos, se lavó con agua destilada, se secó por 72 horas a 56°, y se pulverizó. Se pesó 50 g de cada planta y se agregó 300 mL de alcohol 70°, en un matraz evitando la entrada de luz. Se usó el método de agitación constante, a 300 revoluciones por minuto, por 24 horas. Se filtró con algodón, y papel filtro n.° 41, n.° 2, y n.° 1. Se almacenó cada extracto en frascos de vidrio color ámbar.

Medio de cultivo

Se pesó en 34,2 g de agar Mueller-Hinton, y se agregó 900 mL de agua destilada, esterilizándolo a 121 °C con 15 libras de presión atmosférica por 15 minutos. Se procedió a agregar 45 mL de sangre de cordero previamente desfibrinada, en un ambiente estéril. Después se colocó 30 mL del medio en placas de Petri de 90 mm de diámetro interno, y se dejó enfriar por 30 minutos.

Reactivación de la cepa

Se reactivó la cepa *S. mutans* (ATCC 25175), incubándola en dos tiempos a 36 °C ± 1 por 15 min y luego por 24 h después del sembrado en el agar Mueller Hinton, a una turbidez de 0,5 según la escala de McFarland, donde se incubó por 3 h a 36 °C.

Diluciones de los extractos

Se realizó diluciones de cada extracto de mayor a menor concentración con micropipetas, para 2 mL de extracto se agregó 2 mL del alcohol al 96°.

Susceptibilidad in vitro

Se realizó la siembra en las placas de Petri con agar sangre de cordero, mediante la técnica por rayado de hisopo. Se realizó este procedimiento 10 veces por dilución (fig. 1).





Fig. 1 - Sembrado de cepa *S. mutans* en agar sangre de carnero desfibrinada (5 %).

Se impregnó los discos con 50 uL de cada dilución por 15 min y se colocó en las placas cultivadas. Se incubó por 24 h a $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ en ambiente de anaerobiosis.

Medición de los halos inhibitorios

La medida de los halos de inhibición fue a las 24 h, con una regla vernier digital marca Mitutoyo. Se usó el método de Kirby Bauer.

Los resultados se procesaron en el programa Microsoft Excel 2017 y se creó una base de datos en el programa estadístico SPSS versión 25. Los resultados presentaron normalidad por lo que se eligieron pruebas paramétricas, dentro de ellas para determinar las diferencias entre grupos múltiples. Se usó análisis de varianza y para determinar el grupo con la diferencia se usó la prueba Tukey, ambas con el 95 % de confianza.

RESULTADOS

El extracto de *E. globulus* al 100 % presentó un halo inhibitorio promedio de 8,4 mm siendo sensible según la escala de Duraffourd (fig. 2). Los otros extractos, a las concentraciones usadas no mostraron efecto inhibitorio según Duraffourd. Sin embargo, se encontró que el extracto de *P. major* al 100 %, el extracto de *E. globulus* al 25 % y 50 %, presentaron diferencias estadísticamente significativas frente a los otros grupos, con un nivel de significancia del 5 %. El máximo halo inhibitorio fue del control positivo con 12,76 mm (fig. 3)



Fig. 2 - Halo de inhibición de *Eucalyptus globulus* al 100 %.

DISCUSIÓN

El estudio evaluó los halos inhibitorios considerando el método de Kirby Bauer. Cahuana y Condori(10) también demostraron que los extractos etanólicos de *Eucalyptus globulus* sobre cepas de *S. mutans* mostraban efectividad inhibitoria a las concentraciones al 50 % y al 100 %, siendo sensibles según la escala de Duraffourd.

Yáñez y Cuadro(18) encontraron que el aceite de *E. globulus* al 100 % mostró halos de inhibición de 10 mm, mientras que al 60 % halos de 7,2 mm en promedio; coincidiendo con los resultados encontrados donde al 100 % mostró sensibilidad según Duraffourd, y al 50 % mostró sensibilidad nula con un halo inhibitorio promedio de 7,5 mm.



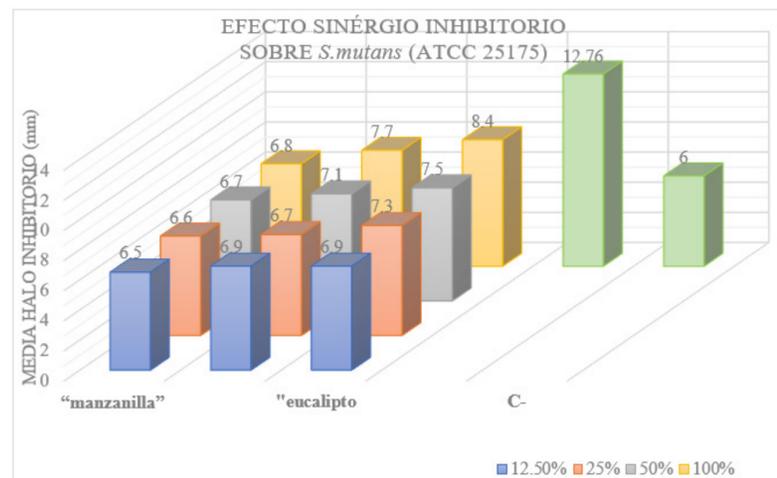


Fig. 3 - Efecto inhibitorio del crecimiento *in vitro* en diferentes concentraciones (12,5 %, 25 %, 50 %, 100 % y C+) según los extractos de *Plantago mayor* (llantén), *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y *Matricaria chamomilla* (manzanilla) sobre cepas *S. mutans* (ATCC 25175).

Rivera(19) también encontró que el extracto hidroalcohólico de P. mayor a las concentraciones de 25 % y 50 %, sobre cepas de S. mutans, mostró una sensibilidad nula. No se coincidió con Sharma(20) quien encontró que el E. globulus al 50 % y 100 % tenía sensibilidad nula sobre S. mutans.

CONCLUSIONES

Existe efecto inhibitorio sobre cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) *in vitro* en la concentración de 100 % del extracto de *Eucalyptus globulus*, y a mayor concentración, halos inhibitorios mayores.

Se recomienda hacer estudios cromatográficos, para identificar los componentes del E. globulus, así como sus principios activos, para determinar cuáles son los que actúan frente al *Streptococcus mutans* a nivel *in vitro*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Conrads G, About I. Pathophysiology of Dental Caries. En: Schwendicke F, Frencken J, Innes N, editors. Caries Excavation: Evolution of Treating Cavitated Carious Lesions. New York: Karger; 2018. pp. 1-10.
- Mathur V, Dhillon J. Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. Indian J Pediatr; 2018 [Acceso: 10/03/2019]; 85(3):2020-206. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28643162/>
- Lemos J, Palmer S, Zeng L, Wen Z, Kajfasz J, Freires I, et al. The Biology of *Streptococcus mutans*. Microbiol Spectr; 2019 [Acceso: 26/08/2019]; 7(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30657107/>
- Maldonado C, Paniagua N, Bussmann R, Zenteno F, Fuentes A. La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19). Ecol Boliv; 2020 [Acceso: 03/05/2020]; 7(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30657107/>
- Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An Fac med; 2016 [Acceso: 12/04/2019]; 77(4):327-32. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002
- Pretel O, Hilario J, Calderon A, Torres P, Mostacero J, De la Cruz A. Efecto del llantén (*Plantago mayor*) como antioxidante en hipotermia profunda y reperfusión experimental en conejos (*Oryctolagus cuniculus*). Rev. Tayacaja; 2020 [Acceso: 05/05/2020]; 3(1):141-50. Disponible en: <http://revistas.unat.edu.pe/index.php/RevTaya/article/view/77>
- Eduardo P, Juárez D, Morante N, Tejero P. Efecto antibacteriano *in vitro* de los extractos hidroetanólicos de *Prosopis pallida* (algarrobo), *Ruta graveolens* (ruda), *Plantago mayor* (llantén) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668 [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista]. Piura: Facultad de ciencias médicas, Universidad César Vallejo; 2018. Disponible en: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/26353>
- Choque N. Efectividad del enjuague bucal de *Matricaria chamomilla* frente al de *Plantago mayor*, en el control de la placa bacteriana en adolescentes de 15 a 16 años en la I.E.S. Juan Bustamante de Lampa, 2017 [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista]. Puno: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Antiplano; 2017. Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/5470>
- Gontijo C, Silva L, Correa M, Pizzolitto A, Bauab T. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. Rev. Bras. Cienc. Farm; 2006 [Acceso: 15/03/2019]; 42(3):395-404. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322006000300008
- Cahuana L, Condori T. Efectividad inhibitoria *in vitro* del extracto etanólico de *Eucalyptus globulus* sobre cepas de *Streptococcus mutans* y *Candida albicans* [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista]. Puno: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Antiplano; 2017. Disponible en: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/4181>
- Vela L. Estudio comparativo *in vitro* del efecto antibacteriano del extracto etanólico de eucalipto con gluconato de clorhexidina sobre el *Streptococcus mutans* [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista]. Trujillo: Facultad de Estomatología, Universidad Nacional de Trujillo; 2017. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/7534>
- Meléndez J. Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* "Eucalipto" sobre *Streptococcus pyogenes* y *Pseudomonas aeruginosa* [Tesis para obtener el grado de bachiller en medicina]. Trujillo: Facultad de medicina, Universidad Nacional de Trujillo; 2017. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/11319>
- Chaudhari L, Jawale B, Sharma S, Sharma H, Kumar C, Kulkarni P.



Antimicrobial activity of commercially available essential oils against *Streptococcus mutans*. *J Contemp Dent Pract*; 2012 [Acceso: 28/04/2019]; 13(1): 71-4. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22430697/>

14. Coswing J, Edmilson J, Jacob R, Fiorentini A, Padilha W. Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*. *Ind Crops Prod*; 2014 [Acceso: 01/03/2019]; 60:304-9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669014003094>

15. Andonayre Y. Efecto antibacteriano del aceite esencial de hojas de *Matricaria chamomilla* "manzanilla" sobre *Streptococcus mutans* comparado con Azitromicina. Estudio in vitro [Tesis para obtener el título profesional de médico cirujano]. Trujillo: Facultad de ciencias médicas, Universidad César Vallejo; 2019. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12692/40298>

16. Jáuregui G. Efecto antibacteriano in vitro del colutorio a base de *Matricaria chamomilla* (manzanilla) a diferentes concentraciones sobre la cepa ATCC 2652263 de *Streptococcus mutans* [Tesis para obtener el grado de bachiller en estomatología]. Trujillo: Facultad de medicina, Universidad Nacional de Trujillo; 2013. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/592>

17. Acuña S. Crecimiento de *Streptococcus mutans* frente al colutorio experimental a base de *Matricaria chamomilla* (Manzanilla) a diferentes concentraciones comparado con el colutorio experimental de clorhexidina al 0,12 % [Tesis de maestría]. Lima: Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2014. Disponible en: <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/1170>

18. Yáñez X, Cuadro O. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies *Eucalyptus globulus* y *E. camaldulensis* de tres zonas de Pamplona (Colombia). *Bistua*; 2012 [Acceso: 02/04/2019]; 10(1):52-61. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/903/90326398003.pdf>

19. Rivera B. Efecto de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos hidroalcohólicos a base de llantén (*plantago mayor*) y té verde (*camellia sinensis*), a la concentración del 25 %, 50 % y 100 % sobre *Streptococcus mutans* [Tesis para obtener el título profesional de cirujano dentista]. Arequipa: Facultad de Odontología, Universidad Católica de Santa María; 2015. Disponible en: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/3352>

20. Sharma H, Yunus G, Mohapatra A, Kulshrestha R, Agrawal R, Kalra M. Antimicrobial efficacy of three medicinal plants *Glycyrrhiza glabra*, *Ficus religiosa*, and *Plantago major* on inhibiting primary plaque colonizers and periodontal pathogens: An in vitro study. *Indian J Dent Sci*; 2016 [Acceso: 17/03/2019]; 27(2):200-4. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27237214/>

CONFLICTO DE INTERESES

La autora declara que no tiene conflicto de intereses.

CONTRIBUCIÓN DE LA AUTORA

Investigación: Lysanne del Carmen Carranza Villaty.

Metodología: Lysanne del Carmen Carranza Villaty

Recursos: Lysanne del Carmen Carranza Villaty.

Redacción-revisión y edición: Lysanne del Carmen Carranza Villaty.

