

ARTÍCULO ORIGINAL

Actividad antimicrobiana de los extractos de *Luffa cylindrica L.*

Antimicrobial activity of *Luffa cylindrica L.* extracts.

Caridad de la Paz Lorente;¹ Francisco de los Angeles Cañete;² Aliuska Castillo Mompié;³ Javier Frías Tamayo.⁴

¹ Ingeniera Química. Máster en Química Biológica. Asistente. Filial de Ciencias Médicas Haydeé Santamaría. Manzanillo. Granma. E-mail: cpaz@ftec.grm.sld.cu

² Licenciado en Tecnología de la Salud en la especialidad de Microbiología. Máster en Enfermedades Infecciosas. Instructor. Hospital Clínico-Quirúrgico Docente Celia Sánchez Manduley. Manzanillo. Granma.

³ Licenciada en Biología. Máster en Química Biológica. Asistente. Filial de Ciencias Médicas Haydeé Santamaría. Manzanillo. Granma.

⁴ Ingeniero Agrónomo. Máster en Química Biológica. Asistente. Filial de Ciencias Médicas Haydeé Santamaría. Manzanillo. Granma.

Resumen

El trabajo estuvo orientado a la comprobación de la acción antimicrobiana de los extractos elaborados a partir de la planta *Luffa cylindrica L* obteniéndose las tinturas al 20 %, los extractos hexánicos, clorofórmicos, acetato de etilo, acuosos y los correspondientes extractos secos de tallos, hojas y fruto verde. En ensayos microbiológicos *in vitro* las tinturas al 20 % de hojas y tallos y los extractos en diferentes solventes presentaron acción antimicrobiana frente a cepas de referencia y salvaje de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y cepa salvaje de *Candida sp*. Al igual que los extractos obtenidos del fruto. La eficacia de los extractos fue evaluada por comparación con modelos empleados actualmente por el sistema de salud.

Descriptores DeCS: LUCCA; FITOTERAPIA

Abstract

The work was aimed at checking the antimicrobial action of extracts made from the *cylindrica L.* plant, obtaining tinctures to 20 %, the hexanic, chloroformic, aqueous, ethyl acetate and the corresponding dry extracts of stems, leaves and green fruits. In microbiological *in vitro* assays tinctures to 20% of leaves and stems and extracts in different solvents presented antimicrobial action against strains of reference and wild *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and wild strain of *Candida sp*. As well as the extracts obtained from the fruit. The effectiveness of the extracts was assessed by comparison with models currently used by the health system.

Subject heading: LUCCA; PHYTOTHERAPY

Introducción

El aumento de microorganismos resistentes a los agentes antimicrobianos es el principal problema al que se enfrenta la ciencia médica, por lo que es una necesidad ampliar el arsenal terapéutico mediante el descubrimiento de moléculas bioactivas, que pueden ser halladas a partir de las plantas medicinales que han sido utilizadas de forma tradicional por la población debido a sus propiedades antimicrobianas.

Dentro de las plantas de la flora cubana se encuentra la especie *Luffa cylindrica L.*, que se utiliza de forma tradicional para afecciones tales como eczema, tiña, fiebre, se le atribuyen propiedades antiparasitarias, antimicrobianas, antihidrópicas, vermífugas, antiblenorrágicas, antihelmínticas, etc. ¹

A pesar del uso múltiple de la planta, las propiedades medicinales atribuidas no han sido comprobadas, por lo que se establece esta especie para la investigación declarando como Problema: Insuficiente estudio de los extractos de *Luffa cylindrica L* con interés antimicrobiano y como Objetivo General: Evaluar las propiedades antimicrobianas *in vitro* de la planta *Luffa cylindrica L.*

Método

Se seleccionó la planta *Luffa cylindrica L*, atendiendo a reportes populares sobre su empleo. La materia prima vegetal se colectó en el mes de noviembre del 2009, en La Rufina, Manzanillo, Granma. Su identificación fue confirmada en el Laboratorio de Botánica de la Universidad de Granma, se corroboró con el ejemplar N: 14559 ubicado en BIOECO, museo "TOMAS ROMAY", en Santiago de Cuba. El material vegetal después de clasificado se lavó, desinfectó con hipoclorito de sodio al 0,01 % y fue secado a la sombra a temperatura ambiente durante diez días, y durante 3h, a una temperatura de 60 oC en estufa con circulación de aire, marca WSU 400.

Formulaciones: Se procedió a elaborar tintura al 20 %, por maceración a partir de los tallos, hojas, y fruto verde y sus extractos secos y a partir de extracciones sucesivas con solvente (hexano, cloroformo, acetato de etilo y agua) se obtuvieron los extractos secos. A estas formulaciones se le realizó ensayos microbiológicos *in vitro* por el método de Bauer- Kirby.

Evaluación de la actividad antibacteriana: Se empleó el método de difusión en agar por diseminación superficial en disco Bauer-Kirby según la NCCLS, se utilizaron cepas de referencia internacional (ATCC): *Escherichia coli* (ATCC 113-3), *Staphylococcus aureus* (ATCC 15008) y 3 cepas salvajes de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida sp* aisladas en el Laboratorio de Microbiología del HCQD "Celia Sánchez M".

La identificación y tipificación de estas cepas se realizaron conforme a perfiles bioquímicos y a las recomendaciones del Manual de Microbiología Clínica.² Se emplearon discos de antibióticos comerciales (Sensi-DiscTM Francia) de amplio espectro para las cepas, se empleó discos de Ciprofloxacin (CIP) de 5 µg y Fluconazole (FLU) de 25 µg.

Para la evaluación de la actividad de las tinturas y extractos secos se resuspendieron 100 mg de cada uno los extractos secos en 1 mL de dimetilformamida, de esta solución se aplicaron 6 µL en discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro para una concentración final de 600 mg/disco de extracto. Una vez cargados los discos con cada una de las soluciones se dejaron secar a 50 °C por 15 min antes de dispensarlos en las placas inoculadas.

Se midió en milímetro la zona de crecimiento del microorganismo en 5 direcciones (00, 450, 900, 1350 y 1800), tomando como resultado el valor promedio de estas mediciones. Las lecturas se efectuaron a las 24, 48 y 72 horas de incubación. Este ensayo se realizó por triplicado.

Resultados

En la tabla 1 se muestran los resultados de la evaluación de la acción antibacteriana *in vitro* de las formulaciones obtenidas, frente a *Escherichia coli* (ATCC 113-3) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 15008) donde se observa que en los extractos del tallo existió una actividad bacteriana satisfactoria con halos de inhibición entre 7 y 10 mm frente a *E. coli* (ATCC), y frente a *S. aureus* (ATCC), con halos de inhibición entre 7mm y 9 mm. La fase con mejor resultado fue la clorofórmica con halos de inhibición de 9 mm y 10 mm. La tintura al 20 % tuvo actividad con halo de inhibición de 8 mm para ambos microorganismos mientras que su extracto seco no. En el caso de las hojas presentó actividad la tintura al 20 % con halo de inhibición de 9 mm y el resto de las extracciones con halos de inhibición entre 8 y 11 mm frente a la *E. coli*. La fase con actividad similar para ambos microorganismos fue la de acetato de etilo con halo de inhibición de 10 mm. En el fruto verde la fase clorofórmica fue la de mayor actividad con halos de inhibición de 9 mm y 10 mm.

En la tabla 2 se muestran los resultados de la evaluación de la acción antimicrobiana *in vitro* de las formulaciones frente a 3 cepas salvajes: *E. coli*, *S. aureus* y *Candida sp*, se observa que en los extractos del tallo excepto en el acuoso se presenta una actividad biológica frente a *E. coli* con halos de inhibición entre 7 mm y 8 mm para las formulaciones y frente a *S. aureus* no tuvo actividad biológica el extracto, el resto de las formulaciones presentó actividad biológica con halos de inhibición entre 8 mm y 10 mm.

Frente a la *Candida sp* excepto el extracto acuoso el resto de las formulaciones tuvieron actividad biológica con halos de inhibición entre 8 mm y 12 mm. La tintura de tallos al 20 % tuvo mejor actividad con halos de inhibición entre 8 mm y 12 mm que su extracto seco con

halos de inhibición entre 7 mm y 8 mm. Estos resultados son un nuevo reporte de actividad antimicrobiana. En las hojas no presentó actividad antimicrobiana el extracto seco proveniente de la tintura al 20 %. Se presentó actividad biológica frente *E. coli* y *S. aureus* con halo de inhibición de 8 mm en la tintura y en el resto de los extractos entre 8 mm y 10 mm y frente a la cepa de *Candida sp* fue la actividad biológica más significativa con halos de inhibición entre 10 mm y 12 mm. La fase de mayor actividad biológica fue la de acetato de etilo. En los extractos del fruto verde, el extracto seco presentó acción frente a la *Candidasp* con un halo de inhibición de 9 mm.

En el caso de *S. aureus* presentó actividad biológica las extracciones sucesivas con halos de inhibición entre 8 mm y 10 mm que pudiera atribuirse a la presencia de metabolitos que son solubles en estos disolventes. El único extracto acuoso que presentó actividad antimicrobiana fue el del fruto pero frente a *E. coli* con un halo de inhibición de 10 mm. Se evidencia que las cepas de *S. aureus* y *E. coli salvaje*, son sensibles (S) a (CIP) y la *Candidasp* es sensible (S) frente a el Fluconazol (FLU).

Discusión

Los resultados de la tabla 1 no se encuentran registrados por lo que constituyen un nuevo reporte de actividad antibacteriana. Los extractos acuosos de las tres partes evaluadas no tuvieron actividad biológica.

Estos resultados demuestran que las partes de la planta en estudio, presentan metabolitos secundarios con actividad biológica frente a bacterias Gram positiva como el *Staphylococcus aureus* y Gram negativa como *Escherichia coli*.

En esta investigación se obtuvo un mejor resultado con halo de inhibición de la tintura de 9 mm y también Oyetayo F.L evaluó un extracto clorofórmico que mostró un halo de inhibición de 8 mm, en este trabajo se obtuvo mejor resultado ya que en el extracto clorofórmico se mostró halo de inhibición de 11mm. Los extractos mostraron halos de inhibición entre 9 mm y 25 mm frente a la cepa de *S. aureus*, existiendo coincidencia en la actividad con lo reportado por Oyetayo F.L, donde se evaluaron dos extractos alcohólicos frente *S. aureus* que mostraron halos de inhibición de 6 mm y de 9 mm, respectivamente y un extracto clorofórmico mostró un halo de inhibición de 8 mm, en este trabajo se obtuvo mejor resultado ya que en el extracto clorofórmico se mostró un halo de inhibición de 9 mm, además se demostró el mejor resultado de actividad biológica del extracto seco de la tintura con un halo de inhibición de 25 mm resultado bastante cercano al del medicamento utilizado como control positivo que fue el CIP con halo de inhibición de 30 mm lo que pudiera atribuirse a que en el extracto seco hay mayor concentración de los metabolitos secundarios y que es una bacteria con características diferentes ya que es Gram positiva.³

Los controles negativos (etanol al 70 % y DMF) no inhibieron el crecimiento de ninguna de las cepas bacterianas evaluadas por lo que los resultados obtenidos no estuvieron influidos por el solvente. Los resultados son satisfactorios, pues hay que tener en cuenta la diferencia de las concentraciones de los principios activos entre los discos de antibióticos comerciales y los que contienen los extractos vegetales evaluados de *Luffa cylindrica L*, ya que los discos comerciales de antibióticos contienen el principio activo puro, en tanto los discos con papel de filtro que contienen los extractos vegetales las concentraciones reportadas se refieren a la gran variabilidad de metabolitos secundarios presentes en ellos y no a un principio activo puro.¹ Los resultados de la tabla 2 son satisfactorios, ya que los discos antibióticos comerciales contienen el principio activo puro mientras los que contienen los extractos vegetales las concentraciones se deben a la gran variabilidad de metabolitos secundarios presentes.

La fase con mejor resultado de actividad biológica fue la hexánica con halos de inhibición de 9 mm y 10 mm, existiendo coincidencia en la actividad biológica frente a *E. coli* reportada por Ismail Md y et al (2010), donde se mostró actividad de un extracto en éter de petróleo frente a *E. coli* (BTCC-172) con un halo de inhibición de 7 mm y para *Candida albicans* con un halo de inhibición de 7 mm, en este trabajo se obtuvo mejores resultados de actividad biológica.⁴ Los estudios realizados se centran fundamentalmente en la semilla y el fruto, no se ha realizado la comprobación de las propiedades antimicrobianas del tallo, no se han estudiado de manera conjunta los tres órganos, ni se han comprobado sus propiedades en nuestro país, por lo que este resultado es el principal aporte que tiene el trabajo.⁵

Conclusiones

Las tinturas al 20 % de hojas y tallos y sus extractos presentaron acción antimicrobiana frente a cepas de referencias y salvajes de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* y cepa salvaje de *Candida sp.*

Similares resultados se obtuvieron para los extractos del fruto evaluados frente a estos microorganismos.

Referencias Bibliográficas

1. Roig JT. Plantas medicinales aromáticas o venenosas de Cuba. T II. [Internet] La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1974. [citado 20 febrero 2012] Disponible en: http://books.google.es/books/about/Plantas_medicinales_arom%C3%A1ticas_o_veneno.html?hl=es&id=IYtXAAAMAAJ

2. Murray PR. Manual of Clinical Microbiology. [Internet] Washington, D.C.: ASM Press; 1999 [citado 4 abril 2011] Disponible en: <http://www.worldcat.org/title/manual-of-clinical-microbiology/oclc/39914150>
3. Oyetayo FL, Oyetayo VO, Ajewole V. Phytochemical profile and antibacterail properties of the seed and leaf of the *Luffa Plant (Luffa cylindrica)*. Journal of Pharmacology and Toxicology [Internet] 2007 [citado 30 marzo 2012]; 2(6): [aprox. 10p.]. Disponible en: <http://scialert.net/abstract/?doi=jpt.2007.586.589>
4. Ismail MD, Hussain Mohammad M, Mohamad G, Dastagir Masum G, Billah M, Quader Abdul. Phytochemical and antimicrobial investigation of Luffa cylindrica. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas [Internet] 2010 [citado 13 febrero 2012]; 9 (4): [aprox. 6p.] Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/856/85615225003.pdf>
5. Rodríguez CM. Pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos. En: Llop Hernández A, Valdés-Dapena Vivanco M, Zuaso Silva JL. Microbiología y Parasitología Médicas. T III. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. p. 609-618.

Bibliografía Consultada

- Abreu Guirado OA, Cuéllar Cuéllar A. Estrategias en la selección de las TAPIA CV. Actualización de pruebas de susceptibilidad antifúngica. Rev Chil Infectol. [Internet] 2009 [citado 30 marzo 2012]; 26(2): [aprox. 5p.] Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182009000200005
- Medina Núñez Z. Acciones independientes de enfermería. [Internet] Ciudad de la Habana: Editorial Ecimed; 2005. [citado 22 enero 2012]. Disponible en: <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-000-00---0enfermeria--00-0-0enfermeria-0prompt-10---4---0-0-0-1l-0-1-ru-50---20-about--4-00031-001-1-0gbk-00--0-1l--11-es-50---20-home---00-3-1-00-0-0-11-1-0utfZz-8-00&a=d&c=enfermeria&cl=CL1&d=HASH01b814fd18e9ca425f66e784>
- Seoane Gallo J. El folclor médico de Cuba. [Internet] La Habana: Editorial Ciencias Sociales; 1993. [citado 20 febrero 2012] Disponible en: <http://books.google.es/books?id=NMUnAQAAIAAJ&dq=El+folclor+m%C3%A9dico+de+Cuba&hl=es&sa=X&ei=IBCxT-ydCaL46QHlzdSMCQ&ved=0CDsQ6AEwAA>
- Torres Jiménez IB, Quintana Cárdenes IJ. Análisis comparativo sobre el empleo de plantas medicinales en la medicina tradicional de Cuba e Islas Canarias. Rev Cubana Plant Med [Internet] 2004 [citado 30 marzo 2012]; 9(1): [aprox. 11p.]. Disponible

en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000100012

Anexos

Tabla 1. Resultados del ensayo *in vitro* de la actividad antibacteriana de los extractos secos y tinturas de *Luffa cylindrica L* frente a cepas ATCC.

Partes de la planta	Extractos	Halos de inhibición (mm)	
		E. coli (ATCC)	S. aureus (ATCC)
Tallos	Seco de tintura	-	-
	Tintura	8	8
	Hexánico	7	7
	Clorofórmico	10	9
	Acetato de etilo	10	7
	Ciprofloxacin	31	30
Hojas	Seco de tintura	-	25
	Tintura	9	9
	Hexánico	8	9
	Clorofórmico	11	9
	Acetato de etilo	10	10
	Ciprofloxacin	30	30
Fruto verde	Seco de tintura	-	-
	Tintura	-	-
	Hexánico	10	7
	Clorofórmico	10	9
	Acetato de etilo	9	7
	Ciprofloxacin	31	31

Tabla 2. Resultado del ensayo *in vitro* de la actividad antimicrobiana de los extractos secos y tinturas de *Luffa cylindrica L* frente a cepas salvajes.

Partes	Extractos	Halos de inhibición (mm)		
		E. coli	S. aureus	Candida
Tallos	Seco de tintura	7	-	8
	Tintura	8	9	12
	Hexánico	8	10	10
	Clorofórmico	8	8	9
	Acetato de etilo	8	10	9
	Ciprofloxacin	30	30	
	Fluconazol			35
Hojas	Seco de tintura	-	-	-
	Tintura	8	8	10
	Hexánico	9	9	10
	Clorofórmico	9	8	10
	Acetato de etilo	9	10	12
	Ciprofloxacin	30	30	
	Fluconazol			35
Fruto Verde	Seco de tintura	-	-	9
	Tintura	-	-	-
	Hexánico	10	9	9
	Clorofórmico	7	8	10

	Acetato de etilo	8	10	9
	Acuoso	10	-	-
	Ciprofloxacin	30	30	
	Fluconazol			35

Recibido: 23 abril 2012.

Aprobado: 3 mayo 2012.