

## **Efecto antimicrobiano de hojas de *Melaleuca leucadendron L*, que crece en la Ciénaga de Zapata**

Antimicrobial effect of the leaves of *Melaleuca leucadendron L* growing in Ciénaga de Zapata

### **AUTORES**

Dra. Emma Guevara Pérez (1)

**E-mail:** [emmag.mtz@infomed.sld.cu](mailto:emmag.mtz@infomed.sld.cu)

Dra. Tamara Cabrera Dorta (2)

Dra. Tatiana Peña Ruiz (3)

Dra. Caridad J. Fernández Rodríguez (4)

Lic. Idanys Quintana Guevara (5)

Lic. Erix Fernández Rodríguez (6)

1) Máster en Microbiología Clínica. Profesora Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Juan Guiteras Gener. Matanzas.

2) Especialista de I Grado en Fisiología. Profesora Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Juan Guiteras Gener. Matanzas.

3) Especialista de II Grado en Periodoncia. Profesora Auxiliar. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Juan Guiteras Gener. Matanzas.

4) Especialista de I Grado en Parasitología. Profesora Asistente. Universidad de Ciencias Médicas Dr. Juan Guiteras Gener. Matanzas.

5) Licenciada en Contabilidad y Finanzas. Empresa ALMEST. Matanzas.

6) Licenciado en Computación. Empresa ALMEST. Matanzas.

### **RESUMEN**

*Melaleuca leucadendron L* es una planta comúnmente conocida como cayepu, que constituye una especie invasora y no deseada en la Ciénaga de Zapata, en la provincia de Matanzas. Por los usos que se refieren pudiera explotarse de forma razonable como antimicrobiano. Como objetivo, se pretendió determinar la actividad antimicrobiana en el extracto fluido obtenido de las hojas de la planta que crece silvestre en el mencionado territorio. El extracto se obtuvo mediante reperlación y el ensayo se realizó *in vitro*, utilizando los métodos de difusión en agar y dilución en medio líquido, enfrentando las diferentes concentraciones del extracto a bacterias, levadura y hongos filamentosos. Se demostró efecto microbicida del extracto para todos los microorganismos probados, estableciendo valores de concentración mínima inhibitoria, mínima bactericida y mínima fungicida; el efecto se mantuvo estable durante cuatro años. Estos resultados confirman el propósito de usar como antimicrobiano la materia prima vegetal en exceso disponible en la región. Se recomienda tener en cuenta lo discutido en el estudio en cuanto a los efectos indeseables, para lo que se requieren otros estudios que profundicen en tal sentido, y se observe la evaluación riesgo-beneficio a fin de usar la planta en la práctica médica con las precauciones que de igual forma demandan reconocidos antimicrobianos.

## DeCS

MELALEUCA/microbiología  
PLANTAS MEDICINALES/microbiología  
PLANTAS MEDICINALES/parasitología  
EXTRACTOS VEGETALES/microbiología  
EXTRACTOS VEGETALES/parasitología  
EXTRACTOS VEGETALES/uso terapéutico  
CONTROL DE RIESGO/métodos  
CIÉNAGA DE ZAPATA  
MATANZAS  
CUBA

## INTRODUCCIÓN

Las numerosas y variadas especies vegetales que existen en Cuba constituyen una fuente potencial de materia prima para la búsqueda de compuestos que proporcionen efecto farmacológico. Este propósito resulta más razonable si se tienen en cuenta los recursos naturales abundantes en el territorio, tal es el caso de *Melaleuca leucodendron* L, planta que pertenece a la familia Myrtaceae, comúnmente conocida como cayeput. Existen formulaciones con el aceite esencial, y de los extractos obtenidos de las hojas se conocen múltiples efectos (1), incluyendo resultados que ofrecen posibles respuestas a la urgente búsqueda de antimicrobianos a que se nos ha llamado mundialmente. Teniendo en cuenta este reclamo y los antecedentes mencionados de esta planta, considerada una especie invasora y no deseada que causa pérdidas económicas y de biodiversidad importantes en la Ciénaga de Zapata, se evaluó el mencionado efecto medicinal para explotarla de forma prudente como antimicrobiano. Se empleó el extracto fluido obtenido de las hojas, y mediante el método de difusión en agar y dilución en medio líquido, se probaron 11 microorganismos que incluyeron bacterias, levadura y hongos filamentosos.

Se formularon como objetivos determinar la actividad antimicrobiana *in vitro* en el extracto fluido obtenido de las hojas de la planta que crece silvestre en la Ciénaga de Zapata, determinar los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI), concentración mínima bactericida (CMB) y concentración mínima fungicida (CMF) del extracto frente a los microorganismos susceptibles, así como la estabilidad del mismo para mantener el efecto ensayado durante cuatro años de estudio. (2,3)

## MÉTODOS

**Extracto vegetal:** La planta se seleccionó entre las especies presentes en la biodiversidad vegetal silvestre de la Ciénaga de Zapata, en la provincia de Matanzas. El extracto se obtuvo de las hojas mediante el método de repercolación, con un 21,6 % de sólidos totales, utilizando como menstruo alcohol al 80 %; el extracto se conservó en frasco ámbar a 25 °C durante cuatro años de estudio.

**Microorganismos de ensayo:** Se emplearon bacterias y levaduras de referencia internacional depositadas en el American Type Culture Collection (ATCC), y hongos de origen clínico frecuentemente aislados en el medio:

<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 15006	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Trichophyton rubrum</i> , origen clínico	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> , origen clínico	<i>Microsporium canis</i> , origen clínico
<i>Epidermophyton floccosum</i> , origen clínico	<i>Aspergillus Níger</i> , origen clínico
<i>Aspergillus fumigatus</i> , origen clínico	

**Medios de cultivo:** Para bacterias, Caldo Mueller-Hinton, Agar Mueller-Hinton, Agar Nutriente; y para hongos, Caldo Sabouraud y Agar Sabouraud-dextrosa.

-Concentraciones (mg/mL): 216; 21,6; 2,16; 1,0; 0,5, 0,2; 0,1; 0,05 y 0,02.  
 -Controles (-): alcohol 80 % (+): Estreptomina 10mg/mL, Nistatina 4mg/mL y Ketoconazol 10mg/mL, sólo para controlar sensibilidad de cepas.

### Metodología empleada para determinar actividad antimicrobiana *in vitro*

La CMI se determinó mediante el método de difusión en agar, inoculando el medio, a partir de una concentración celular  $9 \times 10^6$  UFC/mL. Perforado este, se pipetearon 100 mL de las concentraciones del extracto y el control en los pocillos. Las bacterias y la levadura se incubaron 24 horas a 37 °C, mientras que los *Aspergillus* y Dermatófitos a 25 °C por 7 y 14 días, respectivamente; observando la aparición de contaminantes (4). La lectura se realizó atendiendo a la presencia del halo de inhibición del crecimiento. Para CMB y CMF se empleó el método dilución y se transfirieron alícuotas al medio agarizado libre de tratamiento. Los ensayos se repitieron periódicamente durante cuatro años de estudio.

### RESULTADOS

Se demostró efecto antibacteriano en el extracto fluido obtenido de las hojas de *Melaleuca leucadendron L*, con una CMI de 0,5 mg/mL (tabla No. 1) efectiva para todas las cepas probadas. El valor de la CMB destaca el doble de la antes mencionada y del mismo modo para todas las bacterias (tabla No. 2). El efecto antimicótico del extracto se comprobó con acción fungicida en la máxima concentración para todos los agentes probados (tablas Nos. 1 y 2). No se observó efecto del disolvente sobre los microorganismos y se justificó estable el efecto antimicrobiano durante cuatro años (tabla No. 3).

**Tabla No. 1. Inhibición del crecimiento microbiano y CMI del extracto fluido de las hojas de *Melaleuca leucodendron L***

Microorganismos	Concentraciones probadas mg/mL								Control		
	216	21,6	2,16	1,0	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02	NEG	POSIT
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	+
<i>B. subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	-	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	+	(+)	-				-	+
<i>E. coli</i>	+	+	+	+	(+)	-				-	+
<i>C. albicans</i>	+	(+)	-							-	+
<i>T. rubrum</i>	+	+	+	(+)	-					-	+
<i>T. mentagrophytes</i>	+	+	+	(+)	-					-	+
<i>M. canis</i>	+	+	+	(+)	-					-	+
<i>E. floccosum</i>	+	+	(+)	-						-	+
<i>A. niger</i>	+	+	(+)	-						-	+
<i>A. fumifatus</i>	+	+	(+)	-						-	+

Leyenda:

(+) CMI del extracto

+ Halo de inhibición

- poca o ninguna inhibición del microorganismo

**Tabla No. 2. CMB y CMF del extracto fluido de las hojas de *Melaleuca leucodendron L***

Microorganismos	Concentraciones probadas mg/mL									Control	
	216	21,6	2,16	1,0	0,5	0,2	0,1	0,05	0,02	NEG	POSIT
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	-	+
<i>B. subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	(+)	-	-	+
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	+	(+)	-					-	+
<i>E. coli</i>	+	+	+	(+)	-					-	+
<i>C. albicans</i>	(+)	-								-	+
<i>T. rubrum</i>	+	+	(+)	-						-	+
<i>T. mentagrophytes</i>	+	+	(+)	-						-	+
<i>M. canis</i>	+	+	(+)	-						-	+
<i>E. floccosum</i>	+	(+)	-							-	+
<i>A. niger</i>	+	(+)	-							-	+
<i>A. fumifatus</i>	+	(+)	-							-	+

Leyenda:

(+) Valor de CMB o CMF

+ Inhibe crecimiento microbiano

- no inhibe el crecimiento microbiano

**Tabla No. 3. Estabilidad del efecto antimicrobiano durante 4 años de estudio**

Microorganismos	Primer ensayo	Último ensayo
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	+	+
<i>Candida albicans</i>	+	+
<i>Trichophyton rubrum</i>	+	+
<i>Microsporum canis</i>	+	+
<i>Epydermophyton floccosum</i>	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	+	+

Leyenda: + Efecto mantenido del extracto

## DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo referente a bacterias grampositivas coinciden con los realizados en el aceite esencial de *Melaleuca leucadendron* venezolano (5), Al no referir la ausencia de actividad frente a *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, para los que en el ensayo que se discute sí se evidenció efecto bactericida, deben considerarse componentes diferentes del suelo, del extracto y del aceite empleado. Carballo Velásquez N, al ensayar con cepas de diferentes orígenes, y probar una solución oral de *Melaleuca*, no observó ventajas en la curación clínica para el tratamiento de la candidiasis orofaríngea (6). Por su parte, en este estudio, aunque sólo en la máxima concentración, resultó efectiva para el agente causal, y deben razonarse las condiciones para realizar el ensayo en este caso *in vitro* y no *in vivo*, como los señalados en la referida revisión. En estudios publicados en Brasil sobre el método para investigar actividad inhibitoria en productos naturales, incluyeron

resultados obtenidos del efecto bacteriostático y fungistático de *Melaleuca*, utilizando bacterias y levadura ATCC y método de difusión en agar con perforaciones, como el empleado en este ensayo (7).

En otras instituciones cubanas se alcanzaron resultados que coinciden con los de este trabajo, además se probaron efecto antiprotozoal (9); otros demostraron actividad antimalárica (8), antihelmíntica, antiviral, además de insecticida, incluso como repelente (1,10,11). Los mencionados efectos comprobados en *Melaleuca leucadendron* L sobre diferentes agentes biológicos con disímiles grados de complejidad, sugieren pensar en posibles riesgos a tener en cuenta al emplearla en humanos. Una multiplicidad de investigadores, entre ellos cubanos, han demostrado efectos tóxicos, genotóxicos, irritantes, citotóxicos frente a células humanas, además se reportan limitaciones para el uso interno de preparados que contengan el aceite esencial, constituyente mayoritario y activo como antimicrobiano en esta planta (5,8,9,12-4). Se acentúa que en estudios anteriores realizados en este extracto se demostró un alto índice de segregación mitótica inducida como expresión de genotoxicidad en concentraciones iguales o mayores que 1,08mg/mL; en otros extractos de menor concentración de sólidos totales se obtuvieron similares resultados (13). En trabajos realizados por Fernández-Calienes y cols, al evaluar la toxicidad de 35 extractos de plantas cubanas clasificaron como extremadamente tóxico, y entre los más letales estudiados el de *Melaleuca leucadendron*, descartando la posibilidad de continuar estudios farmacológicos en la especie (15). No se discuten otros efectos ni posibilidades de explotación en esta planta, y se arriban a las siguientes conclusiones:

En este estudio se comprobó efecto bactericida y fungicida en el extracto fluido obtenido de las hojas de *Melaleuca leucadendron* L que crece en el Humedal de Importancia Internacional Ciénaga de Zapata, se determinaron los valores de CMI, CMB y CMF del extracto frente a los microorganismos de prueba, y se demostró estabilidad del mismo para mantener el efecto ensayado durante cuatro años de estudio.

Se recomienda explotar como antimicrobiano la materia prima vegetal en exceso disponible en la región, teniendo en cuenta lo discutido en este estudio en cuanto a los efectos indeseables, para lo que se requieren otros estudios que profundicen en tal sentido y se observe la evaluación riesgo-beneficio, a fin de usar la planta en la práctica médica con las precauciones que de igual forma demandan reconocidos antimicrobianos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Duke's J. Phytochemical and Ethnobotanical Databases Chemicals and their Biological Activities. In: *Melaleuca leucadendron*; 2009.
2. Ríos JL, Recio MC, Villar A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature. Spain J Ethofarmacology. 1988; (23): 127-54.
3. Bauer JM, Beronio CA, Rubino JR. Antibacterial activity of environmentally "green alternative products" tested in standard antimicrobial test and simulated in use assay. J-Environ-Health. 1995;57(7): 13-7.
4. Verpoorte R, Van Beek TA, Thomassen PHAM, Aandeweil J, Baerheim Svendsen A. Screening of antimicrobial activity of some plants belonging to the Apocynaceae and Loganiaceae. J Ethnopharmacology. 1983; (8): 287-302.
5. González de Colmenares N, Ojeda de Rodríguez G, Prieto A. Phytoconstituents and antimicrobial activity of *Melaleuca leucadendron* leaf essential oil from Venezuela. Rev Ciencia. 1998;6(2): 123-8.
6. Pienaar ED, Young T, Holmes H. Intervenciones para la prevención y el tratamiento de la candidiasis orofaríngea asociada con la infección por VIH en adultos y niños. La Biblioteca Cochrane Plus. 2008; 3.
7. Packer F, Luz M. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. Rev Bras Farmacogn. 2007; 17(1): 102-7.

8. Fernández-Calienes A, Mendiola J, Scull R, Vermeersch M, Cos P, Maes L. In vitro anti-microbial activity of the Cuban medicinal plants *Simarouba glauca* DC, *Melaleuca leucadendron* L and *Artemisia absinthium* L. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2008; 103(6): 615-8.
9. Rodríguez-Pérez M, Martínez JM, Rivero LR, Álvarez HMH, Valdez AFC, Rodríguez DA, et al. Evaluación de la actividad antimicrobiana de algunas plantas utilizadas en la medicina tradicional cubana. Rev Ciênc Farm Básica Apl. 2006 [citado 10 Feb 2010]; 27(3): 197-205. Disponible en <http://www.win2pdf.com/>
10. Amer A, Mehlhorn H. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. Parasitol Res. 2006; 99(4): 478-90.
11. Leyva M. Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas en larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Rev Cubana Med Trop. [online]. 2008 [citado 3 Feb 2010]; 60(1). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S037507602008000100012&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037507602008000100012&lng=es&nrm=iso)
12. Ministerio de Salud Pública. Plantas Medicinales. *FITOMED I*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1991.
13. Guevara E, González L, González R, Cabrera T, Medina R. Efecto genotóxico *in vitro* en *Melaleuca leucadendron* L. Rev Méd Electrón[Seriada en línea]. 2008[consulta 01 Mar 2010]; 30(2). Disponible en: <http://www.cpimtz.sld.cu/revista%20medica/ano%202008/vol2%202008/tema05.htm>
14. Quiñónez I. Editorial Dirección de Ciencia y Tecnología MINSAP. Rev Cubana Plant Med. 2002; 7(3): 127-8.
15. Fernández-Calienes A. Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. Rev Cubana Med Trop [online]. 2009[citado 3 Feb 2010], 61(3): 254-8. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S037507602009000300009&lng=es&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037507602009000300009&lng=es&nrm=iso)
16. Carballo Velásquez N, Acosta Pedroso B, Sánchez LM. Plantas tóxicas. *Melaleuca leucadendron* L. La Habana: Universidad de la Habana; 2007.

## SUMMARY

*Melaleuca leucadendron* L is a tree commonly known as cayeput, being an invasive, undesirable species in Ciénaga de Zapata, in the province of Matanzas. According to the referred usages, it might be exploited in a reasonable way as an antimicrobial agent. As our objective we pretended to determine antimicrobial activity in the fluid extract of the leaves of this tree wildly growing in the before mentioned territory. The extract was obtained by repercolation and the assay was carried out in vitro, using the methods of diffusion in agar and dilution in a liquid media. Different concentrations of the extract were used against bacteria, yeast, and filamentous fungi. The microbicidal effect of the extract was demonstrated for all the tested microorganisms, establishing values of minimal inhibitory, minimal bactericidal and minimal fungicidal effects of the concentration. The effect kept steady during four years. These results confirm the purpose of using as antimicrobial the raw vegetable material existing in excess in the region. It is recommended to take into account the matters discussed in the study according to the undesirable effects, so other studies are required to deepen in that sense. The evaluation risk-benefit should be observed to use the tree in the medical practice with the precautions also demanded by other well-known antimicrobials.

## MeSH

MELALEUCA/microbiology  
PLANTS MEDICINALS/microbiology  
PLANTS MEDICINALS/parasitology  
PLANT EXTRACTS/microbiology  
PLANT EXTRACTS/parasitology  
PLANT EXTRACTS/uso terapéutico  
RISK MANAGEMENT/methods  
CIÉNAGA DE ZAPATA  
MATANZAS  
CUBA

## CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

Guevara Pérez E, Cabrera Dorta Tamara, Peña Ruiz T, Fernández Rodríguez CJ, Quintana Guevara I, Fernández Rodríguez E. Efecto antimicrobiano de hojas de *Melaleuca leucadendron L*, que crece en la Ciénaga de Zapata. Rev Méd Electrón. [Seriada en línea] 2010;32(4). Disponible en URL: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202010/vol4%202010/tema04.htm>. [consulta: fecha de acceso]