

## Efecto antibacteriano del extracto metanólico de *Salix babylonica* sobre bacterias de importancia en salud pública

Antibacterial effect of the methanol extract of *Salix babylonica* against important bacteria in public Health

González-Alamilla Eddy<sup>1</sup>, Rivas-Jacobo Marco<sup>1</sup>, Sosa-Gutiérrez Carolina<sup>2</sup>, Delgadillo-Ruiz Lucía<sup>3</sup>, Valladares-Carranza Benjamín<sup>4</sup>, Rosenfeld-Miranda Carla<sup>5</sup>, Zaragoza-Bastida Adrián<sup>2\*</sup>, Rivero-Pérez Nallely<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Agronomía y Veterinaria. <sup>2</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. <sup>3</sup>Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas. Zacatecas, México. <sup>4</sup>Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, <sup>5</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Austral de Chile, Isla Teja s/n, Casilla 567, Valdivia, Chile  
\*Autor responsable y de correspondencia: Adrián Zaragoza-Bastida, Nallely Rivero-Pérez. Rancho universitario Av. Universidad km. 1, Ex Hacienda de Aquetzalpa, Apartado Postal No. 32, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. eddynglez24@gmail.com, marco.rivas@uaslp.mx, carolina\_sosa@uaeh.edu.mx, delgadillolucia@gmail.com, crosenfe@uach.cl, adrian\_zaragoza@uaeh.edu.mx, nallely\_rivero@uaeh.edu.mx.

### RESUMEN

El uso excesivo de antimicrobianos ha generado resistencia de los microorganismos a estos, se han buscado alternativas que sean eficaces para el tratamiento de enfermedades producidas por microorganismos resistentes o multirresistentes a antibióticos, dentro de estas alternativas están las plantas, las cuales por su contenido de compuesto secundarios presentan actividad antibacteriana. El objetivo del presente estudio fue caracterizar y determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico de *Salix babylonica* (SB) sobre bacterias de importancia en salud pública. Para la obtención del extracto se utilizó la técnica de maceración, se realizó una caracterización química cualitativa y cuantitativa por cromatografía de gases. Para determinar la actividad antibacteriana, se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB) y la caracterización del extracto permitió identificar compuestos fenólicos, cumarinas, lactonas, flavonoles, quinonas, saponinas, triterpenos y compuestos esteroidales, además de Timol (0.5319 mg/mL) y Carvacrol (0.4158 mg/ml). Con respecto a la actividad antibacteriana la mejor actividad se presentó contra *Bacillus subtilis* (CMI: 12.5 mg/mL y CMB: 25 mg/mL), *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* (CMI: 25 mg/mL y CMB: 50 mg/mL). Se concluye que el extracto metanólico de SB puede ser una alternativa para el tratamiento de enfermedades producidas por bacterias resistentes o multirresistentes a antibióticos.

**Palabras clave:** *Salix babylonica*, caracterización, efecto antibacteriano.

### ABSTRACT

The excessive use of antibiotics, has generated resistance of microorganisms to these, have been searched effective alternatives for treating diseases caused by resistant or multiresistant microorganism, within of these alternatives are plants, which by its content of secondary compounds have antibacterial activity. The aim on the present experiment was characterize and determine the antibacterial activity of methanolic extract of *Salix babylonica* (SB) against important bacteria in public health. To obtain extract, the maceration technique was used, qualitative and quantitative (gas chromatography) chemical characterization was carried. For antibacterial activity, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was determined, the characterization of the extract allowed the identification of

phenolic compounds, coumarins, lactones, flavonols, quinones, saponins, triterpenes and steroidal compounds, also Thymol (0.5319 mg/mL) and Carvacrol (0.4158 mg/mL). The extract showed the best activity against *Bacillus subtilis* (MIC: 12.5 mg/mL and WBC: 25 mg/mL), *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* (MIC: 25 mg/mL and MBC: 50 mg/mL). It is concluded that the methanolic extract of SB can be an alternative for the treatment of diseases produced by resistant or multiresistant bacteria to antibiotics.

**Keywords:** *Salix babylonica*, characterization, antibacterial effect.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas provocadas por microorganismos, han sido unas de las causas más importantes de muerte en la humanidad ([Lozano et al., 2012](#)). Los agentes bacterianos incluyendo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Proteus vulgaris* han provocado enfermedades infecciosas importantes dentro de la salud pública ([Khan et al., 2013](#)).

La introducción de agentes antimicrobianos en la medicina, ha sido una de las intervenciones más importantes para controlar y disminuir la prevalencia de las enfermedades infecciosas ([Alós, 2015](#)); sin embargo, una amenaza creciente en los últimos años que ha disminuido la eficacia de estos fármacos, es la resistencia bacteriana a los antibióticos; generada debido a que los microorganismos han adquirido la capacidad para evitar que un antimicrobiano actúe contra él. Como resultado, los tratamientos de elección se vuelven ineficaces, las infecciones persisten y pueden extenderse a otros individuos ([WHO, 2017](#)).

En la mayoría de las poblaciones de diferentes países en desarrollo, la humanidad ha usado plantas para tratar enfermedades infecciosas comunes, que podrían ser una alternativa potencial para producir nuevos fármacos de gran beneficio a la salud ([Renisheya et al., 2011](#); [Khan et al., 2013](#)).

Una de las plantas considerada importantes para el estudio de sus propiedades fotoquímicas es *Salix babylonica*, conocido comúnmente como Sauce llorón. Esta especie pertenece al género *Salix* de la familia Salicáceas, *Salix babylonica* es una de las especies más conocidas dentro de los sauces, distribuido en algunas zonas de Asia, Europa y América; utilizada comúnmente como planta ornamental y medicinal ([Wahab et al., 2018](#)).

Existen reportes en los que se evidencian las propiedades farmacológicas asociadas a la evaluación de extractos de hojas, corteza y tallos; obtenidos a partir de *Salix babylonica*. Dentro de las propiedades fitoquímicas atribuibles a *Salix babylonica*, se encuentran: actividad antihelmíntica, antiséptica, antiartrítica, astringente, analgésica, anticancerígena, antipirética, antimalaria, antioxidante, antimicótica, antihelmíntica y antibacteriana; estas propiedades se asocian a su contenido de compuestos secundarios como fenólicos totales, flavonoides, terpenos y lignanos ([Sulaiman et al., 2013](#); [Wahab et al., 2018](#)).

Con base en los planteamientos anteriormente mencionados, el objetivo del presente trabajo de investigación fue caracterizar y determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico de *Salix babylonica*, sobre bacterias de importancia en salud pública.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Obtención del extracto

Para la obtención del extracto se recolectó aproximadamente 1 kg de material vegetal de *Salix babylonica* en diferentes etapas fenológicas, éstas fueron colectadas en el municipio de Tulancingo, Hidalgo. La parte aérea recolectada de *Salix babylonica* se llevó a secado a sombra a temperatura ambiente, posteriormente al secado se trituró y se realizó la técnica de maceración. Se maceraron 250 g del material seco en 1000 ml de metanol durante 48 horas a temperatura ambiente y en ausencia de luz. Se obtuvo el extracto líquido de la maceración mediante una filtración con papel filtro (Whatman® 42) y algodón. El extracto líquido obtenido fue concentrado a presión reducida en un evaporador rotatorio, con el fin de eliminar los solventes y concentrar los metabolitos secundarios, de acuerdo con la metodología descrita por [Rivero et al., 2016](#).

### Caracterización química del extracto metanólico de *Salix babylonica*

**Perfil químico cualitativo:** Al extracto se le realizó el perfil químico de acuerdo con el procedimiento descrito por [Bañuelos-Valenzuela et al., 2018](#), para la de determinación de instauraciones, fenolicos, esteroides, triterpenos, cumarinas, sesquiterpenlactonas, flavonoides, alcaloides, tanidos, fluorataninos, esteroides y saponinas.

**Cromatografía de gases:** La composición química se determinó mediante una cromatografía de gases (CG; Agilent Tecnologías serie 6890N fabricado en U.S.A), con una columna polar DB\_WAXetr, a 250 °C y 12.13 psi con un flujo de He 36.5 ml min<sup>-1</sup> después de la inyección. Las condiciones para la columna fueron: temperatura inicial 50 °C de cero a dos min, aumentando de 10 en 10 °C hasta llegar a 250 °C, manteniendo la temperatura constante por 5 min para luego descender a 50 °C por dos min con un flujo de He de 1.6 ml min<sup>-1</sup> a una presión de 12.13 psi y una velocidad promedio de 25 cm s<sup>-1</sup>, utilizando un detector de flama ionizante (FID), a una temperatura de 210 °C con un flujo de H<sub>2</sub> de 40 ml min<sup>-1</sup> y un flujo de aire de 450 ml min<sup>-1</sup>. Los estándares (Sigma-Aldrich), se utilizaron en concentraciones diferentes (cuadro1).

### Actividad antibacteriana

Para determinar la actividad antibacteriana del extracto metanólico de *Salix babylonica*, se utilizaron los siguientes métodos: Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la concentración Mínima Bactericida (CMB), siguiendo las especificaciones del CLSI (CLSI, 2012).

**Cuadro 1. Concentraciones de estándares empleados para la determinación química del extracto metanólico de *Salix babylonica* mediante cromatografía de gases.**

| Estándar | Compuesto mg/mL <sup>-1</sup> |           |         |           |          |
|----------|-------------------------------|-----------|---------|-----------|----------|
|          | Timol                         | Carvacrol | Linalol | Terpineno | Limoneno |
| 1        | 10.373                        | 8.284     | 7.744   | 7.154     | 8.496    |
| 2        | 5.186                         | 4.142     | 3.872   | 3.577     | 4.248    |
| 3        | 2.593                         | 2.071     | 1.936   | 1.789     | 2.124    |
| 4        | 1.297                         | 1.035     | 0.968   | 0.894     | 1.062    |
| 5        | 0.648                         | 0.518     | 0.484   | 0.447     | 0.531    |
| 6        | 0.324                         | 0.259     | 0.242   | 0.224     | 0.265    |

La prueba de actividad antimicrobiana se llevó a cabo con las cepas ATCC 6538 de *Staphylococcus aureus*, 6633 de *Bacillus subtilis*, 35218 de *Escherichia coli*, 9027 de *Pseudomonas aeruginosa*, 14028 de *Salmonella typhi*, 10708 de *Salmonella choleraesuis* y 19113 de *Listeria monocytogenes*. Se inoculó una colonia de cada bacteria en caldo nutritivo (BD Bioxon), el cual fue incubado en agitación constante (70 rpm) por 24 horas a 37°C. Trascurrido el tiempo de incubación, el inóculo se ajustó con caldo nutritivo al 0.5 del patrón de turbidez de Mc Farland, el cual corresponde a  $150 \times 10^6$  cel/ml.

Para la determinación de la CMI se utilizó el método de microdilución en placa, utilizando concentraciones de 400, 200 100, 50, 25, 12.50, 6.25, 3.12 mg/ml, del extracto metanólico de *Salix babylonica*. Cada concentración fue preparada con caldo nutritivo (BD Bioxon). El procedimiento se realizó por triplicado en placas de 96 pozos, colocando 100 µl de cada una de las diluciones del extracto más 10 µl de la suspensión bacteriana, previamente ajustada a 0.5 de McFarland. Una vez realizada la inoculación la placa se incubó a 37°C durante 24 horas a 70 rpm en agitación constante, el control positivo fue Kanamicina (AppliChem 4K10421) a concentraciones de 64, 32, 16, 8.0, 4.0, 2.0, 1.0 y 0.5 µg/ml y el control negativo fue caldo nutritivo.

Para determinar la CMI se empleó un método colorimétrico, basado en el uso de sales de tetrazolium ([Balouiri et al., 2016](#)). Una vez transcurrido el tiempo de incubación se agregaron 20 µl de una solución al 0.04% (w/v) de p-iodonitrotetrazolium en cada pozo; se incubó por 30 minutos a 37°C y se procedió a hacer la lectura, determinándose como la concentración mínima inhibitoria, la concentración a la cual la solución vira a rosa ([Kaewpiboon et al., 2012](#); [Mothana et al., 2009](#)).

Para determinar la CMB, previa adición del p-iodonitrotetrazolium, se inocularon 5 µl de cada pozo en agar Mueller Hinton, para posteriormente incubar a 37°C durante 24 horas. Trascurrido el tiempo de incubación se procedió a hacer la lectura para determinar la concentración mínima bactericida del extracto, es decir la concentración a la cual no se observó crecimiento bacteriano en la placa.

## RESULTADOS

La caracterización cualitativa realizada al extracto metanólico de *Salix babylonica*, indican la presencia de insaturaciones, oxidrilos fenólicos, cumarinas, lactonas, flavonoles, quinonas, saponinas, aromaticidad y polifenoles; además de ser positivo a la prueba de Lieberman-Buchard, la cual indica la presencia de triterpenos y compuestos esteroidales. (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Pruebas cualitativas de perfil químico del extracto metanólico de *Salix babylonica*.**

| Prueba               | Resultado |
|----------------------|-----------|
| Insaturación         | +         |
| Oxidrilos Fenolicos  | +         |
| Cumarinas            | +         |
| Lactonas             | +         |
| Salkowski            | -         |
| Flavonoles           | +         |
| Flavonas             | -         |
| Chalconas            | -         |
| Quinonas             | +         |
| Shinoda              | -         |
| Sesquiterpenlactonas | -         |
| Agitación            | +         |
| Bicarbonato          | -         |
| Saponinas            | +         |
| Aromaticidad         | +         |
| Triterpenos          | +         |
| Taninos              | -         |
| Florataninos         | +         |
| Esteroides           | +         |

### Composición química

El análisis en el cromatógrafo de gases fue de 20 min con un tiempo de retención para terpineno de 6.40 min, limoneno 6.66 min, linalol 11.28 min, timol 18.04 min y carvacrol 18.37 min. Para calcular la concentración de las muestras se trabajó con cinco estándares con seis concentraciones cada uno (cuadro 1).

Una vez realizadas las curvas de calibración y teniendo las ecuaciones, se determinó que el extracto metanólico de *Salix babylonica* contiene Timol y Carvacrol en concentraciones de 0.5319 mg/ml, 0.4158 mg/ml respectivamente. Cuadro 3.

**Cuadro 3. Composición química del extracto metanólico de *Salix babylonica***

| <i>Estándar/<br/>Extracto</i> | <b>Compuesto mg/mL</b> |          |          |               |               |
|-------------------------------|------------------------|----------|----------|---------------|---------------|
|                               | Terpineno              | Limoneno | Linalol  | Timol         | Carvacrol     |
| 1                             | 10.373                 | 8.284    | 7.744    | 7.154         | 8.496         |
| 2                             | 5.186                  | 4.142    | 3.872    | 3.577         | 4.248         |
| 3                             | 2.593                  | 2.071    | 1.936    | 1.789         | 2.124         |
| 4                             | 1.297                  | 1.035    | 0.968    | 0.894         | 1.062         |
| 5                             | 0.648                  | 0.518    | 0.484    | 0.447         | 0.531         |
| 6                             | 0.324                  | 0.259    | 0.242    | 0.224         | 0.265         |
| <i>Salix<br/>babylonica</i>   | <b>0</b>               | <b>0</b> | <b>0</b> | <b>0.5319</b> | <b>0.4158</b> |

### Actividad antibacteriana

#### Concentración mínima inhibitoria

La concentración mínima inhibitoria del extracto metanólico de *Sális babylonica*, fue de 100 mg/ml para *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella cholerasuis* y *Pseudomonas aeruginosa*; 25 mg/ml para *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. La concentración más baja a la que el extracto tuvo actividad fue de 12.5 mg/ml, frente a *Bacillus subtilis* (cuadro 4).

**Cuadro 4. Concentración Mínima Inhibitoria del extracto metanólico de *Salix babylonica***

| <i>Bacteria</i>               | <b>Concentraciones (mg/mL)</b> |     |     |    |     |      |      |      |
|-------------------------------|--------------------------------|-----|-----|----|-----|------|------|------|
|                               | 400                            | 200 | 100 | 50 | 25  | 12.5 | 6.25 | 3.12 |
| <i>Escherichia coli</i>       | -                              | -   | CMI | +  | +   | +    | +    | +    |
| <i>Salmonella typhi</i>       | -                              | -   | CMI | +  | +   | +    | +    | +    |
| <i>Salmonella cholerasuis</i> | -                              | -   | CMI | +  | +   | +    | +    | +    |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | -                              | -   | CMI | +  | +   | +    | +    | +    |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | -                              | -   | -   | -  | CMI | +    | +    | +    |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | -                              | -   | -   | -  | CMI | +    | +    | +    |
| <i>Bacillus subtilis</i>      | -                              | -   | -   | -  | -   | CMI  | +    | +    |

(-) Sin cambio de color, (+) Cambio de color

#### Concentración mínima bactericida

Se determinó que la concentración mínima bactericida del extracto metanólico de *Sális babylonica* fue 200 mg/ml; para *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella cholerasuis* y *Pseudomonas aeruginosa*, 50 mg/ml; y para *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* y de 25 mg/ml para *Bacillus subtilis* (cuadro 5).

**Cuadro 5. Concentración Mínima Bactericida del extracto metanólico de *Salix babylonica***

| <i>Bacteria</i>                | Concentraciones (mg/mL) |     |     |     |     |      |      |      |
|--------------------------------|-------------------------|-----|-----|-----|-----|------|------|------|
|                                | 400                     | 200 | 100 | 50  | 25  | 12.5 | 6.25 | 3.12 |
| <i>Escherichia coli</i>        | -                       | CMB | +   | +   | +   | +    | +    | +    |
| <i>Salmonella typhi</i>        | -                       | CMB | +   | +   | +   | +    | +    | +    |
| <i>Salmonella choleraesuis</i> | -                       | CMB | +   | +   | +   | +    | +    | +    |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | -                       | CMB | +   | +   | +   | +    | +    | +    |
| <i>Staphylococcus aureus</i>   | -                       | -   | -   | CMB | +   | +    | +    | +    |
| <i>Listeria monocytogenes</i>  | -                       | -   | -   | CMB | +   | +    | +    | +    |
| <i>Bacillus subtilis</i>       | -                       | -   | -   | -   | CMB | -    | -    | -    |

(-) Sin crecimiento, (+) Crecimiento

## DISCUSIÓN

Por medio de las pruebas cualitativas se determinó la presencia de insaturaciones, oxidrilos fenólicos, cumarinas, lactonas, flavonoles, quinonas, fluorataninos, esteroides triterpenos y saponinas en el extracto metonólico de *Salix babylonica*. En estudios previos se han identificado compuestos como tritetracontano, 1,2,3-propanetriol éster ácido octadecanoico, éster metílico del ácido hexadecanoico y 1,3-dioxano-4-(hexadecil oxo)-2-pentadecilo; la mayoría de ellos clasificados como compuestos fenólicos, además de 7-O-β-D-glucopiranosido de luteolina, luteolina y crisoeriol; compuestos clasificados como flavonoides (Salem et al., 2011).

Se han reportado actividades biológicas como anticancerígena, antiulcerosa, antimalaria, antidiarreica, antimicótica, antitusígena, antiinflamatoria, antihelmíntica y antibacteriana; en estudios realizados con compuestos fenólicos, alcaloides, glicósidos y terpenos (Hernández-Alvarado et al., 2018).

Por otro lado, la cromatografía de gases permitió identificar Timol y Carvacrol a concentraciones de 0.5319 mg/ml, 0.4158 mg/ml respectivamente. Estos compuestos están clasificados como aceites esenciales de naturaleza volátil, con algunas actividades biológicas reportadas como: expectorantes, antifúngicas, antiinflamatorias, analgésicas, antisépticas, antioxidantes, antirreumáticas, antiespasmódico, anti-hepatotóxicas y antibacterianas; tanto frente a bacterias Gram positivas como Gram negativas (Magi et al., 2015).

Al realizar la evaluación antibacteriana del extracto metanólico de *Salix babylonica*, se determinó que el extracto presenta mejor actividad frente a bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis*); que contra bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis*, *Pseudomonas aeruginosa*). Este efecto se fundamenta en la estructura propia de las bacterias Gram negativas, que al contar con una membrana fosfolipídica que impide que

la pared celular sea penetrada por solutos lipofílicos; mientras las porinas constituyen una barrera selectiva para los solutos hidrofílicos, por lo que la bacteria está protegida de ser penetrada por compuestos como antibióticos o algunos metabolitos secundarios derivados de las plantas (Kaye *et al.*, 2004; Ndhlala *et al.*, 2015).

Para la determinación de la actividad antibacteriana, es importante determinar Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Mínima Bactericida (CMB); definiéndose como CMI a la concentración más baja de agente antimicrobiano que inhibe el crecimiento del microorganismo, detectados de forma visual (CLSI, 2012). En el presente experimento para determinar el punto final de la CMI, se empleó un método colorimétrico, basado en el uso de sales de tetrazolium (Balouiri *et al.*, 2016); el cual permite observar un cambio de color de amarillo a rosa, provocado por la entrada de esta sal en la célula, la cual se reduce por las oxidorreductasas dependientes de NAD(P)H y las deshidrogenasas de las células metabólicamente activas, produciendo el cambio de color a rosa (Berridge *et al.*, 2005).

Sulaiman *et al.*, en 2013, realizaron un estudio en el cual evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de corteza de *Sáliz alba*, perteneciente al género *sáliz* y familia *salicaceae*; igual que *Sáliz babylonica*. En dicho estudio determinaron que *Sáliz alba* tiene mejor actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*; mediana actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* y no presentó efecto contra *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Las concentraciones evaluadas fueron 10, 20, 40, 60 y 80 mg/ml, utilizando la técnica de difusión en agar; observándose los mayores halos de inhibición a 80 mg/ml. Los resultados de dicho estudio corresponden con los observados en el presente experimento, ya que el extracto tuvo mejor efecto contra las bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, 25 mg/ml; *Listeria monocytogenes*, 25 mg/ml y *Bacillus subtilis*, 12.5 mg/ml), que contra las bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis* y *Pseudomonas aeruginosa*, 100mg/ml, para cada una); sin embargo, el extracto se obtuvo de la corteza de *Sáliz alba*. Las concentraciones cambian y la técnica también, por lo que los resultados no son 100% comparables, aunque las arbóreas pertenecen al mismo género y familia.

Por otro lado, en un estudio realizado por Wahab y colaboradores en 2018, quienes evaluaron los extractos metanólicos de las hojas y la corteza de *Sáliz babylonica*; además de sus fracciones de éter de petróleo, cloruro de metileno y acetato de etilo (diluidos en dimetilsulfóxido), para determinar su actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*), utilizando la técnica de difusión en agar y el extracto a una concentración de 100 µg. Los resultados mostraron que tanto el extracto metanólico de las hojas y de la corteza tienen actividad antimicrobiana de moderada o débil, contra los microorganismos desafiados; observándose los mayores halos de

inhibición (10 mm) con *Pseudomonas aeruginosa*, seguida de *Klebsiella pneumoniae* (9 mm), finalmente *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (8 mm).

Debido a que en los estudios mencionados únicamente se aplican técnicas para determinar la sensibilidad del microorganismo a determinado compuesto por el método de difusión en agar; no es posible comparar los resultados con los obtenidos en el presente experimento, ya que en el presente se determinó la concentración mínima inhibitoria por el método de microdilución en placa; además de que en el estudio de Wahab y colaboradores, se utilizó dimetil sulfóxido, para diluir los extractos y fracciones; compuesto que se utiliza para incrementar la permeabilidad de la membrana bacteriana, incrementando la actividad de los compuestos y reduciendo las concentraciones de uso (Borges *et al.*, 2013; Sulaiman *et al.*, 2013; Wahab *et al.*, 2018).

La Concentración Mínima Inhibitoria, se define como la concentración más baja de agente antimicrobiano-necesaria para matar el 99,9% del inóculo final, después de la incubación durante 24 h bajo un conjunto estandarizado de condiciones descrito por el CLSI (Balouiri *et al.*, 2016). La determinación de la CMI no es una opción viable para conocer al 100% la eficacia de un fármaco o compuesto, ya que dentro de cada pozo todavía puede haber células viables si el fármaco evaluado solo tuvo un efecto bacteriostático sobre las especies bacterianas en estudio (Wiegand *et al.*, 2008).

En el presente experimento se determinaron las CMB del extracto metanólico, frente a *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis* y *Pseudomonas aeruginosa* (200 mg/ml); *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* (50 mg/ml) y *Bacillus subtilis* (25 mg/ml); sin embargo, no existen estudios reportados con *Sáliz babylonica* u otra especie del género *Sáliz*, con el cual se haya reportado dicha actividad.

## CONCLUSIÓN

En el presente estudio se demostró que el extracto metanólico de *Sáliz babylonica* tiene actividad antibacteriana potencial sobre algunos patógenos bacterianos de importancia en salud pública; siendo una alternativa para el tratamiento de enfermedades producidas por bacterias resistentes o multirresistentes a antibióticos.

## LITERATURA CITADA

- ALÓS JI. 2014. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologías Clínica*. 33(10):692–699. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>
- BALOUIRI M, Sadiki M, Ibnsouda SK. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6(2):71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>.

BAÑUELOS-VALENZUELA R, Delgadillo L, Chairez F, Delgadillo O, Meza-López C. 2018. Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens* Agrociencia. 52(3): 309-321. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6423180>.

BERRIDGE MV, Herst PM, Tan AS. 2005. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*. 11:127-152. [https://doi.org/10.1016/s1387-2656\(05\)11004-7](https://doi.org/10.1016/s1387-2656(05)11004-7).

BORGES A, Ferreira C, Saavedra MJ, Simoes, M. 2013. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial Drug Resistance*. 19(4): 256-265. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0244>.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Ninth Edition. Pp. 88. USA.

HERNÁNDEZ-ALVARADO J, Zaragoza-Bastida A, López-Rodríguez G, Peláez-Acero A, Olmedo-Juárez A, Rivero-Perez N. 2018. Actividad antibacteriana y sobre nematodos gastrointestinales de metabolitos secundarios vegetales: enfoque en Medicina Veterinaria. *Abanico Veterinario*. 8(1):14-27. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2018.81.1>.

KAEWPIBOON C, Lirdprapamongkol K, Srisomsap C, Winayanuwattikun P, Yongvanich T, Puwaprisirisan P, Svasti J, Assavalapsakul W. 2012. Studies of the in vitro cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 12(1):217. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-217>.

KAYE KS, Engemann JJ, Fraimow HS, Abrutyn E. 2004. Pathogens resistant to antimicrobial agents: epidemiology, molecular mechanisms, and clinical management. *Infectious disease clinics of North America*. 18(3):467-511. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2004.04.003>.

KHAN UA, Rahman H, Niaz Z, Qasim M, Khan J, Tayyaba, Rehman B. 2013. Antibacterial activity of some medicinal plants against selected human pathogenic bacteria. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 3(4): 272–274. <https://doi.org/10.1556/EuJMI.3.2013.4.6>

LOZANO R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al., 2012. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. 2012. *The Lancet*. 380(9859):2095-2128. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)

MAGI G, Marini E, Facinelli B. 2015. Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group

A Streptococci. *Frontiers in Microbiology*. 6:165. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00165>.

MOTHANA RA, Lindequist U, Gruenert R, Bednarski PJ. 2009. Studies of the in vitro anticancer, antimicrobial and antioxidant potentials of selected Yemeni medicinal plants from the island Soqatra. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 9: 7. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-7>.

NDHLALA AR, Ghebrehiwot HM, Ncube B, Aremu AOJ, Gruz M, Subrtova J, Van Staden A. 2015. Antimicrobial, anthelmintic activities and characterization of functional phenolic acids of *Achyranthes aspera* linn, a medicinal plant used for the treatment of wounds and ringworm in east Africa. *Frontiers in Pharmacology*. 6:274. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00274>.

RENISHEYA JJMT, Johnson M, Mary UM, Arthy A. 2011. Antibacterial activity of ethanolic extracts of selected medicinal plants against human pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.1(1):S76-S78. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60128-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60128-7).

RIVERO-PEREZ N, Ayala-Martínez M, Zepeda-Bastida A, Meneses-Mayo M, Ojeda-Ramírez D. 2016. Anti-inflammatory effect of aqueous extracts of spent *Pleurotus ostreatus* substrates in mouse ears treated with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Indian Journal of Pharmacology*. 48(2):141-144. <https://dx.doi.org/10.4103%2F0253-7613.178826>.

SALEM AFZ, Salem MZ, González-Ronquillo M, Camacho LM, Cipriano M. 2011. Major chemical constituents of *Leucaena leucocephala* and *Salix babylonica* leaf extracts. *Journal of Tropical Agriculture*. 49: 95-98. <http://jtropag.kau.in/index.php/ojs2/article/view/244>

SULAIMAN GM, Hussien NN, Marzoog TR, Awad, HA. 2013. Phenolic content, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of ethanolic extract of *Salix alba*. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 9(1): 41-46. <https://thescipub.com/PDF/ajbbbsp.2013.41.46.pdf>.

WAHAB GA, Sallam A, Elgaml A, Lahhloub M, Afifi MS. 2018. Antioxidant and antimicrobial activities of *Salix babylonica* extracts. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*. 6(4): 1-6. <http://www.wjpsonline.org/>.

WHO (World Health Organization). 2017. *Antimicrobial resistance*. <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/en/>

WIEGAND I, Hilpert K, Hancock REW. 2008. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*. 3(2):163-175. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.521>.