

Efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de albahaca (*Ocimum basilicum*) sobre el crecimiento de *Actinomyces viscosus*

In vitro effect of the hydroalcoholic extract of basil (*Ocimum basilicum*) on the growth of *Actinomyces viscosus*

Herbert Cosio,¹ Hilda Rodríguez²

RESUMEN

El propósito de este estudio fue determinar el efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de albahaca, con concentraciones al 5%, 10% y 15%, sobre *Actinomyces viscosus*, que es una de las bacterias que colonizan en primera instancia la superficie dental para dar lugar a la formación de la placa bacteriana, comparado estos extractos con un Gold standard conocido universalmente en la odontología para el control de la placa bacteriana como es la Clorhexidina al 0,12%. Teniendo como muestra 20 placas Petri constituidas por agar sangre enriquecido con sangre de cordero al 5%, divididas en 5 grupos de estudio, (5 pozos expuestos al extracto al 5%, 5 pozos expuestos el extracto al 10%, 5 pozos expuestos al extracto al 15%, 5 pozos expuestos a la Clorhexidina al 0,12% como grupo patrón y los últimos 5 pozos expuestos al agua destilada como grupo control; para la evaluación a las 96h, 120h, 144h y 168h). El efecto in vitro del extracto de albahaca se determinó midiendo los halos de inhibición de crecimiento bacteriano formado en la superficie de las 20 placas Petri. Las mediciones se realizaron del cuarto al séptimo día de incubación a 37°C. Se determinó que el efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de albahaca al 10% y al 15% es altamente significativo frente al *Actinomyces viscosus* expuesto a partir de las 120h, aumentando éste hasta las 168h. Así mismo se determinó que a mayor concentración del extracto, mayor efecto antimicrobiano. La metodología usada permite confirmar la efectividad del extracto hidroalcohólico de albahaca con diferentes concentraciones frente al *Actinomyces viscosus*.

Palabra Clave: Placa bacteriana, Antibacterianos, *Actinomyces viscosus*.

ABSTRACT

the purpose of this study was to determine the in vitro effect of basal hydroalcoholic extract, with concentrations at 5%, 10% and 15%, on *Actinomyces viscosus*, which is one of the bacteria that first colonize the dental surface to give place to the formation of bacterial plaque, compared these extracts with a standard gold known universally in dentistry for the control of bacterial plaque such as 0.12% chlorhexidine. the sample consisted of 20 petri plates consisting of blood agar enriched with 5% lamb blood, divided into 5 study groups (5 wells exposed to the extract at 5%, 5 wells exposed to the extract at 10%, 5 wells exposed to the extract to 15%, 5 wells exposed to 0.12% chlorhexidine as a standard group and the last 5 wells exposed to distilled water as a control group, for evaluation at 96h, 120h, 144h and 168h). the in vitro effect of basil extract was determined by measuring the bacterial growth inhibition halos formed on the surface of the petri dishes. measurements were performed from the fourth to the seventh day of incubation at

1. Cirujano Dentista, Magíster en Estomatología UPCH, Doctor en Educación UCSM, Docente de la Universidad Alas Peruanas filial Cusco, Docente auxiliar de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Dirección: Urbanización Quispicanchi, calle Venezuela, K-15 Distrito de Cusco, Ciudad del Cusco. email: herbertupch@hotmail.com

2. Cirujano Dentista COP, Magister en Ciencias Estomatológicas Universidad Andina de Cusco. email: H_rodríguez@hotmail.com

37° c. it was determined that the in vitro effect of 10% and 15% basal hydroalcoholic extract is highly significant compared to *Actinomyces viscosus* exposed from 120h, increasing it until 168h. it was also determined that the higher the concentration of the extract, the higher the antimicrobial effect. the methodology used confirms the effectiveness of the hydroalcoholic extract of basil with different concentrations against *Actinomyces viscosus*.

key words: bacterial plaque, antibacterial, *Actinomyces viscosus*.

INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido empleadas desde tiempos muy antiguos para el alivio de muchas enfermedades, muchas de estas han sido utilizadas de manera tradicional; con el avance de la tecnología, de la ingeniería genética y valiéndose de la investigación en animales de experimentación, han llegado a convertirse en la base de muchos compuestos farmacológicos que hoy en día son ampliamente utilizados para aliviar, remediar y combatir enfermedades tanto en seres humanos como en animales.

La obtención de las sustancias activas de las plantas medicinales hoy en día ha ocupado el primer lugar en importancia en la investigación, los extractos son mayormente utilizados por su facilidad de obtención en la fase laboratorial, aunque los vehículos a utilizar sean diferentes, la actividad que puede ejercer es similar sobre el objeto de estudio. Se sabe además que la albahaca se puede encontrar en nuestro medio en cualquier época del año y tiene antecedentes de sus actividades antimicrobianas, antiparasitarias dentro de la medicina natural tradicional.

La albahaca es una de las plantas medicinales que por sus principios activos, como el eugenol, linalol, estragol, por mencionar algunos, consideramos necesario su estudio de manera más profunda.

Además que un extracto utilizando como vehículo un compuesto hidroalcohólico, puede actuar sobre la primera capa del biofilm bucal e impedir la organización de la misma sobre la superficie del esmalte dental, impidiendo consecuen-

temente la suma de las bacterias que forman la placa bacteriana, ya que de ocurrir este proceso, la proliferación bacteriana adherida a la superficie dental, va a producir sustancias de desecho bacteriano (ácidos), que de encontrar un medio propicio para su crecimiento, van a dar como resultado la descalcificación del diente, conllevando a patologías de mayor importancia como son la enfermedad periodontal y la caries dental.

Para el presente estudio nos planteamos establecer: ¿Cuál será efecto del extracto hidroalcohólico de albahaca, con concentraciones al 5%, 10% y 15%, sobre *Actinomyces viscosus*? Los *Actinomyces* es uno de los géneros de bacterias más comunes presentes en la flora bucal normal y se han asociado de forma importante con la enfermedad periodontal y la caries dental, ya que su número es preponderante en bolsas periodontales y superficies radiculares con caries, por lo tanto el control del crecimiento y proliferación de dichas bacterias se hace necesario para el manejo de la patología periodontal.

El control de la placa dental es un problema de Salud Pública en la actualidad, ya que puede conllevar a patologías muy severas que se pueden presentar a cualquier edad, si no se controla a tiempo, puede llegar a destruir estructuras de soporte del diente y la obtención de sustancias provenientes de las plantas medicinales son una oportunidad para poder conseguir medios que combatan las enfermedades más comunes de una forma más sencilla y de bajo costo, para de ésta manera difundir su uso en nuestra población.

El objetivo que planteamos fue el determinar el efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de al-

bahaca, con concentraciones al 5%, 10% y 15%, sobre *Actinomyces viscosus*, que es una de las bacterias que colonizan en primera instancia la superficie dental para dar lugar a la formación de la placa bacteriana; y comparar estos extractos con un Gold standard conocido universalmente en la odontología para el control de la placa bacteriana como es la Clorhexidina al 0,12%.

Dado que la albahaca, por su composición del eugenol, linalol y estragol, tiene antecedentes de actividad antimicrobiana y antiparasitaria, y es usado dentro de la medicina natural tradicional, nos hemos planteado la hipótesis de que es probable que las concentraciones altas de la solución hidroalcohólica de albahaca tenga mejores efectos para el control de placa bacteriana a nivel del *Actinomyces viscosus*.

MÉTODOS Y MATERIALES

El diseño de estudio fue cuantitativo, porque el investigador utiliza su diseño para analizar la certeza de las hipótesis formuladas. El alcance de la investigación fue explicativo, ya que proporciona sentido al fenómeno a que hacen referencia.

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental, porque se manipula intencionalmente una variable independiente, para analizar las consecuencias que la manipulación tiene so-

bre la otra variable, dentro de una situación de control creada durante la investigación.

La muestra estuvo constituida por 20 placas Petri con cepas reconstituidas de la bacteria (*Actinomyces viscosus*) las que fueron evaluadas de forma diaria a la misma hora del día, a partir del cuarto día.

Cada grupo de estudio estuvo constituido por 5 muestras de cada concentración del extracto de albahaca (al 5%, al 10%, al 15%), 5 de clorhexidina al 0,12%, y 5 expuestos al agua destilada que nos sirvió como control, distribuidos como se muestra en la tabla N° 1.

El tipo de muestreo fue No probabilístico por conveniencia. La técnica fue la observación directa para la visualización de aparición de los halos de inhibición de los diferentes grupos de muestras en estudio y poder realizar su medición.

Ya que ésta acción no se puede realizar de forma minuciosa dentro de la jarra de anaerobiosis, se hizo necesario retirar cinco placas para su evaluación de forma diaria a partir del cuarto día de incubación, los datos obtenidos en estas placas se plasmaron en el instrumento de recolección de datos, de tal manera que al séptimo día se evaluaron las cinco últimas placas.

RESULTADOS

Tabla N° 1. Determinación del efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) sobre el crecimiento del *Actinomyces viscosus* a las 96h, 120h, 144h y 168h.

Tiempo	Promedio F de la prueba ANOVA	Sig.
A las 96 horas	11,923	0,000
A las 120 horas	722,489	0,000
A las 144 horas	1,679,067	0,000
A las 168 horas	3,004,091	0,000

Fuente: matriz de datos

Tabla N° 2. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 5% con los demás compuestos, a las 96 horas. Prueba de Tukey

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 5%	Extracto albahaca al 10%	-0,58000	0,486
	Extracto albahaca al 15%	-104,000	0,054
	Clorhexidina 0,12%	-20,600	0,000
	Control (agua destilada)	0,0000	1,000

Fuente: matriz de datos

Tabla N° 3. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 10% con los demás compuestos, a las 96 horas. Prueba de Tukey.

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 10%	Extracto albahaca al 15%	-0,46000	0,690
	Clorhexidina 0,12%	-148,000	0,004
	Control (agua destilada)	0,58000	0,486

Fuente: matriz de datos

Tabla N°4. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 15% con los demás compuestos, a las 96 horas. Prueba de Tukey.

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 15%	Clorhexidina 0,12%	-102,000	0,060
	Control (agua destilada)	104,000	0,054

Fuente: matriz de datos

Tabla N° 5. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 5% con los demás compuestos, a las 120 horas. Prueba de Tukey

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 5%	Extracto albahaca al 10%	-30,400	0,000
	Extracto albahaca al 15%	-27,800	0,000
	Clorhexidina 0,12%	-53,400	0,000
	Control (agua destilada)	0,0000	1,000

Fuente: matriz de datos

Tabla N°6. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 10% con los demás compuestos, a las 120 horas. Prueba de Tukey

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 10%	Extracto albahaca al 15%	-0,26000	0,228
	Clorhexidina 0,12%	-23,000	0,000
	Control (agua destilada)	30,400	0,000

Fuente: matriz de datos

Tabla N°7. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 15% con los demás compuestos, a las 120 horas. Prueba de Tukey

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 15%	Clorhexidina 0,12%	-2,560	0,000
	Control (agua destilada)	27,800	0,000

Fuente: matriz de datos

Tabla N°8. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 5% con los demás compuestos, a las 144 horas. Prueba de Tukey.

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 5%	Extracto albahaca al 10%	-58,400	0,000
	Extracto albahaca al 15%	-58,200	0,000
	Clorhexidina 0,12%	-76,400	0,000
	Control (agua destilada)	0,0000	1,000

Fuente: matriz de datos

Tabla N° 9. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 10% con los demás compuestos, a las 144 horas. Prueba de Tukey

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 10%	Extracto albahaca al 15%	0,2000	1,000
	Clorhexidina 0,12%	-18,000	0,000
	Control (agua destilada)	58,400	0,000

Fuente: matriz de datos

Tabla N° 10. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 15% con los demás compuestos, a las 144 horas. Prueba de Tukey.

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 15%	Clorhexidina 0,12%	0,1242	0,000
	Control (agua destilada)	0,1242	0,000

Fuente: matriz de datos

Tabla N°11. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 5% con los demás compuestos, a las 168 horas. Prueba de Tukey.

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 5%	Extracto albahaca al 10%	-78,200	0,000
	Extracto albahaca al 15%	-86,600	0,000
	Clorhexidina 0,12%	-93,200	0,000
	Control (agua destilada)	0,0000	1,000

Fuente: matriz de datos

Tabla N°12. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 10% con los demás compuestos, a las 168 horas. Prueba de Tukey

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 10%	Extracto albahaca al 15%	-0,8400	0,000
	Clorhexidina 0,12%	-15,000	0,000
	Control (agua destilada)	78,200	0,000

Fuente: matriz de datos

Tabla N°13. Comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 15% con los demás compuestos, a las 168 horas. Prueba de Tukey.

Concentración	Comparado con:	Diferencia de medias	Significancia
Extracto albahaca al 15%	Clorhexidina 0,12%	-0,6600	0,000
	Control (agua destilada)	86,600	0,000

Fuente: matriz de datos

DISCUSIÓN

En el presente estudio, tuvo como objetivo evaluar el efecto in vitro del extracto hidroalcohólico del *Ocimum basilicum* (albahaca) se pudo determinar que este extracto posee efecto antimicrobiano frente al *Actinomyces viscosus* a las concentraciones del 10% y del 15%, resultado que corrobora el obtenido por Colivet, Marcano, Belloso, Brito y Gómez en la Universidad de Oriente de Venezuela (2012), quienes también determinaron que la concentración del extracto de albahaca a esta concentración posee efecto antimicrobiano pero frente al *Staphilococcus aureus*.

Al mismo tiempo en esta investigación se determinó la actividad antimicrobiana del extracto de *Ocimum basilicum*, utilizando como vehículo en compuesto hidroalcohólico, a diferencia del estudio realizado por Rojas, et al en La Habana-Cuba (2012) que utilizó para su estudio los aceites esenciales de la misma planta, evidenciándose que con ambos compuestos se puede conseguir un efecto antimicrobiano evidente.

Aunque no se puede evidenciar lo mismo al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio y los revisados en la investigación realizada por Yañez G. en la Universidad Técnica de Ambato - Ecuador (2014), quien obtuvo como resultado que el extracto de albahaca al 5% posee efecto antimicrobiano sobre la E. coli y la C. Albicans, ya que en esta investigación se evidenció que el extracto de albahaca al 5% no tiene ningún efecto in vitro sobre el *Actinomyces viscosus*.

Sin embargo el estudio realizado por Calderon y Torres en la Universidad Nacional Toribio Rodriguez de Mendoza – Amazonas (2014) que puso a prueba la albahaca fresca en dosis de 5g, 10g y 20g, determinó que la mayor dosis tuvo efecto antibacteriano sobre la E. coli, resultados que si son similares al que se obtuvo en la presente investigación, ya que se determinó que la mayor dosis de los extractos puestos a prueban tiene mayor efecto antimicrobiano frente, en este caso, al *Actinomyces viscosus*.

En nuestro estudio al hacer la comparación de los halos de inhibición del crecimiento del *Actinomyces viscosus* expuestos al extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 10% y 15% con los demás compuestos se pudo observar que a las 96 horas el efecto es mínimo.

A las 120 horas el efecto es más intenso a mayores concentraciones. A las 144 horas los efectos logrados son parecidos al de la Clorexidina. A las 168 horas el efecto de las concentraciones elevadas de la solución hidroalcoholica de la albahaca es muy eficiente sobre los halos de crecimiento bacteriano del *Actinomyces viscosus*.

CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca), posee efecto antimicrobiano significativo sobre el crecimiento del *Actinomyces viscosus*.
2. El extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) 5%, no posee ningún efecto in vitro sobre el crecimiento del *Actinomyces viscosus* y al 15 %, posee mayor efecto antimicrobiano que el extracto de la misma planta al 10 %.
3. El efecto del extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) se presenta a partir del cuarto día de incubación, observándose que éste efecto aumenta con el tiempo de exposición de la bacteria a dicho extracto.
4. El efecto del extracto hidroalcohólico de *Ocimum basilicum* (albahaca) al 10% comparado con el de la clohexidina al 0.12% es menor a las 96h; y el efecto de dicho extracto al 15% es similar al de la clorhexidina al 0,12% a partir de las 96h.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcalde, et al (2005), Actividad antimicrobiana “in vitro” de las plantas medicinales cubanas: cymbopogon citratus y ocimum basilicum. Universidad pinar del Río – Cuba.
- Calderón J. y Torres E., (2014), Efecto del extracto acuoso de la *Ocimum basilicum* l. (albahaca) en el crecimiento

- bacteriano de *Escherichia coli* Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza - Amazonas.
- Carranza F. y Newman M., (2002), *Periodontología Clínica* 8va edición. California: McGraw- Hill Interamericana.
- Colivet J., Marcano G., Belloso G., Brito D. y Gómez E., (2012), Efecto antimicrobiano de extractos etanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Universidad de Oriente de Venezuela..
- Figuroa M., Alonso G. y Acevedo A., (2009), Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. Venezuela: Universidad Central de Venezuela.
- Fonnegra R. y Jimenez F., (2007), *Plantas Medicinales aprobadas en Colombia*. Universidad de Antioquia – Colombia.
- Gutierrez S. y Benito L., (2004), Efecto de sustancias metabólicas de *Actinomyces* orales sobre *Candida albicans*. Universidad Nacional de Tucumán- Argentina.
- Gutierrez Y., (2007), Determinación del efecto analgésico y antiespasmódico de las hojas de albahaca (*Ocimum basilicum*) L. Universidad de Cuenca – Ecuador.
- Jawetz E., Melnick J., Adelberg E. y Brooks G., (2004), *Microbiología Médica* (págs. 9-33). Mexico: McGraw hill.
- Koneman E., (2008), *Diagnóstico Microbiológico, texto y atlas en color*. 6ta edición. Argentina: Médica Panamericana.
- Lindhe L., (2008), *Periodontología clínica e implatología odontológica*. Tomo 2, 5ta edición. España: Médica Panamericana.
- Mejia A., (2006), *Plantas medicinales - Botánica de interés médico*. Colombia.
- Mims C., Playfair J., Roitt I., Wakelin D. y Williams R., (1999), *Microbiología Médica* 2da edición España: Hancourt Brace.
- Murray P., Rosenthal K. y Pfaller M., (2009), *Microbiología Médica*. 6ta edición, Barcelona -España: El Servier Mosby.
- Negroni M., (2009), *Microbiología Estomatológica*. 2da edición. Argentina: Medica Panamericana.
- Pérez H. y Robles A., (2013), Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. (págs 188-190) *Revista Médica MD*.
- Riman D., (1995), *Aromaterapia: enciclopedia de las plantas aromáticas y de sus aceites esenciales*. Barcelona – España.
- Riveros A., (2010), *Inducción de resistencia en plantas. Interaccion planta- patógeno*. Colombia: Universidad del Tolima.
- Rojas C. et al (2012), *Caracterización química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de Ocimum basilicum L. y Ocimum basilicum var. Genovese L*. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria de La Habana – Cuba.
- Stainer R., Ingraham J., Wheelis M, y Painter P., (1992), *Microbiología España: Reverté*
- Weinberg M. y Froum S., (2013) *Fármacos en odontología - Guía de prescripción*, México - Manual Moderno.
- Yañez G. y Velastegui R., (2014), *Investigación de la actividad antimicrobiana y fotoquímica de extractos de plantas medicinales frente a los microorganismos patógenos Escherichia coli y Candida albicans* Universidad Técnica de Ambato – Ecuador.
- Yeyenes I., Reyes J., Campos N. y Saragoni V., (2003) *Efecto inhibitorio en la placa microbiana y propiedades antibacterianas de enjuagatorios de clorhexidina*. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, Vol 15, Madrid - España