

## Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Chenopodium pilcomayense* Aellen

Sleiman, Y.<sup>1</sup>; Gayozo, E.<sup>1</sup>; Torres, E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Laboratorio de Mutagénesis Ambiental, Departamento de Biología, San Lorenzo - Paraguay.  
E mail del autor: yihan.sleiman@gmail.com

---

**Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Chenopodium pilcomayense* Aellen.** La familia Chenopodiaceae es ampliamente utilizada como fuente medicinal y varios miembros de esta familia demostraron poseer actividades antibacterianas. *Chenopodium pilcomayense* se encuentra distribuido únicamente en Paraguay y Argentina. No se encontraron estudios previos con la misma, por lo que se desconoce sus propiedades medicinales y principios activos. El presente estudio corresponde a un modelo experimental analítico puro de corte transversal con diseño en bloques completamente al azar y tiene como objetivo principal evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas de *C. pilcomayense*, para lo cual se realizó extracción etanólica por maceración exhaustiva de hojas obteniendo distintas concentraciones (86mg.mL<sup>-1</sup>, 43 mg.mL<sup>-1</sup> y 21,5 mg.mL<sup>-1</sup>) con las cuales se llevaron ensayos microbiológicos empleando el método de difusión de discos de Kirby Bauer con bacterias Gram Positivas (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Micrococcus luteus* ATCC 10240) y Gram Negativas (*Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), siendo los testigos discos de Sulfatiazol 1 mg.mL<sup>-1</sup> y Azitromicina 1 mg.mL<sup>-1</sup>. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente con el test de Kruskal-Wallis y el test de Conover como prueba *post hoc*, los resultados sugieren que todas las concentraciones del extracto de hojas de *C. pilcomayense* poseen actividad bactericida frente a los microorganismos utilizados, siendo la de mayor actividad la concentración de 43 mg.mL<sup>-1</sup> con halos de inhibición de 11,53 mm a 21,30 mm.

**Palabras clave:** antibacteriano, *Chenopodium pilcomayense*, Paraguay, plantas medicinales

**Antibacterial effect of ethanolic extract of *Chenopodium pilcomayense* Aellen.** The Chenopodiaceae family is widely used as a medicinal source and several members of them have shown antibacterial activities. *Chenopodium pilcomayense* is distributed only in Paraguay and Argentina. No previous studies were found with it, reason why its medicinal properties and active principles are unknown yet. This study corresponds to a pure analytical experimental model of cross section with completely randomized block design and it's main objective is to evaluate the antibacterial activity of the ethanolic extract of *C. pilcomayense* leaves, for it an ethanol extraction by exhaustive maceration of leaves was obtained in different concentrations (86 mg.mL<sup>-1</sup>, 43 mg.mL<sup>-1</sup> and 21.5 mg.mL<sup>-1</sup>), with them a microbiological tests were carried out using the Kirby Bauer disk diffusion method with Gram-Positive bacteria (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Micrococcus luteus* ATCC 10240) and Gram Negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 8739 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), disks of Sulfathiazole 1 mg.mL<sup>-1</sup> and Azithromycin 1 mg.mL<sup>-1</sup> were used as controls. Data obtained were statistically analyzed using Kruskal-Wallis test and Conover as a *post-hoc* test. Results suggest that all concentrations of *C. pilcomayense* leaves extract have bactericidal activity against the microorganisms used, greater activity were found in concentration of 43 mg.mL<sup>-1</sup> with inhibition diameter in the range from 11.53 mm to 21.30 mm.

**Keywords:** antibacterial, *Chenopodium pilcomayense*, Paraguay, medicinal plants

---

*Steviana*, Vol. 9(1), 2017 pp. 3 – 15.

Original recibido el 04 de abril de 2017.

Aceptado el 18 de junio de 2017.

## INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el mal uso de medicamentos en seres humanos y el consumo de productos cárnicos tratados con antibióticos favorecen al desarrollo de resistencia en microorganismos tanto en bacterias como en hongos, a consecuencia de esto los fármacos actuales son menos efectivos en la lucha contra estos organismos patógenos y ello impulsa a buscar nuevas formas de tratamiento o nuevas fuentes para la obtención de medicamentos (WHO, 2014). Numerosos microorganismos cobran importancia en áreas de la salud a consecuencia de la emergente resistencia y de las afecciones que puedan causar, tal es el caso de bacterias Gram positivas como *Micrococcus luteus* Schröeter (1872), el cual es considerado una bacteria saprófita pero ocasionalmente causante de infecciones como meningitis e infecciones del tracto urinario en pacientes inmunocomprometidos (Fosse et al., 1985; Bonjar, 2004). Así también *Pseudomonas aeruginosa* Schröeter (1872), es el responsable del 10-15% de las infecciones nosocomiales de todo el mundo, algunas de estas en paciente inmunocomprometidos, con fibrosis quística y heridas traumáticas. Generalmente las infecciones causadas por esta bacteria son asociadas con morbilidad severa (Blanc et al., 1998). Bacterias Gram negativas como la *Escherichia coli* Escherich (1885), es una bacteria comensal del tracto gastrointestinal, sin embargo algunas se han adaptado generando virulencia siendo causante de varias afecciones como gastroenteritis, infecciones del tracto urinario, septicemia y meningitis, convirtiéndose en una de las más importantes en los nosocomios (Harrington et al., 2006; Poulsen et al., 2012).

Otra bacteria Gram negativa importante es *Enterococcus faecalis* Orla-Jensen (1919) Schleifer & Kilpper-Bälz (1984), causante de infecciones nosocomiales siendo el tercero más importante luego de *E. coli* y *S. aureus*, es comensal del tracto digestivo y son patógenos oportunistas frecuentemente asociados a bacteremia, endocarditis, infecciones de heridas (Ruggero et al., 2003; Poulsen et al., 2012).

El estudio de plantas medicinales en el mundo va en aumento tras las últimas décadas con el objetivo principal de detectar principios activos y buscar nuevas drogas que puedan incorporarse al mercado farmacéutico como medicamento, las investigaciones y financiamientos de investigaciones en su mayoría son destinados al estudio de plantas medicinales y sus principios activos (Villa-Ruano et al., 2011).

Desde la antigüedad el hombre ha tratado de buscar fuentes alternas utilizando plantas para tratar enfermedades infecciosas comunes, algunas de estas siguen siendo incluidos como tratamiento para ciertas afecciones (Rios & Recio, 2005). En Paraguay, la utilización de plantas medicinales es una práctica arraigada en la población, las cuales son empleadas en infusiones, decocciones y bebidas refrescantes tradicionales como el terere y té frío (Fernández et al., 2009).

El género *Chenopodium* Linn., en Latinoamérica es muy utilizada en medicina tradicional, ya que posee varios usos farmacológicos, y se emplean para el tratamiento del resfrío, dolor de cabeza, reumatismo y prurito (Yadav et al., 2007). Son varias especies del género que poseen semillas con un alto valor nutricional y son utilizadas en la dieta diaria, así como en la elaboración de panificados (Planchuelo, 1975; Stikic et al., 2012). Especies como

*Chenopodium album* L. Bosc ex Moq. y *Chenopodium ambrosioides* L. poseen actividades antimicrobianas, debido a la presencia de aceites esenciales en las hojas los cuales actúan inhibiendo el crecimiento de las bacterias (Carballo *et al.*, 2005; Yadav *et al.*, 2007; Chandrasekaran *et al.*, 2008; Amjad & Alizad, 2012).

La especie *Chenopodium pilcomayense* Aellen (Aellen, 1943), según la base de datos online Flora del Conosur (2016) y Trópicos (2016), se encuentra distribuido únicamente en Paraguay (Departamentos de Boquerón y Presidente Hayes), y Argentina (Provincias del Chaco, Córdoba, Formosa, Jujuy, La Rioja, Salta, Santiago del Estero y Santa Fe). Sin embargo, no se encontró antecedente alguno de trabajos previos, ni estudios fitoquímicos o microbiológicos con *C. pilcomayense* o algún órgano del mismo, por lo que en este trabajo se propone determinar la acción bactericida del extracto etanólico de *C. pilcomayense*, esperando evidenciar alguna actividad bactericida del extracto de hojas de esta planta nativa, ya que varias especies del género demostraron poseer principios antimicrobianos ante varias especies de bacterias (Maksimović, 2005; Singh *et al.*, 2011; Sati *et al.*, 2015).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material estudiado

*Chenopodium pilcomayense* Aellen.: PARAGUAY. Laguna La Señora, Estancia Agropil, Dep. Boquerón; 23°06'40,7" S - 61°39'10,5" W; 213 msnm; 25-VIII-2015, C. Vogt 1723 (FACEN).

### Preparación del extracto etanólico de *Chenopodium pilcomayense*

Las hojas fueron secadas a temperatura ambiente en ausencia de luz solar y colo-

cadadas en un lugar cerrado para evitar la degradación de los compuestos presentes en las hojas (Hostettmann *et al.*, 2008).

Luego se realizó la molienda con ayuda de un triturador manual, el pulverizado fue tamizado con una malla de 0,05 mm a modo de obtener un triturado homogéneo (Martínez *et al.*, 2012).

Se pesó 30 g del triturado y se mezcló con etanol 98° en una proporción de 250 mL de solvente por cada 15 g de pulverizado, la misma se dejó reposar por 30 días, realizando la agitación esporádica del mismo (González Villa, 2004; Singh *et al.*, 2011).

Luego se procedió al filtrado con un equipo filtrador, y fue llevado a temperatura de 80° C con constante agitación para evaporar el solvente y concentrar el extracto. El concentrado final (extracto crudo) obtenido fue de 3,2 g, exhibiendo de esta manera un rendimiento del 10,7 %.

El extracto crudo se pesó y se redisolvió con etanol 98° a modo de obtener una solución stock de concentración 86 mg.mL<sup>-1</sup> a partir de la cual se realizaron las diluciones de 43 mg.mL<sup>-1</sup> y 21,5 mg.mL<sup>-1</sup> con el fin de llevar a cabo los ensayos de antibiograma de difusión de discos. Dichas concentraciones fueron elaboradas teniendo en cuenta las diluciones empleadas por Amjad & Alizad (2012).

### Activación de microorganismos

Se preparó y pesó un caldo de cerebro corazón (composición típica g.L<sup>-1</sup>: sustrato alimenticio (extracto de cerebro, extracto de corazón, peptona) 27,7; D(+)-glucosa 2,0; Cloruro sódico 5,0; Hidrógenofosfato di-sódico 2,5) ajustado a un pH = 7,4 ± 0,2 a 25° C y se disolvió en agua destilada, en proporciones según las indicaciones del fabricante. Luego se autoclavó por 15 mi-

nutos (121° C a 1 atm de presión), para esterilizarlo y liberarlo de la carga de microorganismos.

Se distribuyeron en tubos de ensayos estériles y se procedió al sembrado de las bacterias (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus* ATCC 10240, *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) realizando dos replicas por cada bacteria.

Se incubaron a una temperatura de 37° C durante 24 horas, transcurrido este tiempo se prepararon medios de cultivo Agar Nutritivo (composición típica en gramos/litro: Peptona de carne 5,0; Extracto de carne 3,0; Agar-agar 12,0), disuelta mediante agitación y calentamiento hasta la ausencia de grumos y fue autoclavado por 15 minutos (121 ° C, 1 atm de presión).

Fueron colocados en placas esterilizadas para llevar a cabo la inoculación de las bacterias para su crecimiento y mantenimiento.

### **Antibiograma de difusión de discos**

Los ensayos se realizaron empleando la metodología propuesta de Bauer *et al.* (1966) con modificaciones, para lo cual se empleó el Agar Müeller-Hinton (composición típica en g.L<sup>-1</sup>: Infusión de carne 300,0; Peptona Caseína Hidrolizada 17,5; Almidón 1,5; Agar 17,0) ajustada a un pH: 7,3 ± 0,1 a 25° C. La misma se elaboró según las indicaciones del fabricante y se autoclavó durante 15 minutos (121° C, 1 atm de presión).

Se cargaron cada placa un volumen de 25 mL de medio de cultivo a temperatura ambiente 25° C y condiciones asépticas. El inóculo de bacterias fue ajustado al estándar de Mc Farland 0.5 correspondiente a una densidad celular aproximada de 1,5 x

10<sup>8</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> por cada placa de cultivo. El sembrado de las placas se realizó empleando el método de siembra en estrías, la cual se llevó a cabo rotando en ángulos de 90° en cada placa.

Se colocaron cinco discos estériles equidistantes entre sí en cada placa, con las diluciones del extracto etanólico (21,5 mg.mL<sup>-1</sup>, 43 mg.mL<sup>-1</sup> y 86 mg.mL<sup>-1</sup>) y los testigos (Sulfatiazol 1 mg.mL<sup>-1</sup> para *M. luteus*, *E. coli*, *E. faecalis*; Azitromicina 1 mg.mL<sup>-1</sup> para *P. aeruginosa*, y agua destilada), las placas fueron selladas e incubadas por 18 horas a 37° C (Bernal & Guzman, 1984). Los tratamientos se realizaron por triplicados.

Luego se procedió a la medición de los diámetros de halos de inhibición con ayuda de un escalímetro de precisión 0,05 mm (Bernal & Guzman, 1984).

### **Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos fueron analizados empleando el test de Kruskal Wallis (Kruskal & Wallis, 1952) para determinar varianza entre tratamientos y el test de Conover (Conover, 1999) como prueba *post hoc* para evaluar diferencia entre medias (primeramente se rechazó el uso del test de ANOVA con previa verificación de sus supuestos). Para los mismos se utilizaron los paquetes estadísticos InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2015) y Past versión 3.0 (Hammer *et al.*, 2001).

Los gráficos estadísticos se realizaron con el software GraphPad Prism 6.01, La Jolla California USA.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los datos obtenidos en el ensayo realizado con *Enterococcus faecalis* con las concentraciones de 21,5 mg.mL<sup>-1</sup>, 43

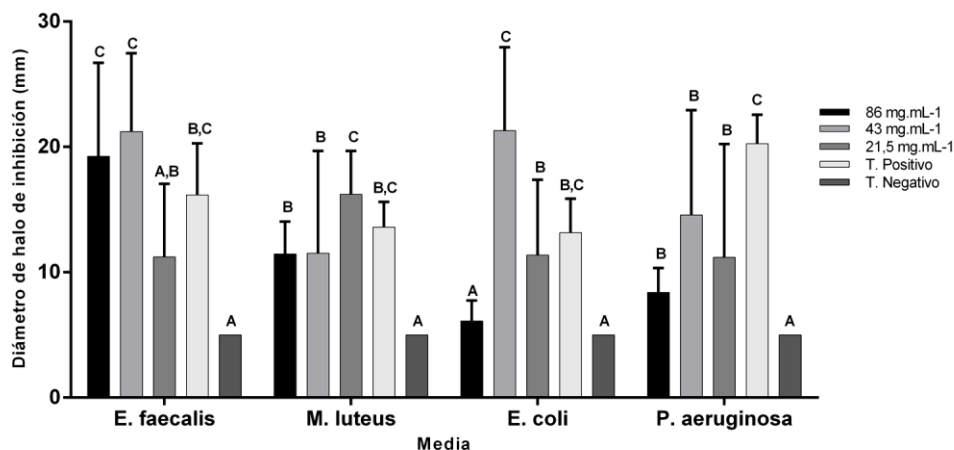
mg.mL<sup>-1</sup> y 86 mg.mL<sup>-1</sup> obtuvieron diámetros de inhibición de 11,23 mm, 21,23 mm y 19,27 mm respectivamente, siendo la concentración de 43 mg.mL<sup>-1</sup> la que obtuvo mayor diámetro de inhibición en el crecimiento bacteriano, evidenciando de

esta manera que todas las diluciones presentaron inhibición pero los tratamientos con 43 mg.mL<sup>-1</sup> y 86 mg.mL<sup>-1</sup> del extracto obtuvieron mayor actividad inhibitoria, no así el extracto de 21,5 mg.mL<sup>-1</sup> que fue similar al testigo positivo (Tabla 1, Fig. 1).

**Tabla 1.** Estadística descriptiva de diámetros de halo de inhibición en cada microorganismo.

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>Media±DE(mm)</b>	<b>Varianza</b>	<b>E.T.</b>
<i>Enterococcus faecalis</i>				
<b>T. Negativo</b>	15	5,00 ± 0,00	0	0,00
<b>T. Positivo</b>	15	16,17 ± 4,12	16,98	1,06
<b>86 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	19,27 ± 7,43	55,21	1,91
<b>43 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	21,23± 6,24	38,96	1,61
<b>21,5 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	11,23± 5,82	33,92	1,50
<i>Micrococcus luteus</i>				
<b>T. Negativo</b>	15	5,00 ± 0,00	0	0,00
<b>T. Positivo</b>	15	13,60± 2,01	4,04	0,52
<b>86 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	11,47± 2,57	6,62	0,66
<b>43 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	11,53± 8,15	66,37	2,10
<b>21,5 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	16,23± 3,45	11,92	0,89
<i>Escherichia coli</i>				
<b>T. Negativo</b>	15	5,00 ± 0,00	0	0,00
<b>T. Positivo</b>	15	13,17± 2,70	7,27	0,70
<b>86 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	6,13± 1,61	2,59	0,42
<b>43 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	21,30± 6,65	44,28	1,72
<b>21,5 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	11,37± 6,02	36,23	1,55
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
<b>T. Negativo</b>	15	5,00 ± 0,00	0	0,00
<b>T. Positivo</b>	15	20,27± 2,30	5,28	0,59
<b>86 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	8,40± 1,94	3,76	0,50
<b>43 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	14,57± 8,36	69,82	2,16
<b>21,5 mg.mL<sup>-1</sup></b>	15	11,20± 9,02	81,42	2,33

N: número de discos, DE: desviación estándar, E.T: Error típico



**Fig. 1:** Medias y desviación estándar de diámetros de halo de inhibición, ajustado al test de Conover (1999). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ).

Elif y colaboradores (2013) utilizando extracto etanólico de hojas de *Chenopodium album* frente a 16 microorganismos diferentes no encontró inhibición alguna con *E. faecalis* y *E. coli* a concentraciones muy bajas de  $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$  y  $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ , sin embargo a la mayor concentración empleada ( $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) obtuvieron un promedio de diámetro de inhibición de 10 mm (Elif et al., 2013).

En otro estudio realizado con *Enterococcus faecalis* y extracto acuoso de *Chenopodium album* se encontró inhibición a concentraciones de  $0,63 \text{ mg.mL}^{-1}$  -  $7,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ , siendo de 14-17 mm el diámetro de los mismos, no así el extracto etanólico de las hojas de *C. album* la cual no presentó actividad alguna contra esta bacteria (Njume et al., 2014).

No obstante, el ensayo llevado a cabo con *Micrococcus luteus* se observaron que con las concentraciones de  $21,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ ,  $43 \text{ mg.mL}^{-1}$  y  $86 \text{ mg.mL}^{-1}$  diámetros de inhibición promedio de 16,23 mm, 11,5 mm y 11,17 mm respectivamente, siendo la concentración de  $21,5 \text{ mg.mL}^{-1}$  la de

mayor diámetro de inhibición en el crecimiento de *M. luteus*. Evidenciándose de esta manera que este tratamiento fue el que exhibió mejores resultados, siendo similar al testigo positivo (Tabla 1; Fig. 1).

A su vez, Elif y colaboradores (2013) encontraron que a mayor concentración del extracto de *C. album* poseían mayor actividad bactericida contra *Micrococcus luteus*, obteniendo una inhibición de 9 mm de diámetro, sin embargo en este estudio se evidenció que este microorganismo fue el más susceptible ya que presentó diámetros de inhibición dentro del rango de 11,17 mm a 16,23 mm.

En otro estudio realizado con el mismo microorganismo y con aceite esencial de las partes aéreas de *Chenopodium ambrosioides* var. *ambrosioides*, la cual contenía  $\alpha$ -Terpineno, Ascaridole y p-Cimeno entre otros compuestos, presentó mayor diámetro de inhibición, en comparación a los hallados en este estudio, con un valor igual a 18,33 mm a una concentración de  $10 \mu\text{L}/\text{disco}$  (Brahim et al., 2015).

El experimento realizado con *Escherichia coli* registraron que los tratamientos con concentraciones de 21,5 mg.mL<sup>-1</sup>, 43 mg.mL<sup>-1</sup> y 86 mg.mL<sup>-1</sup>, poseían en promedio halos de inhibición con diámetros entre 11,37 mm, 21,30 mm y 6,13 mm respectivamente, siendo el tratamiento con 43 mg.mL<sup>-1</sup> la que presentó mayor halo de inhibición. De esta manera se evidenció que los tratamientos con 43 mg.mL<sup>-1</sup> y 21,5 mg.mL<sup>-1</sup> de los extractos los que presentaron resultados significativos en cuanto a la inhibición bacteriana, siendo la concentración de 43 mg.mL<sup>-1</sup> la que presentó mayor diámetro de inhibición en comparación a los demás tratamientos (Tabla 1; Fig. 1).

Estos resultados fueron similares a los encontrados con el extracto metanólico de hojas de *C. album* (a una concentración aproximada de 60 mg.mL<sup>-1</sup>), la cual proporcionó una inhibición promedio de 21,00 mm de diámetro, siendo inclusive mucho mejor en relación al extracto acuoso del mismo a una concentración similar a la del extracto metanólico, con el cual se obtuvo un diámetro de inhibición de 19,50 mm (Singh *et al.*, 2011). También se ha observado mejores resultados en comparación al estudio elaborado con aceite esencial extraído de las partes aéreas de *C. ambrosioides* var. *ambrosioides* (10 µL/disco), con el cual se obtuvo una inhibición de 19,17 mm (Brahim *et al.*, 2015). Otro estudio con el extracto etanólico de las hojas de *C. ambrosioides* (100, 200 y 300 µ/ml) reveló una inhibición de 19, 21 y 23 mm de diámetro respectivamente frente a la misma bacteria (Sharma *et al.*, 2013). En otro trabajo realizado con los aceites esenciales de *C. ambrosioides* evidenció que la inhibición total del crecimiento de *E. coli* se produjo a concentración de 26,35

mg.mL<sup>-1</sup>, en cambio la inhibición más baja se evidenció a menores concentraciones de entre 6,69 – 6,89 mg.mL<sup>-1</sup> (Alitonou *et al.*, 2012).

Sin embargo, Brahim y colaboradores (2015) observaron que los aceites esenciales son más efectivos sobre el crecimiento de *E. coli*, en nuestros resultados la mayor inhibición del crecimiento fue con *M. luteus* a bajas concentraciones del extracto *C. pilcomayense* (Brahim *et al.*, 2015).

Por último, el ensayo realizado con *Pseudomonas aeruginosa* revelaron que los tratamientos de 21,5 mg.mL<sup>-1</sup>, 43 mg.mL<sup>-1</sup>, y 86 mg.mL<sup>-1</sup> promediaron diámetro de inhibición de 11,20 mm, 14,57 mm y 8,40 mm respectivamente, los tratamientos con los extractos no exhibieron halos de inhibición mayores que la del testigo positivo. Todos presentaron inhibición ante el crecimiento bacteriano, sin embargo, el testigo positivo fue el que presentó mayor inhibición en comparación a los demás tratamientos (Tabla 1; Fig. 1).

Sin embargo, en el estudio realizado por Elif *et al.* (2013) con la concentración de 1000 µg del extracto etanólico de *C. album* obtuvieron un halo de inhibición promedio de 12 mm, dichos resultados fueron similares a las encontradas en este estudio, pero cabe denotar que las concentraciones empleadas en este tratamiento fueron entre 21 a 43 veces mayor a las utilizadas por Elif y colaboradores. En comparación a otros estudios realizados con extractos acuoso y metanólico (a concentración aproximada de 60 mg.mL<sup>-1</sup>) de hojas de *C. album* revelaron diámetros de inhibición iguales a 16,6 mm y 18 mm respectivamente (Singh *et al.*, 2011). Ensayos llevados a cabo con la misma bacteria con extracto etanólico de *C. ambrosioides* (200 y 300 µ.mL<sup>-1</sup>) evidenciaron una

inhibición de 14 y 19 mm de diámetro aceites esenciales de *C. ambrosioides* (10 respectivamente (Sharma *et al.*, 2013). No  $\mu\text{L}/\text{disco}$ ) fue de 7,17 mm (Brahim *et al.*, obstante, la inhibición obtenida frente a 2015).

**Tabla 2.** Test de Kruskal-Wallis (1952) y prueba *post-hoc* de comparacion entre medias de Conover (1999).

<b>Variable: Diámetro de halos de inhibición (mm)</b>				
	<b>Test K-W</b>			<b>Test Conover</b>
<i>Enterococcus faecalis</i>				
<b>Tratamientos</b>	<b>N</b>	<b>H</b>	<b>P</b>	<b>Rangos</b>
21,5mg.mL <sup>-1</sup>	15			27,53 AB
43mg.mL <sup>-1</sup>	15	42,58	<0,0001	57,93 C
86mg.mL <sup>-1</sup>	15			50,07 C
T. Negativo	15			12,00 A
T. Positivo	15			42,47 BC
<i>Micrococcus luteus</i>				
21,5mg.mL <sup>-1</sup>	15			57,20 C
43mg.mL <sup>-1</sup>	15	36,34	<0,0001	35,30 B
86mg.mL <sup>-1</sup>	15			37,57 B
T. Negativo	15			12,00 A
T. Positivo	15			47,93 BC
<i>Escherichia coli</i>				
21,5mg.mL <sup>-1</sup>	15			39,23 B
43mg.mL <sup>-1</sup>	15	45,29	<0,0001	63,10 C
86mg.mL <sup>-1</sup>	15			23,40 A
T. Negativo	15			16,00 A
T. Positivo	15			48,27 BC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
21,5mg.mL <sup>-1</sup>	15			33,83 B
43mg.mL <sup>-1</sup>	15	35,14	<0,0001	45,17 B
86mg.mL <sup>-1</sup>	15			34,57 B
T. Negativo	15			15,50 A
T. Positivo	15			60,93 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $P > 0,05$ ). **K-W**: Kruskal-Wallis, **N**: número de discos, **H**: estadístico de la prueba de Kruskal-Wallis, **P**: valor de probabilidad



Los resultados encontrados en cada tratamiento para todos los microorganismos testeados, evidenciaron diferencias significativas ( $P < 0,0001$ ) siendo entre todos los tratamientos la concentración de 43 mg.mL<sup>-1</sup> la de mayor inhibición del crecimiento de las bacterias *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, sin embargo, la concentración de 21,5 mg.mL<sup>-1</sup> fue óptima en la inhibición para *Micrococcus luteus* (Tabla 2).

Los efectos inhibitorios obtenidos se deberían a la presencia de sustancias apolares que son comunes en plantas del género *Chenopodium*, los mismos podrían corresponder específicamente a terpenoides, los cuales podrían también estar presentes en las hojas de *C. pilcomayense* (Sikarwar *et al.*, 2013; Njume *et al.*, 2015). El efecto antibacteriano debido a los terpenos y terpenoides, los cuales son componentes apolares, contienen características lipofílicas los cuales pueden envolver a los microorganismos e inestabilizar sus membranas celulares, aumentando la permeabilidad de la misma y promoviendo de esta forma la lisis celular (Cowan, 1999; Brahim *et al.*, 2015).

Las sustancias apolares reflejan características biofísicas y biológicas típicas, sus efectos pueden depender de otros metabolitos secundarios que se encuentran en menor proporción dando un efecto sinérgico a los mismos (Bakkali *et al.*, 2008). Las interacciones existentes entre metabolitos secundarios ocurren en la mixtura de los mismos, como es el caso de los extractos elaborados a partir de los órganos vegetales, donde el efecto del mismo es la sumatoria de los efectos de cada una de ellas. Esto podría generar interferencias sobre la farmacocinética de las moléculas afectando la absorción de las mismas (Casanova &

Costas, 2017). La inhibición no correlacionada hallada en este trabajo podría ser a consecuencia de la concentraciones de las moléculas en los extractos (la dosis de las mismas) y el sinergismo que puede estar ocurriendo entre dichas moléculas, exhibiendo efectos óptimos en las concentraciones de 43 mg.mL<sup>-1</sup> y 21,5 mg.mL<sup>-1</sup> del extracto etanólico de las hojas de *C. pilcomayense*.

## CONCLUSIONES

Las distintas concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Chenopodium pilcomayense* han demostrado poseer actividad antibacteriana frente a bacterias Gram Positivas (*Enterococcus faecalis* y *Micrococcus luteus*), como en bacterias Gram Negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*), obteniendo diferencias significativas entre diámetros de los halos de inhibición presentes en cada tratamiento con empleado, siendo la concentración del extracto más efectiva en la inhibición del crecimiento bacteriano fueron de 43 mg.mL<sup>-1</sup> y 21,5 mg.mL<sup>-1</sup>.

## AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros sinceros agradecimientos al Dr. Christian Vogt por proveernos ejemplares vegetales para llevar a cabo el estudio, a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN) por la ayuda brindada para el desarrollo de esta investigación.

## REFERENCIAS

Aellen, P. y T. Just. 1943. Key and synopsis of the American species of the genus *Chenopodium* L. *The Amer-*

- ican *Midland Naturalist* 30 (1): 47–76. doi: 10.2307/2421263
- Alitonou, G.A.; Sessou, P.; Tchobo, F.P.; Noudogbessi, J.P.; Avlessi, F.; Yehouenou, B. y D.C.K. So-hounhloue. 2012. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Chenopodium ambrosioides* L. collected in two areas of Benin. *International Journal of Biosciences* 2(8): 58–66.
- Amjad, L. y Z. Alizad. 2012. Antibacterial Activity of the *Chenopodium album* leaves and flowers extract. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 61: 903–906.
- Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D. y M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology* 46(2): 446–475. doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106
- Bauer; A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C. y M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology* 45(4): 493–496.
- Bernal, M. y M. Guzmán. 1984. El Antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-bauer. *Bio-médica* 4(3–4):112–121.
- Blanc, D.S.; Petignat, C.; Janin, B., Bille, J. y P. Francioli. 1998. Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: a prospective epidemiologic study. *Clinical microbiology and infection* 4(5): 242–247.
- Brahim, M.A.S.; Fadli, M.; Hassani, L.; Boulay, B.; Markouk, M.; Bekkouche, K.; Abbad, A.; Ali, M. A. y M. Larhsini. 2015. *Chenopodium ambrosioides* var. *ambrosioides* used in Moroccan traditional medicine can enhance the antimicrobial activity of conventional antibiotics. *Industrial Crops and Products* 71: 37–43. doi: 10.1016/j.indcrop.2015.03.067
- Carballo, M.A.; Cortada, C.M. y A.B. Galdano. 2005. Riesgos y beneficios en el consumo de plantas medicinales. *Theoria* 14(2): 95–108.
- Casanova, L.M., y S.S. Costa. 2017. Interações sinérgicas em produtos naturais: potencial terapêutico e desafios. *Revista Virtual de Química* 9(2): 575–595.
- Chandrasekaran, M.; Kannathasan, K. y V. Venkatesalu. 2008. Antimicrobial activity of fatty acid methyl esters of some members of Chenopodiaceae. *Zeitschrift für Naturforschung C* 63(5–6): 331–336.
- Conover, W.J. 1999. Practical nonparametric statistics. 3ra Edición. Wiley. New York. 250–257.
- Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews* 12(4): 564–582.
- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; González, L.; Tablada, M. y C.W. Robledo. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL: <http://www.infostat.com.ar>.
- Elif, K. S.; Aksoy, O.; Erdoğan, S. F.; Çiğerci, İ. H. y M. Konuk. 2013. Evaluation of antibacterial, antioxidant and DNA protective capacity of *Chenopodium album* ethanolic

- leaf extract. *Chemosphere* 90(2): 374–379. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.07.30
- Escherich, T. 1885. Die Darmbakterien des Neugeborenen und Säuglings. *Fortschritte der Medizin* 3 (16): 515–522.
- Fernández, V.; Sales, L.; Gómez, A.; Cabañas, F. y J. Alfonso. 2009. Evaluación citotóxica de *Psidium guajava* L. utilizando como bioensayo el *Allium* test. *Steviana* 1: 51-58.
- Flora Del Conosur. Flora De Argentina. 2016. [online]. Disponible en: <http://www2.darwin.edu.ar/Proyectos/FloraArgentina/DetalleEspecie.asp?forma=&variedad=&subespecie=&especie=pilcomayense&genero=Chenopodium&espcod=5928> [Accedido 23 Sep. 2016].
- Fosse, T.; Toga, B.; Peloux, Y.; Granthil, C.; Bertrando, J. y M. Sethian. 1985. Meningitis due to *Micrococcus luteus*. *Infection* 13(6): 280–281.
- González Villa, A.A. (2004). Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales).
- Hammer, O.; Harper, D.A.T. y P.D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 1–9.
- Harrington, S.M.; Dudley, E.G. y J.P. Nataro. 2006. Pathogenesis of enteroaggregative *Escherichia coli* infection. *FEMS microbiology letters* 254(1): 12–18.
- Hostettmann, K.; Gupta, M. P.; Marston, A. y E. Ferreira Quiroz. 2008. Manual de estrategias para aislamiento de productos naturales bioactivos. Secretaría Ejecutiva de la Organización del Convenio Andrés Bello. Colombia. 234p.
- Kruskal, W.H. y W.A. Wallis. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American statistical Association* 47(260): 583-621. doi: 10.1080/01621459.1952.10483441
- Maksimović, Z.A.; Dordević, S. y M. Mraović. 2005. Antimicrobial activity of *Chenopodium botrys* essential oil. *Fitoterapia* 76(1): 112-114. doi: 10.1016/j.fitote.2004.10.005
- Martínez, M.; Mancuello, M.; Brítez F.; Pereira, C., Arrúa, J.; Franco, G., Contei, M.; Iañez, V.; González, F.; Benítez, B.; López, T.; Pérez, S.; Ferreira, F. 2012. Caracterización química y actividades biológicas de Lapachol aislado de *Handroanthus heptaphyllus* (Vell.) Mattos. *Steviana* 4: 47–64.
- Njume, C.; Gqaza, B.M.; George, G. y N.I. Goduka. 2014. Inhibitory and Bactericidal Potential of Some Indigenous Functional Food-Plants Used in the OR Tambo District Municipality of South Africa. *Journal of Biosciences and Medicines* 2(06): 34. doi: 10.4236/jbm.2014.26006
- Orla-Jensen, S. 1919. The lactic acid bacteria. *Memoirs of the Academy of the Royal Society of Denmark*. 85: 81–197.
- Planchuelo, A.M. 1975. Estudio de los frutos y semillas del género *Chenopodium* en la Argentina. *Darwiniana* 528–565.

- Poulsen, L.L.; Bisgaard, M.; Son, N.T.; Trung, N.V.; An, H.M. y A. Dalsgaard. 2012. *Enterococcus faecalis* clones in poultry and in humans with urinary tract infections, Vietnam. *Emerging infectious diseases* 18(7): 1096–1100.
- Rios, J.L. y M.C. Recio. 2005. Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of ethnopharmacology* 100(1): 80–84. doi: 10.1016/j.jep.2005.04.025
- Ruggero, K.A.; Schroeder, L.K.; Schreckenberger, P.C.; Mankin, A.S. y J.P. Quinn. 2003. Nosocomial superinfections due to linezolid-resistant *Enterococcus faecalis*: evidence for a gene dosage effect on linezolid MICs. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 47(3): 511–513.
- Sati, S.C.; Takuli, P.; Kumar, P. y K. Khulbe. 2015. Antibacterial activity of three medicinal plants of Kumaun Himalaya against some pathogenic bacteria. *International Journal of Pharma Sciences and Research* 6–11.
- Schleifer, K.H. y R. Kilpper-Bälz. 1984. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the Genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 34(1): 31–34.
- Schröeter, J. 1872. Ueber einige durch Bakterien gebildete Pigmente. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 1(2): 109–126.
- Sharma, S.; Upadhyay, S.; Mistry, S.; Shukla, K.; Upadhyay, U. y S. Mahajan. 2013. Comparative antibacterial activity of *Lagenaria siceraria*, *Momordica charantia* and *Chenopodium ambrosioides* against certain human pathogens. *Pharma Science Monitor* 4(1): 3376–3390.
- Sikarwar, I.; Wanjari, M.; Baghel, S.S. y P. Vashishtha. 2013. A review on phytopharmacological studies on *Chenopodium album* Linn. *American Journal of Pharm Research* 3(4): 3089–3098.
- Singh, K.P.; Dwevedi, A.K. y G. Dhakre. 2011. Evaluation of antibacterial activities of *Chenopodium album* L. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 2(3): 398–401.
- Stikic, R.; Glamoclija, D., Demin, M.; Vucelic-Radovic, B.; Jovanovic, Z.; Milojkovic-Opsenica, D.; Jacobsen, S.E.; Milovanovic, M. 2012. Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. *Journal of Cereal Science* 55(2): 132–138. doi: 10.1016/j.jcs.2011.10.010
- Tropicos. Org. 2016. Tropicos | Name - *Chenopodium pilcomayense* Aellen. [online] Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/50081858?tab=specimens> [Accedido 23 Sep. 2016].
- Villa-Ruano, N.; Pacheco-Hernández, Y.; Lara-Zaragoza, E.B.; Franco-Monsreal, J.; Cardeña-Bozziere, I. M.; Galván-Valencia, O.T. y L.M. Ruiz-Gómez. 2011. Biotecnología de plantas medicinales: generando fármacos de un futuro tornado pre-

- sente. *Temas de Ciencia y Tecnología* 15(43): 13–20.
- World Health Organization. 2014. Antimicrobial resistance global report on surveillance: 2014 summary.
- Yadav, N.; Vasudeva, N.; Singh, S. y S.K. Sharma. 2007. Medicinal properties of genus *Chenopodium* Linn. *Natural Product Radiance* 6(2): 131–134.