Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riiit.com.mx

Análisis del efecto de la infusión de *Castela tortuosa* en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* DH5-α

Analysis of the effect of *Castela tortuosa* infusion on the bacterial growth of *Escherichia coli* DH5-α

Alvarado-Pérez, N.S.[1], Diez-Larios, J.L.[1], Sánchez-Meza, K.[2], Palacios-Fonseca, A.J.[2], Bricio-Barrios, J.A.[2], del Toro-Equihua, M.[2], Castro-Rodríguez, E.M.[2], Cerna-Cortés, J.[2]*

[1] Facultad de Medicina de la Universidad de Guadalajara.
[2] Facultad de medicina de la Universidad de Colima.
nicte.alvarado2935@alumnos.udg.mx; jessica.diez2927@alumnos.udg.mx; ksmeza@ucol.mx; alin_palacios@ucol.mx; jbricio@ucol.mx; mequihua@ucol.mx; ecastro@ucol.mx; joelcerna@ucol.mx*

Innovación tecnológica: Utilización de cultivos bacteriológicos para identificar antibióticos.

Área de aplicación industrial: En el área de Farmacología, Salud.

Recibido: 08 marzo 2024
Aceptado: 24 septiembre 2024

Abstract

The constant search for new bioactive compounds with antimicrobial properties has led to the exploration of various natural sources, among which medicinal plants have played a prominent role. In this context, *Castela tortuosa*, a plant species belonging to the Simaroubaceae family, has emerged as a promising candidate for the development of antimicrobial agents. This work shows that the infusion of *castela tortuosa* wood exerts bactericidal activity from 1/1000 dilution on the bacterial strain *Escherichia coli* DH5-α in LB agar medium and LB broth.

Keywords: *Castela Tortuosa*, Antibiotic, *Escherichia coli*.

Resumen

La búsqueda constante de nuevos compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas ha llevado a la exploración de diversas fuentes naturales, entre las cuales las plantas medicinales han desempeñado un papel prominente. En este contexto, *Castela tortuosa*, una especie vegetal perteneciente a la familia Simaroubaceae, ha surgido como un candidato prometedor para el desarrollo de agentes antimicrobianos. Este trabajo muestra que la infusión de la madera de *Castela tortuosa* ejerce una actividad bactericida a partir de la dilución 1/1000 sobre la cepa bacteriana *Escherichia coli* DH5-α en medio agar LB y en caldo de cultivo LB.

Palabras clave: *Castela Tortuosa*, Antibiótico, *Escherichia coli*.

INTRODUCCIÓN

Castela tortuosa, comúnmente conocida como "chaparro amargo", es un arbusto endémico de regiones áridas y semidesérticas de América del Norte. Su corteza y hojas han sido utilizadas en la medicina tradicional de diversas culturas indígenas debido a sus propiedades medicinales. (Mendoza-Orozco y col., 2007).

A la fecha pocos estudios científicos han investigado la actividad antimicrobiana de *Castela tortuosa* y sus extractos. Sin embargo, se ha demostrado que posee efectos inhibidores contra bacterias, hongos y parásitos (Ruiz-Bustos y col., 2009; Zamilpa y col., 2019).

Se ha identificado a la chaparramarina a partir de la corteza de esta planta, como metabolito responsable de inhibir el crecimiento del insecto *Heliothis virescens* (Isao Kubo y col., 1992). Actualmente se desconocen los mecanismos antimicrobianos de los metabolitos madera medicinal.

Dado el uso popular de la infusión de *Castela tortuosa* para tratar malestares estomacales, el presente trabajo abordó el efecto de la infusión de la madera de esta planta en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* DH5-α.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar el efecto inhibitorio de la infusión de *Castela tortuosa* sobre el crecimiento de la bacteria *Escherichia coli*-DH5α, se consideró el método de: "cuantificación de bacterias aeróbicas en placa como lo indica la norma oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994, con una adaptación a la metodología, ya que en el desarrollo de la misma se utilizó caldo Luria-Bertani (LB). Dentro de una campana de flujo laminar, se cultivó una colonia de *Escherichia coli* DH5-α en medio de cultivo caldo LB, el cual alcanzó una densidad óptica de 0.375 (cultivo madre). Con 1 mililitro del cultivo madre y utilizando caldo LB, se realizaron diluciones 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000, 1/1000000. Un mililitro de cada dilución fue colocado en una caja Petri al cual se adicionó agar LB líquido estéril a 45 °C (diluciones control negativo). Otro mililitro de cada dilución fue colocado en cajas Petri a la cual se adicionó agar LB estéril en estado líquido (a una temperatura de 45 °C) en cuya preparación se utilizó como diluyente una infusión de chaparro amargo (preparada con 169 gramos de chaparro amargo y 500 mililitros de agua, llevados a ebullición durante 7 minutos y filtrada a través de papel Whatman). Posteriormente, las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas utilizando una incubadora VWR

(Sheldon Manufacturing INC). Finalmente, para evaluar el efecto microbicida de la infusión de *Castela tortuosa* con respecto al control (agua) sobre la cepa *Escherichia coli* DH5-α, se tomaron las diluciones 1/1000, 1/10,000, 1/100000, 1/1000000, debido a que el total de unidades formadoras de colonias en el control fueron de 25 a 250.

Para evaluar el efecto de la infusión de *Castela tortuosa* sobre el crecimiento bacteriano de la cepa de *Escherichia coli* DH5-α en medio líquido, se preparó 250 mililitros de medio de cultivo estéril de caldo LB teniendo como solvente el agua y 250 mililitros de caldo LB teniendo como solvente una infusión de chaparro amargo preparada como se describió en el párrafo anterior. Se procedió a inocular 50 microlitros de un cultivo de *Escherichia coli* DH5-α a una densidad óptica de 0.106 a 250 mililitros de caldo LB-solvente agua (cultivo control negativo) y 50 microlitros de cultivo bacteriano a 250 mililitros de caldo LB-solvente-infusión chaparro amargo (cultivo chaparro amargo). Los cultivos control negativo y chaparro amargo se incubaron con agitación orbital (orbital shaker marca: forma scientific; modelo: 4520) a una temperatura de 37 °C. Durante el tiempo de incubación y durante un periodo de 24 horas, se tomaron alícuotas del cultivo, para evaluar el crecimiento bacteriano en medio líquido mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 600 nm. (Espectrofotómetro *espectronic* 20D), tomando las lecturas cada dos horas.

RESULTADOS Y DISCUSION

La infusión de chaparro amargo inhibió el crecimiento de la cepa bacteriana *Escherichia coli* DH5-α en medio solido-agar LB a partir de la dilución 1/1000 (Figura 1) y en caldo de cultivo LB, el crecimiento fue nulo (Figura 2).

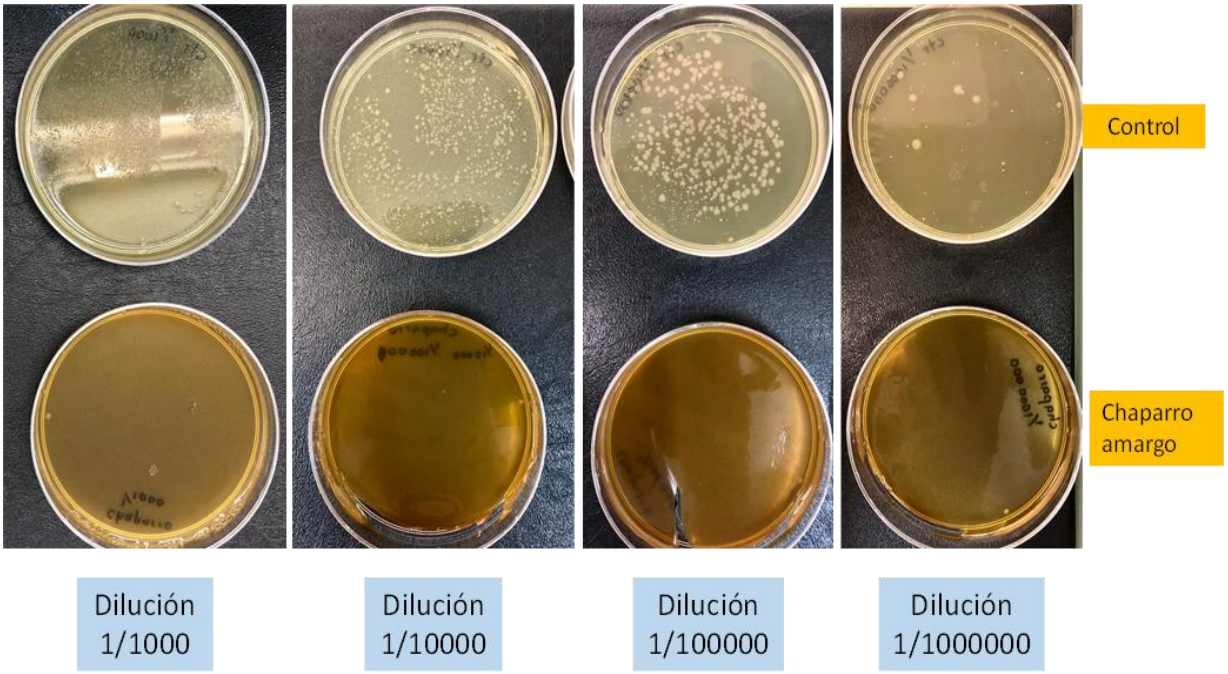


Figura 1. Efecto bactericida de la Infusión de *Castela tortuosa* en medio agar LB. *Se aprecia que el crecimiento bacteriano en medio agar LB de la cepa Escherichia coli DH5-α es abundante sin presencia de la infusión de Castela tortuosa (control) y que dicha infusión inhibe el crecimiento de Escherichia coli DH5-α a partir de las diluciones 1/1000.*

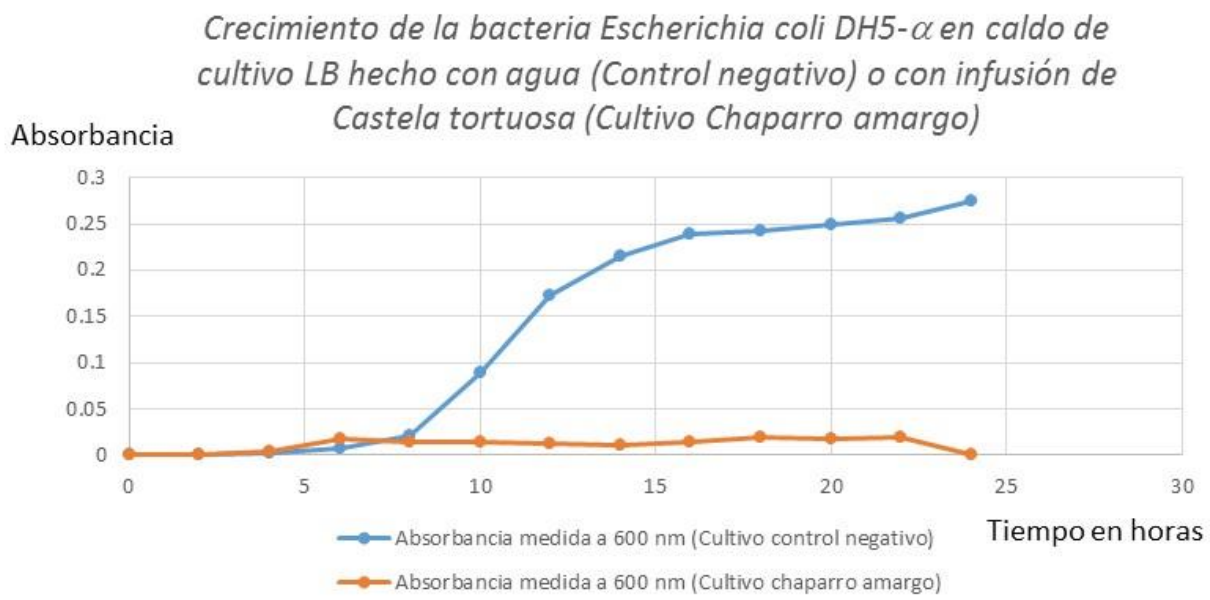


Figura 2. Efecto bactericida de la Infusión de *Castela tortuosa* en caldo LB. *Crecimiento de la bacteria Escherichia coli DH5-α en caldo de cultivo LB medido a través de espectrofotometría a una longitud de onda de 600 nanómetros.*

En el presente trabajo se observó que la infusión de *Castela tortuosa* es capaz de inhibir el crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* DH5-α a partir de la dilución 1/1000 en medio sólido agar. En la figura 2 se aprecia que la cepa *Escherichia coli* DH5-α en caldo LB (pH 7.0) utilizando como solvente el agua (cultivo control) presenta un crecimiento logarítmico desde la siembra del inoculo bacteriano hasta las 14 horas de incubación; y que la siembra de dicha bacteria en el mismo medio (caldo LB) pero teniendo como diluyente la infusión de chaparro amargo (al mismo pH que el cultivo control negativo: "pH 7.0") (cultivo chaparro amargo) no presenta crecimiento. En la literatura existen trabajos de investigación que también han demostrado que *Castela tortuosa* posee la capacidad de actuar como antibiótico contra otros microorganismos. Al respecto, existen reportes que demuestran la eficacia de *Castela tortuosa* para inhibir el crecimiento *in vitro* de la bacteria *Helicobacter pylori* (agente causante de desórdenes gástricos) (Robles-Zepeda y col., 2011). En este sentido también se ha evidenciado que el extracto de *Castela tortuosa* obtenido con el solvente hexano, inhiben el crecimiento y desarrollo del nemátodo *Haemonchus contortus* en un 78.9% a una concentración de 20 mg/mL (Zamilpa y col., 2019). La infusión de chaparro amargo es utilizada para tratar fiebre y combatir infecciones de amebas (Mendoza-Castelán y col., 2003).

Un grupo de investigación evaluó mediante antibiogramas el efecto bactericida de la solución acuosa de *Castela erecta ssp. texana* (una variedad *de* Castela emparentada con *Castela tortuosa*), preparada con el polvo de esta madera, el cual fue puesto en incubación con agua (sin llevar la mezcla a ebullición) durante un día. Con la solución acuosa resultante se impregnó un disco de ensayo antibiograma el cual fue colocado en un cultivo de *Salmonella typhimurium* en placa agar, teniendo como control positivo, un cultivo homólogo incubado con discos impregnados con el antibiótico cloranfenicol. Los resultados mostraron que la solución acuosa de *Castela erecta texana* no fue eficaz

en inhibir el crecimiento de *Salmonella typhimurium* (Solis-Diaz y col., 2009). Es posible que la infusión de *Castela tortuosa* (cocción de *Castela tortuosa* con agua) sea más eficiente en hacer disponibles, los metabolitos activos de esta madera medicinal y que, por tal razón en el presente trabajo, bajo estas condiciones, fue posible observar un efecto bactericida de la infusión de *Castela tortuosa*. También cabe la posibilidad de que, con respecto al uso de antibiogramas, la cuenta de bacterias aeróbicas en placa como lo indica la norma oficial mexicana NOM-092-SSA1-1994 (que fue la norma a la que se apegó el presente trabajo), sea una mejor metodología para evaluar el efecto inhibitorio de *Castela tortuosa* sobre el crecimiento de bacterias en placa.

En otro reporte, utilizando el método de microdilución, el extracto metanólico de *Castela tortuosa* mostró una actividad antibacterial considerable contra la bacteria gramnegativa *Shigella flexneri* (concentración inhibitoria media "MIC50" de 120-190 μg/mL) y una inhibición moderada sobre el crecimiento de la bacteria grampositiva de *Staphylococcus aureus* (concentración inhibitoria media "MIC50" de 1000-1500 μg/mL) (Ruiz-Bustos y col., 2009). El extracto metanólico de *Castela tortuosa* también fue capaz de inhibir el crecimiento radial en un 20% y en un 5% de los hongos *Aspergillus niger* y *Fusarium verticillioides*, respectivamente (Ruiz-Bustos y col., 2009).

Se ha identificado al metabolito: "chaparramarina" a partir de la corteza de *Castela tortuosa*, el cual actúa como inhibidor del crecimiento del insecto lepidóptero *Heliothis virescens* (gusano del cogollo del tabaco) (Isao Kubo y col., 1992). Al momento, no existen reportes realizados en modelos animales ni tampoco estudios clínicos en humanos que analicen el uso como antibiótico de la infusión de *Castela tortuosa*. Es necesario analizar en animales, el posible efecto tóxico del consumo crónico de esta infusión.

CONCLUSIÓN

La infusión de *Castela tortuosa* ejerce un efecto bactericida en el crecimiento de la bacteria *Escherichia coli* DH5-α en medio agar LB y en caldo de cultivo LB.

ASPECTOS ÉTICOS.

Los residuos fueron tratados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002

BIBLIOGRAFÍA

1. Isao Kubo, Yoshihiro Murai, Swapan K. Chaudhuri. (1992). Structure of chaparramarin, a quassinoid from *Castela tortuosa*. *Phytochemistry*, 31(9), 3262-3264.

2. Mendoza-Castelán, G. (2003). Manual de usos terapéuticos y dosificación de maderas medicinales de México. Guerrero, México: Universidad Autónoma Chapingo.

3. Mendoza-Orozco, M., Godínez-Álvarez, H., (2007). Chaparro amargoso ¿atrapado sin salida? *Ciencias*, abril-junio, 34-36.

4. NORMA Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Consultada el 30 de agosto de 2024. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4886029&fecha=12/12/1995#gsc.tab=0

5. Robles-Zepeda, R. E., Velázquez-Contreras, C. A., Garibay-Escobar, A., Gálvez-Ruiz, J. C., Ruiz-Bustos,

E. (2011). Antimicrobial activity of Northwestern Mexican plants against *Helicobacter pylori*. *Jornal of Medicinal Food*, 14(10), 1280-1283.

6. Ruiz-Bustos, E., Velazquez, C., Garibay-Escobar, A., García, Z., Plascencia-Jatomea, M., Cortez-Rocha, M.O., Hernandez-Martínez, J., Robles-Zepeda, R.E. (2009). Antibacterial and antifungal activities of some Mexican medicinal plants. *Journal Medicinal Food*, 12(6), 1398-1402.

7. Solis-Diaz, V. M., Abarca-Salinas, A. L., Rojas-Alba, M. (2009). Evaluación mediante antibiogramas del efecto bactericida de quina amarilla (*Hintonia latiflora (Sesse et Moc. Ex. DC*) *Bullock*), estafiate (*Artemisa ludoviciana ssp. Mexicana (Willd. ex. Spreng.) Keck*), y chaparro amargo (*Castela erecta ssp. Texana (Torr. et Gray) Cronq*.) en una cepa de *Salmonella typhimurium*. *Tlahui*

8. Zamilpa, A., García-Alanís, C., López-Arellano, M. E., Hernández-Velázquez, V. M., Valladares-Cisneros, M. G., Salinas-Sánchez, D. O., Mendoza-de Gives, P. (2019). In vitro nematicidal effect of *Chenopodium ambrosioides* and *Castela tortuosa* n-hexane extracts against *Haemonchus contortus* (Nematoda) and their anthelmintic effect in gerbils. *J Helminthology*, 93(4), 434-439.