

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

Número Publicado el 18 de enero de 2017

<http://dx.doi.org/10.23857/dom.cien.pocaip.2017.3.1.234-247>

URL: <http://dominiodelasciencias.com/ojs/index.php/es/index>

Correo: soporte@dominiodelasciencias.com

Ciencias Médicas (*ODONTOLOGÍA*)

Artículo Científico

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

Antibacterial effect of White and Purple Allium sativum (garlic) extract, and 0.12% Chlorhexidine Streptococcus mutans strains.

Efeito antibacteriano do extrato de Allium sativum (alho) branco, púrpura e clorexidina 0,12% sobre estirpes de Streptococcus mutans

Aranza F. Jiménez-García¹
Universidad Central del Ecuador
Quito, Ecuador
aranzajg@hotmail.com

María I. Zambrano-Gutiérrez²
Universidad Central del Ecuador
Quito, Ecuador
izambrano@uce.edu.ec; zamisabel@hotmail.com

Recibido: 12 de noviembre de 2016 * **Corregido:** 19 de diciembre de 2016 * **Aceptado:** 11 de enero 2017

¹Odontóloga, Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador.

²Docente, Facultad de Odontología, Universidad Central del Ecuador.

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

Resumen.

Objetivo: Determinar y comparar la efectividad antibacteriana del extracto de ajo blanco, ajo púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio de tipo experimental, prospectivo, in vitro comparativo, descriptivo, los extractos obtenidos por percolación se concentraron a 10%, 20%, 40% y 80%, después de activar la cepa se realizó la siembra a la escala 0,5 Mc Farland en 22 cajas Petri, 10 con agar Mueller Hinton más sangre al 2% y 12 con agar sangre, aplicando la técnica Kirby-Bauer, colocando las cuatro concentraciones mencionadas en cada caja, éstas fueron incubadas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24h al 5% de CO_2 ; se midió los halos de inhibición a las 24h. Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS versión 21 se aplicó el test estadístico de U de Mann Whitney. **Resultados:** No existen diferencias significativas entre el ajo blanco y púrpura, teniendo mayor efecto antibacteriano con el púrpura al 80% con un promedio de 22,9mm y el menor efecto con ajo blanco al 10% con un promedio de 11,2mm. **Conclusiones:** Los extractos hidroalcohólicos del ajo blanco y el púrpura muestran efectividad antibacteriana similar, la clorhexidina al 0,12% presentó mayor efectividad sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

Palabras clave: Efecto antibacteriano; *allium sativum*; clorhexidina; *Streptococcus mutans*.

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

Abstract.

Objective: Determine and compare the antibacterial effectiveness of extract of white garlic, purple garlic and Chlorhexidine 0.12% on *Streptococcus mutans* strains. **Materials and methods:** We performed an experimental, prospective, in vitro comparative, descriptive study of extracts obtained by percolation at 10%, 20%, 40% and 80% concentration. After activation, the strain was placed in 22 Petri dishes at 0.5 Mc Farland scale: 10 with Mueller Hinton agar plus 2% blood and 12 with blood agar applying the Kirby-Bauer technique, placing four concentrations in each box and incubated at 35 ± 2 ° C for 24h to 5% CO₂; Inhibition halos were measured at 24 h. Data was analyzed using the statistical package SPSS version 21 test of Mann Whitney U. **RESULTS:** There were no significant differences between white and purple garlic, with the highest antibacterial effect of purple garlic at 80% with an average of 22.9mm, and the lowest effect with 10% white garlic with an average of 11.2mm. **Conclusions:** Hydroalcoholic extracts of white and purple garlic show similar antibacterial effectiveness; 0.12% chlorhexidine presented greater effectiveness on *Streptococcus mutans* strains.

Key Words: Antibacterial effect; *allium sativum*; clorhexidine; *Streptococcus mutans*.

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

Resumo.

Objetivo: Determinar e comparar a eficácia antibacteriana do extrato de alho branco, alho púrpura e Clorexidina 0,12% sobre estirpes de *Streptococcus mutans*. **Materiais e Métodos:** Realizou-se um estudo de tipo experimental, prospetivo, in vitro comparativo, descritivo, os extratos obtidos por percolação com concentrações de 10%, 20%, 40% e 80%, depois da ativação da estirpe realizou-se o plantio na escala 0,5 Mc Farland em 22 placas de petri, 10 com ágar Mueller Hinton mais sangue 2% e 12 com ágar sangue, aplicando a técnica Kirby-Bauer, colocando as quatro concentrações ditas em cada placa, as quais foram incubadas a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas a 5% de CO_2 ; valoraram-se os halos de inibição ás 24 horas. OS dados foram analisados pelo pacote estatístico SPSS versão 21, teste estatístico de U de Mann Whitney foi aplicado. **Resultados:** Não existem diferenças significativas entre alho branco e púrpura, se obteve maior efeito antibacteriano com alho púrpura 80% com uma media de inibição de 22,9mm e o menor efeito com alho branco 10% com media de 11,2mm. **Conclusões:** Os extratos hidro-alcoólicos de alho branco e púrpura mostraram eficácia similar, a clorexidina 0,12% apresentou maior eficácia sobre as estirpes de *Streptococcus mutans*.

Palavras chave: Efeito antibacteriano; *allium sativum*; cloreexidina; *Streptococcus mutans*.

Introducción.

La microflora de la cavidad oral es muy diversa; hasta el 2001 se reconocían 500 especies, hoy en día se calcula que serían unas 700 las especies que habitan, ya que las técnicas de biología molecular han permitido establecer diferencias y así poder identificar diversos microorganismos y sus genes. (1)

La salud oral tiene gran influencia en la calidad de vida de una persona, y es más que la preservación de la integridad de los dientes y sus tejidos de soporte. Una comprensión de la relación entre la microflora oral y el huésped, y cómo esta relación se puede perturbar por factores exógenos y endógenos, es fundamental para entender las enfermedades orales y desarrollar nuevas estrategias preventivas. (2)

Actualmente las patologías bucodentales se encuentran ampliamente distribuidas, siendo la caries, uno de los principales problemas de salud bucal de la población mundial. La caries dental no es un problema solo en los países desarrollados, puesto que esta enfermedad afecta entre el 60% y el 90% de la población escolar y a la gran mayoría de adultos. (3)

Numerosos estudios epidemiológicos demostraron que la caries dental es la enfermedad más común de la humanidad. Hace cuarenta años, se ha demostrado en estudios con animales que la caries dental es una enfermedad infecciosa y transmisible. Desde allí, las bacterias acidogénicas especialmente el *Streptococcus mutans* y los lactobacilos han sido asociadas con esta enfermedad en humanos. (4)

Varios agentes químicos sintéticos han sido evaluados a través del tiempo con respecto a sus efectos antibacterianos contra la caries dental, sin embargo todos están asociados con varios efectos secundarios; hoy en día los pacientes prefieren el uso de preparados ayurvédicos herbales los cuales son eficientes con menos posibles efectos secundarios. (5)

La medicina herbal, trata de buscar otras opciones para la solución a enfermedades bucales, con hierbas medicinales, como productos económicos y prácticos. El resurgimiento del uso de alternativas naturales a base de hierbas ha traído el uso de las plantas medicinales a la vanguardia de los estudios farmacológicos. (6)

Una planta con múltiples virtudes es el ajo (*Allium sativum*), estudiado, sobre todo en el ámbito farmacéutico. Sus propiedades van desde la aplicación culinaria hasta sus implicaciones en la medicina natural como: su acción hipotensora, antioxidante, hipolipemiente, antitrombótica, antimicrobiana y antifúngica. Posee componentes sulfurados idóneos para la inhibición del desarrollo de gérmenes patógenos, destacan entre ellos bacterias, hongos, virus, protozoos. (6,7)

Existen estudios que evidencian la inhibición del *Streptococcus mutans* con diversos tipos de extracto de *Allium sativum* gracias a sus múltiples componentes, principalmente la alicina y ajoeno. (8,6)

El presente estudio busca profundizar la importancia de la actividad antibacteriana de las plantas sobre microorganismos cariogénicos y determinar específicamente el efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* (Ajo) blanco y púrpura sobre *Streptococcus mutans*, y compararlos con una sustancia antimicrobiana muy conocida y utilizada en Odontología, como es la Clorhexidina al 0,12%.

Materiales y métodos.

El presente estudio es de tipo experimental, prospectivo e *in vitro*. Se trabajó con grupos de controles, un control positivo representado por Clorhexidina al 0,12% y un control negativo representado por alcohol al 70%. Se utilizó cepas de *Streptococcus mutans* 25175 procedentes del American Culture Collection (ATCC) y el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* blanco y púrpura al 10%, 20%, 40% y 80%.

Preparación del extracto hidroalcohólico.

El extracto se obtuvo por percolación, empleando 70g de ajo tanto blanco como púrpura para cada extracto, los mismos que fueron sumergidos en 100 ml de solvente alcohólico al 70%, para llevarlos a agitación rotatoria durante 30 horas dentro de frascos color ámbar. La purificación del extracto se realizó con un equipo convencional de filtrado con filtros milipore alrededor de 20 minutos. El extracto fue sometido a luz UV durante 60 minutos para prevenir contaminación; posteriormente se realizaron las diluciones respectivas y fueron sometidos a luz UV 30 minutos.

Preparación del material biológico.

Las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fueron activadas e inoculadas a la escala 0,5 Mc. Farland (1.5×10^8 UFC/ ml) en 22 cajas Petri, 12 cajas con agar sangre y 10 con agar Mueller Hinton + 2% sangre. Discos estériles fueron embebidos con los respectivos extractos hidroalcohólicos al 10%, 20%, 40% y 80%, todas las cajas se introdujeron en una jarra Gaspak para posteriormente someterse a anaerobiosis durante 24 horas ($35 \pm 2^\circ\text{C}$ y CO_2 al 5%)

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

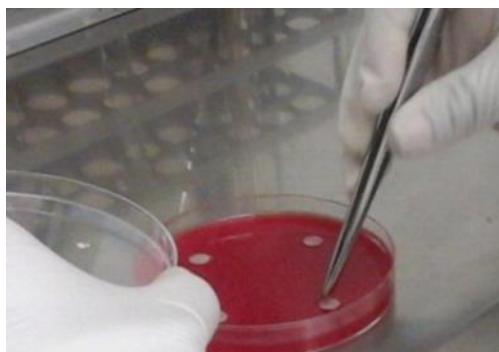


Foto N° 1.- Aplicación de discos con extractos hidroalcohólicos

Todos los datos de la medición de los halos de inhibición, se procedió al análisis de los mismos, para lo cual se utilizó el Programa de Análisis Estadístico SPSS versión 21, se aplicaron pruebas no paramétricas, la prueba de Kruskal Wallis y la de Mann Whitney, puesto que clasificamos los grupos de estudio y se redujeron los datos.

Resultados.

Los halos de inhibición fueron leídos a las 24 horas, obteniendo halos ligeramente superiores con el extracto de *Allium sativum* púrpura.

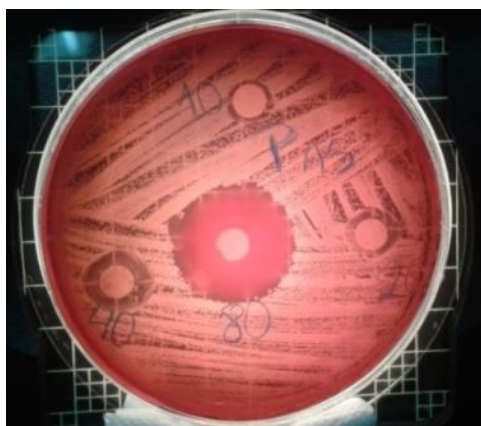


Foto N° 2.- Halos de inhibición

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

Dentro de la prueba de Kruskal Wallis se determinó que el ajo blanco, púrpura y clorhexidina eran diferentes entre sí, por lo que se realizó comparaciones por parejas (prueba dos a dos) para cada concentración.

Con los extractos hidroalcohólicos de ajo blanco y púrpura al 80% se observan: Sig. ady. de 0,420(>0,05) es decir que las muestras son similares. Entre el ajo blanco y la Clorhexidina la Sig. ady. es igual a 0,010 (<0,05) siendo estas muestras diferentes, estadísticamente entre el ajo púrpura y la Clorhexidina existe similitud (Sig. ady. = 0,286).

PROMEDIO HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
	80%	40%	20%	10%
EXTRACTO AJO PURPURA	23,2	15,4	14,2	11,6
EXTRACTO AJO BLANCO	21,2	14,4	13,2	11,2
CLORHEXIDINA		26,3		

Tabla N° 1.- Halos promedio de cada grupo de estudio en agar sangre

Con los extractos hidroalcohólicos de ajo blanco y púrpura al 40% se observan: Sig. ady. de 0,969 (>0,05) es decir que son similares. Entre el ajo blanco y la clorhexidina existen diferencias ya que la Sig. ady. es igual a 0,018 (<0,05). Estadísticamente entre el ajo púrpura y la clorhexidina existe similitud (Sig. ady. = 0,176).

Los extractos hidroalcohólicos de ajo blanco y púrpura al 20% son similares ya que su Sig. ady. es 0,639 (>0,05). El ajo blanco y la clorhexidina presentan una Sig. ady. es igual a 0,012 (<0,05) reflejando diferencia entre las muestras. El ajo púrpura y la clorhexidina poseen una Sig. ady. = 0,217 (>0,05) presentando similitud.

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

El ajo blanco y púrpura al 10% son similares ya que su Sig. ady. es 1,000 ($>0,05$). El ajo blanco y la clorhexidina presentan una Sig. ady. igual a 0,024 ($<0,05$) evidenciando diferencia entre dichas muestras. El ajo púrpura y la clorhexidina presentan similitud (Sig. ady. = 0,099 ($>0,05$)).

	PROMEDIO HALOS DE INHIBICIÓN (mm)			
	80%	40%	20%	10%
EXTRACTO AJO PURPURA	22,6	15,6	14,2	14,4
EXTRACTO AJO BLANCO	21,0	15,2	13,4	11,2

Tabla N° 2.- Promedios de los halos de inhibición de grupos experimentales (cultivos en agar Mueller Hinton + sangre al 2%)

Por los resultados obtenidos diremos que los mejores niveles de inhibición se obtuvieron por la clorhexidina, seguido del ajo púrpura y del ajo blanco. Los extractos hidroalcohólicos de ajo blanco y púrpura estadísticamente son similares entre sí.

Discusión.

Las investigaciones van encaminadas a tratamientos curativos cuando la lesión cariosa ha iniciado, pero se debería crear un enfoque hacia la prevención, partiendo de estudios alternativos con plantas, las mismas que cuentan con una infinidad de sustancias beneficiosas y así poder crear con ellas medidas preventivas en la aparición de la caries dental, sean en dentríficos o enjuagues orales. (9)

Las actividades antibacterianas del ajo han sido reconocidas desde la antigüedad, es así que es mencionado en el papiro de Ebers. La inhibición del crecimiento bacteriano se atribuye

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

principalmente a la alicina, que tiene efecto antibacteriano. El ajo presenta además otras sustancias beneficiosas como el ajoeno, tiosulatos. (10)

El efecto antibacteriano del extracto hidroalcohólico de ajo blanco y púrpura fue comprobado tras la medición de los halos de inhibición de hasta 25mm; se apreció en los grupos experimentales que el extracto hidroalcohólico de ajo púrpura al 80% presentó mayor efecto antibacteriano y el extracto hidroalcohólico de ajo blanco al 10% el menor efecto.

Al analizar las pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis se concluyó que los cultivos en agar sangre la clorhexidina al 0,12% posee mejor efecto antibacteriano, seguido por el ajo púrpura, y el ajo blanco.

Al realizar los análisis estadísticos con las Pruebas no paramétricas de U de Mann Whitney se encontró que en los cultivos en agar Mueller Hinton+sangre al 2% no existieron diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de ajo blanco y ajo púrpura, concluyendo que éstos son estadísticamente similares.

Por los resultados obtenidos se demuestra que la clorhexidina al 0,12% presentó un mayor efecto, en tanto que el ajo blanco y el púrpura también poseen efecto antibacteriano sobre la cepa de *Streptococcus mutans*, con influencia de la concentración, puesto que los mayores halos los presentan los extractos al 80%, dichos resultados del presente estudio coinciden con las investigaciones realizadas por varios autores.

Así, en un estudio con extracto acuoso de ajo, en diferentes concentraciones, aplicado sobre *Streptococcus mutans* con el método de difusión en disco en 15 cajas Petri, concluyendo que la CMI fue el extracto acuoso al 3%. (11)

Adicionalmente Chavan S; et al, 2010, (8) realizaron un estudio en estudiantes organizados en tres grupos llegando a la conclusión que el extracto acuoso de ajo fue efectivo. Al octavo día del uso del enjuague bucal, se realizaron los recuentos de *Streptococcus mutans* verificando una menor recuento de microorganismos.

Estos estudios coinciden con el nuestro, pues evidencian una disminución de *Streptococcus mutans* in vivo, así como halos de inhibición reflejan la disminución bacteriana de forma in vitro.

Munayco-Pantoja EdR, 2011, (6) identificó el efecto antimicrobiano y antifúngico del extracto de *Allium sativum* frente a las cepas ATCC de *S. mutans*, *Capnocytophaga sputigena*, *Lactobacillus casei* y *C. albicans* a diversas concentraciones, realizando tres repeticiones de cada una, y concluyó que el extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* presentó efecto antimicrobiano frente a la cepa ATCC de *S. mutans*, *Capnocytophaga sputigena*, y *C. albicans* a excepción de *Lactobacillus casei* que presentó resistencia.

Cabe resaltar que los autores mencionados realizaron sus investigaciones utilizando extractos acuosos, realizaron sus estudios solo con una especie de ajo, realizaron las siembras en un solo tipo de agar, a diferencia de este estudio, en el cual se emplearon dos especies de ajo y dos medios de cultivo.

Conclusiones.

Los extractos hidroalcohólicos de ajo blanco y púrpura muestran efectividad antibacteriana similar, la clorhexidina al 0,12% posee mejor efecto antibacteriano, seguido por el ajo púrpura, y el ajo blanco sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

Los extractos hidroalcohólicos de ajo blanco al 10, 20, 40 y 80% presentaron buen efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans*, con halos de inhibición de 10 hasta 23mm.

Los extractos hidroalcohólicos de ajo púrpura al 10, 20, 40 y 80% reflejaron buen efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans*, presentando halos de inhibición de 11 hasta 25mm.

La clorhexidina presentó un buen efecto antibacteriano frente a las cepas de *Streptococcus mutans* con un halo promedio de 26,3mm.

Los efectos antibacterianos de los extractos hidroalcohólicos de ajo blanco y el ajo púrpura en iguales concentraciones, son estadísticamente similares entre sí.

Bibliografía.

1. Negroni M. Microbiología Estomatológica Fundamentos y guía práctica. 2nd ed. Buenos Aires: Panamericana; 2009.
2. Marsh P. Microbiología oral Caracas: Amolca; 2011.
3. OMS. Informe sobre el problema mundial de las enfermedades bucodentales. Ginebra; 2004.
4. Prabhakar A, Vipin A, Basappa N. Effect of Curry Leaves, Garlic and Tea Tree Oil on *Streptococcus Mutans* and *Lactobacilli* in Children: A Clinical and Microbiological Study. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*. 2009 dic; 9(3): p. 259-263.
5. Corrales-Reyes I. Actividad antimicrobiana y antifúngica de *Allium Sativum* en estomatología. *Revista* 16 de abril. 2014; 53(254): p. 59-68.
6. Munayco-Pantoja E. Efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de *Allium sativum* sobre cepas estándares de la cavidad bucal. Para optar el Título de Cirujano Dentista. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología; 2011.
7. Chandra S. *Textbook of Microbiology & Immunology* Chennai: Elsevier; 2009.

Efecto antibacteriano del extracto de *Allium sativum* (ajo) blanco, púrpura y Clorhexidina al 0,12% sobre cepas de *Streptococcus mutans*

8. Chavan S, Shetty N, Kanuri M. Comparative evaluation of garlic extract mouthwash and chlorhexidine mouthwash on salivary *Streptococcus mutans* count - an in vitro study. *Oral Health Prev Dent.* 2010; 8(4): p. 369-374.
9. Aricapa-Barrera D. Actividad antimicrobiana de plantas sobre microorganismos cariogénicos. *Bacteriología.* Bogota: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias Basicas; 2009.
10. Groppo F, Ramacciato J, Motta R, Ferraresi F, Sartoratto A. Antimicrobial activity of garlic against oral streptococci. *Int J Dent Hyg.* 2007 may; 5(2): p. 109-115.
11. Houshmand B, Mahjour F, Dianat O. Antibacterial effect of different concentrations of garlic (*Allium sativum*) extract on dental plaque bacteria. *Indian J Dent Res.* 2013 feb; 24(1): p. 71-75.