

Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2020; 10:1-13. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.26>
Artículo Original. Recibido: 03/07/2020. Aceptado: 19/10/2020. Publicado: 20/11/2020. Clave: 2020-53.

Caracterización química de extracto alcohólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) y su efecto como inhibidor de movilidad para *Escherichia coli* O157:H7

Chemical characterization of alcoholic extract of guava leaf (*Psidium guajava*) and its effect as a mobility inhibitor for *Escherichia coli* O157:H7

Mónica Silva-Vega^{1*} ID, Rómulo Bañuelos-Valenzuela^{1} ID, Lucía Delgadillo-Ruiz² ID, Perla Gallegos-Flores² ID, Carlos Meza-López¹ ID, Benjamín Valladares-Carranza³ ID, Francisco Echavarría-Cháirez⁴ ID**

¹Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Zacatecas. ²Unidad Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Zacatecas. Avenida preparatoria s/n colonia Hidráulica, CP. 98068, Zacatecas, Zacatecas, México. ³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, México. ⁴Instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias. Campo experimental Zacatecas, México. *Autor responsable: Mónica Silva-Vega. **Autor de correspondencia: Rómulo Bañuelos-Valenzuela. Carretera Panamericana Fresnillo-Zacatecas s/n, Centro, CP. 98500 Víctor Rosales, Zacatecas, México. msilva58@hotmail.com, apozolero@hotmail.com, delgadillolucia@gmail.com, perla_gf17@hotmail.com, carmezlop@yahoo.com.mx, benvac2004@yahoo.com.mx, fechava1@yahoo.com

RESUMEN

El objetivo fue caracterizar y determinar el efecto inhibitorio de movilidad en *Escherichia coli* O157:H7 de extractos de hojas de guayaba (*Psidium guajava*). Se han buscado nuevas alternativas de origen natural “extractos de plantas” para eliminar la colonización de bacterias patógenas en animales y prevenir la contaminación de carne. El extracto de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) tiene actividad antibacteriana de amplio espectro, debido al principio activo quercetina. *E. coli* O157:H7 enterohemorrágica, es un patógeno de importancia en salud pública, que puede causar síndrome urémico hemolítico, además los rumiantes son reconocidos como el principal hospedero de *E. coli* O157:H7. El extracto fue preparado con hojas de guayaba en etanol al 70%, obteniendo un extracto crudo (Extracto A) y uno concentrado mediante el uso del equipo soxhlet (Extracto B). Se determinó la composición química por cromatografía de gases. Se muestrearon rumiantes lactantes con síndrome diarreico, las muestras fueron transportadas en medio Stuart. Las bacterias se aislaron en medio Mac Conkey y posteriormente fueron sembradas en medio CHROMagar™ O157 para la identificación de *E. coli* O157:H7. Se realizaron pruebas de movilidad de *E. coli* O157:H7 en medio SIM, con extracto de hoja de guayaba y como referencia se utilizaron concentraciones de carvacrol de 0.3, 1 y 5 mM y quercetina 205, 102 y 51 mM. Se identificaron 78 *E. coli* O157:H7, las cuales mostraron inhibición en la movilidad a diferentes concentraciones de carvacrol, en quercetina 205 mM y 102.5 mM y en los extractos A y B. Se concluye que el extracto alcohólico de hojas de guayaba y su compuesto en mayor proporción (quercetina) son efectivos en la inhibición de movilidad de *E. coli* O157 H7.

Palabras clave: Extractos, carvacrol, quercetina, inhibición.

ABSTRACT

The objective was to characterize and determine the mobility inhibitory effect in *Escherichia coli* O157: H7 of extracts of guava leaves (*Psidium guajava*). New alternatives of natural origin "plant extracts" have been sought to eliminate colonization of pathogenic bacteria in animals and prevent contamination of meat. Guava leaf extract (*Psidium guajava*) has broad-spectrum antibacterial activity, due to the active ingredient quercetin. *E. coli* O157: H7 enterohemorrhagic, is a pathogen of great importance in public health, which can cause hemolytic uremic syndrome, and ruminants are recognized as the main host of *E. coli* O157: H7. The extract was prepared with guava leaves in 70% ethanol, obtaining a crude extract (Extract A) and a concentrated extract using the soxhlet equipment (Extract B). Its chemical composition was determined by gas chromatography. Nursing ruminants with diarrheal syndrome were sampled, the samples were transported in Stuart medium. The bacteria were isolated in Mac Conkey medium and subsequently seeded in CHROMagar™ O157 medium for the identification of *E. coli* O157:H7. Mobility tests of *E. coli* O157: H7 were carried out in SIM medium, with guava leaf extract and as a reference, concentrations of carvacrol of 0.3, 1 and 5 mM and quercetin 205, 102 and 51 mM were used. 78 *E. coli* O157: H7 were identified, which showed inhibition in mobility at different concentrations of carvacrol, in quercetin 205 mM and 102.5 mM and in extracts A and B. It is concluded that the alcoholic extract of guava leaves and its compound in a greater proportion (quercetin) they are effective in inhibiting the mobility of *E. coli* O157 H7.

Keywords: Extracts, carvacrol, quercetin, inhibition.

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli O157, es un patógeno importante en salud pública, que puede llegar a producir toxina Shiga (STEC) (Kaper *et al.*, 2004). Los productos STEC son transmitidos a través de los alimentos, especialmente el serotipo O157:H7. Las enfermedades causadas al humano por el serotipo que produce STEC, van desde diarrea leve a colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SHU), que por lo general afecta a niños, pacientes de edad avanzada e inmunocomprometidos (Rodríguez-Angeles, 2002). La patogenicidad de STEC reside en diferentes factores de virulencia, incluyendo las toxinas Shiga (Stx1 y Stx2), intimina, enterohemolisina y el autoaglutinantes STEC adhesina (AEA) (Gyles, 2007).

Se ha reportado que los rumiantes domésticos como vacas, ovejas y cabras son portadores asintomáticos, que pueden portar STEC y *E. coli* O157:H7 en sus heces, por lo que se consideran reservorios naturales de estos patógenos (Blanco *et al.*, 2004; Milton *et al.*, 2018; Iweriebor *et al.*, 2015; Bolukaoto *et al.*, 2019). Para eliminar la colonización de bacterias patógenas en animales y prevenir la contaminación de la carne, existe una variedad de agentes químicos antimicrobianos que están disponibles para la terapéutica en ganado; sin embargo, investigadores en nutrición animal han reportado que con el aumento del uso de agentes antimicrobianos en animales y seres humanos, ha aumentado la prevalencia de cepas resistentes (Cattoir y Leclercq, 2017; Kim *et al.*, 2019). Los genes CTX-M β -lactamasas han sido reportados en *E. coli*, a partir de ganado con fines alimenticios en todo el mundo; levantando una amenaza potencial para la salud pública (Wittum *et al.*, 2010; Botelho *et al.*, 2015; Vitas *et al.*, 2018).

A partir del aumento de cepas resistentes a antibióticos, se han buscado nuevas alternativas de origen natural, como los extractos de plantas; por ejemplo, el extracto de

hoja de guayaba (*Psidium guajava*), que tiene actividad antibacteriana de amplio espectro (Martínez *et al.*, 1997; Bermúdez-Vásquez *et al.*, 2019). Rattanachaiakunsopon y Phumkhachorn (2010), reportan que el extracto acuoso de hoja de guayaba mostró actividad antibacteriana en un 35% de los casos, el alcohólico en un 65% y el cetónico en el 100%, contra bacterias patógenas; incluyendo *Bacillus stearothermophilus*, *Brochothrix thermosphacta*, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*.

El extracto acuoso de las hojas de guayaba disminuye la producción de toxinas lábiles de *E. coli* y del cólera (Birdi *et al.*, 2010). Echemendía y Morón (2004) en su ensayo clínico concluyeron que la tintura al 20% de hoja de *Psidium guajava* tiene efecto antidiarreico y Lozoya *et al.* (2002) evaluaron el polvo de las hojas secas, comprobándose este efecto. Se han aislado diversos compuestos químicos, a partir del extracto de hoja de guayaba, como son: el triterpenoide pentacíclico, el ácido guajanoico; así como, β -sitosterol, uvaol, ácido oleanólico y ácido ursólico y quercetina (Biswas *et al.*, 2013), para comprobar el efecto antibacteriano que presentan las hojas de guayaba. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue la caracterización y determinación del efecto inhibitorio de movilidad en *E. coli* O157:H7, de extractos de hojas de guayaba (*Psidium guajava*).

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención del extracto alcohólico de hojas *Psidium guajava*

Para cada extracto se utilizó etanol al 70% J.T. Baker, en una relación de 25 gramos de la muestra molida por cada 200 mL de solvente. La mezcla fue colocada y sellada en frascos color ámbar de un litro, se homogenizó vigorosamente por 10 min; el extracto se dejó reposar durante un mes a temperatura ambiente. El sobrenadante fue pasado a través de papel filtro (Whatman No. 2), para remover los restos del polvo de la planta (Pesewu *et al.*, 2008). Una parte del extracto preparado se empleó para concentrarlo mediante el uso del equipo soxhlet durante una hora, recuperando la mitad del volumen inicial, llamándolo Extracto B. El extracto A se le nombró al extracto más diluido, o como se obtuvo después de la filtración.

Composición química de los extractos de hoja de guayaba por cromatografía de gases

La composición química se determinó mediante un cromatógrafo de gases (CG; Agilent Technologies 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⁻¹ 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⁻¹ a una presión de 12.13 psi y una velocidad promedio de 25 cm s⁻¹, utilizando un detector de flama ionizante (FID) a una temperatura de 210 °C, con un flujo de H₂ de 40 mL min⁻¹

y un flujo de aire de 450 mL min⁻¹. Para el corrimiento de muestras en el cromatógrafo se emplearon los estándares de carvacrol y timol (Sigma-Aldrich) (Bañuelos-Valenzuela *et al.*, 2018).

Determinación de la dosis mínima hemolítica de los extractos

Se extrajeron 10 mL de sangre en un tubo heparinizado; se centrifugó el tubo con la sangre sin coagular a 2500 rpm x 10 min a 10°C, removieron la fracción del suero con una pipeta; posteriormente se realizaron tres lavados con un regulador de lavado [PBS al 50% (v/v) y glucosa al 2.25% (w/v)] (López *et al.*, 2017); luego se centrifugó en cada lavado a 2500 rpm x 10 min a 10°C. El paquete de eritrocitos se recuperó y se resuspendió hasta una concentración del 0.1% (v/v) con un regulador de suspensión, que consiste en PBS al 50% (v/v) glucosa al 2.25% (w/v) y gelatina al 0.05% (w/v). Se realizó por triplicado el ensayo en placas de 96 pozos de fondo U; se mezclaron 100 µL de la suspensión de eritrocitos al 1% con 100 µL de la suspensión de cada extracto y con diluciones de 1:10, 1:100 y 1:1000.

El control negativo únicamente se inoculó 100 µL; este mismo procedimiento se realizó para cada principio activo en sus diferentes concentraciones (carvacrol, timol y quercetina), de la suspensión de eritrocitos al 1%. Para el control positivo se mezclaron 100 µL de la suspensión de eritrocitos al 1% con 100 µL de Tritón X al 1%; se observaron los cambios en la suspensión de eritrocitos cada hora, hasta cumplir 24 h. Con base a los controles positivo y negativo se determinó si había actividad hemolítica del extracto sobre los eritrocitos.

Para el corrimiento de muestras en el cromatógrafo, se emplearon los estándares de carvacrol y timol, de la marca SIGMA grado reactivo. Se concentró el extracto de hoja de guayaba (40 mg/mL) mediante ebullición (Ext A).

Identificación de bacterias en medio cromogénico CHROMagar™

Se obtuvieron hisopados rectales provenientes de rumiantes lactantes, con presencia de síndrome diarreico, menores de 21 días de edad y con la seguridad de haber ingerido calostro. La colecta de las muestras se realizó vía rectal con un hisopo estéril, se etiquetaron y transportaron en medio Stuart® elaborado en México D.F; cada muestra se sembró en la caja petri con agar MacConkey. Se tomó una colonia para proseguir con la identificación, la cual se realizó mediante una siembra por estría en placa en medio cromogénico CHROMagar™ O:157, para *E. coli* O:157:H7 (Moyne *et al.*, 2011). Luego seleccionaron 78 cepas bacterianas de heces de rumiantes lactantes con síndrome diarreico menores de tres meses, identificadas como *E. coli* O157:H7 en CHROMagar™ las cuales presentaron coloración rosa malva, debido a sustratos cromogénicos en el medio; permitiendo así la identificación presuntiva de la placa de aislamiento primario y la diferenciación de otros organismos (Hirvonen *et al.*, 2012; Lara *et al.*, 2019).

Preparación del medio SIM en tubo con extracto

Se preparó medio SIM para cada tipo de estándar y extracto. Para la preparación del medio SIM, se pesaron 30 g de agar por cada litro de agua destilada; el agar fue esterilizado en autoclave a 121 °C por 15 min. Se dejó enfriar el agar a una temperatura de 35 °C aproximadamente, para adicionar el extracto y el estándar correspondiente; posteriormente se adicionaron 4 mL de la mezcla anterior en tubos estériles de 10 mL. Para cada bacteria se realizó una serie de tubos por triplicado, como se describe a continuación: Control (sin extracto), Carvacrol (C 0.3 mM, C 1 mM y C 5 mM), Ext A (extracto guayaba diluido), Ext B (extracto guayaba concentrado), Q 205 (quercetina 205 mM), Q 102 (quercetina 102 mM), Q 51 (quercetina 51.25 mM) y OH (control alcohol).

Pruebas de movilidad bacteriana

Cada una de las bacterias identificadas por CHROMagar™ O:157, fue sembrada en agar base por estría, con el objetivo de obtener una sola colonia aislada para posteriormente realizar la siembra en tubo. La siembra en tubo se realizó mediante picadura, que consiste en tomar una colonia aislada de bacterias y hacer una picadura en el medio SIM, atravesando el agar hasta el fondo del tubo; al medio se preparó con los extractos, estándares y control. Una vez terminada la siembra por picadura, todas las muestras permanecieron a una temperatura de 37 °C, en una incubadora Thermo ® durante un periodo de 24 h.

Las condiciones de siembra se hicieron con debida esterilidad para evitar contaminación; estas se realizaron en una campana de flujo laminar (Lab tech ®). La movilidad bacteriana fue medida, usando un método cualitativo; a) motilidad positiva (+): presencia de turbidez difusa o total en el medio. b) motilidad negativa (-): ausencia o presencia leve de crecimiento, solo en el sitio de la picadura.

Análisis estadístico

El análisis estadístico realizado fue el de tablas de contingencia de dimensión 2x2, entre las variables extracto A y extracto B vs carvacrol 0.3 mM, carvacrol 1 mM, carvacrol 5 mM, quercetina 205 mM, quercetina 102 mM y quercetina 51 mM. Los criterios utilizados fueron las pruebas de independencia de χ^2 (prueba ji cuadrada), considerando un nivel de significancia de $p < 0.05$ y un intervalo de confianza del 95% (Good, 2000). Los datos fueron capturados en Excel y analizados en el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS por sus siglas en inglés) versión 17.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se muestra la presencia de los principios activos carvacrol y timol en los extractos alcohólicos de hojas de guayaba, así como su concentración por cromatografía de gases.

Tabla 1. Resultados de la cromatografía de gases expresado en unidades de concentración mg/mL

Extracto de hoja de Guayaba	Carvacrol	Timol
Extracto A	3.0869	1.5130
Extracto B	0	0.3525

Ambos principios activos (carvacrol y timol), estuvieron presentes en el extracto A; mientras que el extracto B, sólo se identificó el timol. El principio activo de mayor concentración en los extractos fue el carvacrol con 3.0869 mg/mL en el extracto A. Las plantas medicinales son comúnmente ricas en terpenos (carvacrol, citral, linalol y geraniol) y compuestos fenólicos, compuestos eficaces como aditivos alimentarios (Nile *et al.*, 2017).

El modo primario de acción antibacteriana del timol no se conoce completamente, pero se cree que implica la disrupción de la membrana externa e interna y la interacción con proteínas de membrana y dianas intracelulares. Los estudios de Wang y Yam (2018) han demostrado que el timol interactúa con las membranas celulares, y estas interacciones afectan la permeabilidad de la membrana bacteriana. Para el efecto hemolítico y con base a los controles positivo y negativo, se determinó si había actividad hemolítica de los extractos de hojas de guayaba y los principios activos sobre los eritrocitos. En la tabla 2 se observó que para carvacrol a una concentración de 0.3 mM, no se presentó hemolisis, en los extractos A y B sólo hay hemolisis hasta la dilución 1:10. Por último, para quercetina la concentración mínima de hemolisis fue en dilución 1:10 de sus tres concentraciones. Como menciona López *et al.* (2017) el término hemólisis hace referencia al proceso de destrucción de los eritrocitos, que genera la liberación de los componentes intraeritrocitarios; por lo tanto, la prueba de hemólisis se utiliza para conocer el efecto provocado sobre la célula eritrocitaria al enfrentarla con los extractos a diferentes concentraciones, que es lo que se pretendió con este experimento. La inhibición de hemólisis se debe a los componentes bioactivos, tipo flavonoides y compuestos fenólicos presentes en los extractos de guayaba.

Los eritrocitos pueden cambiar su forma normal a la forma de equinocitos o estomatocitos, lo cual depende de factores citoplasmáticos, entre ellos el pH (Gedde *et al.*, 1997). Las altas concentraciones de flavonoides hallados en frutas como el mango (García Bacallao *et al.*, 2001), hojas de guayaba (Rodríguez *et al.*, 2013) y flavonoides obtenidos de maqui (*Aristotelia chilensis*) con propiedades antioxidantes, son inductores de equinocitos (Gironés-Vilaplana *et al.*, 2012; Durán *et al.*, 2013).

Tabla 2. Actividad hemolítica de los extractos de hoja de guayaba

Dilución muestra	Solución madre	1:10	1:100	1:1000
C 0.3 mM	+	-	-	-
C 1 mM	+	+	-	-
C 5 mM	+	+	+	-
EXT A	+	+	-	-
EXT B	+	+	-	-
Q 205 mM	+	+	-	-
Q 102 mM	+	+	-	-
Q 51 mM	+	+	-	-

(+) presenta hemolisis; (-) ausencia de hemolisis

Con el uso del CHROMagar se identificó *E. coli* O:157 H7, diferenciándose por el color de la colonia en el medio, presenta una coloración rosa malva (Lara *et al.*, 2019). Este medio inicialmente se utilizaba en la industria alimentaria para la liberación rápida de alimentos libres de patógenos, pero actualmente se encuentra aprobado para el análisis de muestras clínicas y ha sido empleado en diversos estudios (Bettelheim, 1998; Tang *et al.*, 2014; Gutierrez *et al.*, 2016; Parsons *et al.*, 2016). Se identificaron 78 cepas de *E. coli* O157:H7 mediante CHROMagar™ selectivo, y estas bacterias fueron inoculadas en medio SIM.

Los resultados de la movilidad *in vitro* de los extractos de hoja de guayaba y los estándares (principios activos de hoja de guayaba) sobre las bacterias, se observan en la tabla 3. Este efecto se evaluó cualitativamente por la presencia o ausencia de turbidez en el tubo; los resultados mostraron que los estándares de carvacrol tienen amplia actividad antibacteriana, frente a 65 microorganismos; inhibiendo en 56 bacterias el crecimiento bacteriano a una concentración de 5 mM (tabla 3); en relación con el extracto A de guayaba que presentó efecto en la inhibición de la movilidad de 62 bacterias; mientras que el extracto B inhibe 46 bacterias. Quercetina a una concentración de 51 mM, presentó la mayor inhibición de movilidad en 60 bacterias.

Tabla 3. Resultados totales de movilidad bacteriana

	C 5 mM	C 1 mM	C 0.3 mM	EXT A	EXT B	Q 205	Q 102	Q 51	OH
+	56	60	65	62	46	59	51	60	0
-	22	18	13	16	32	19	27	18	78

(+): Presencia de turbidez difusa o total en el medio. (-): Ausencia o presencia leve de crecimiento.

Gallegos- Flores *et al.* (2019) reportaron que el carvacrol a una concentración de 0.3 mM disminuye la movilidad de la cepa determinada con la técnica de Western Blot, donde observaron la disminución de la síntesis de flagelina; esta proteína se encuentra en un 8% de la proteína total celular. Estos resultados difieren de los reportados en la tabla 2,

debido principalmente a que la concentración de 0.3 mM, no inhibió la movilidad en el 100% de las bacterias *E. coli* O157:H7.

Desde el punto de vista de Gallegos- Flores *et al.* (2019), las células de *E. coli* crecen en presencia de carvacrol a una concentración de 5 mM sin síntesis de flagelos, provocando que el microorganismo crezca sin movilidad; es decir, cuando la célula bacteriana está sujeta a un estrés ocasionado por sustancias tóxicas y se encuentra en riesgo su supervivencia; la cual es capaz de suprimir la producción de la proteína flagelina y conservar energía para otras funciones celulares, que pueden por lo tanto, ser una táctica de supervivencia; sin embargo, a una concentración mayor de 5 mM la bacteria cesa inmediatamente la movilidad y ocurre muerte celular; observándose que la concentración de 5 mM es la que presenta mayor número de bacterias que inhibieron el crecimiento. La interacción carvacrol-quercetina que se encuentra presente en el extracto A de hojas de guayaba, presenta una mayor inhibición en la movilidad de las bacterias, siempre y cuando las concentraciones de carvacrol y quercetina sean las antes señaladas (tabla 4). Ambos casos son significativos, pero se distinguen una magnitud de comparación mayor del extracto A con carvacrol y quercetina, debido a los compuestos químicos presentes. Menor magnitud de Chi cuadrada representa mayor semejanza al extracto; por lo tanto, el extracto B representa más semejante al estándar de quercetina, pero no tiene el efecto de inhibición.

Tabla 4. Eficiencia de los extractos

Concentración	Extracto A						Extracto B			
			χ^2	z	p		χ^2	z	p	
Carvacrol (mM)	0.3	+	127	81.41	7.84	0.0001	111	71.15	5.28	0.0001
		-	29	18.59			45	28.85		
	1	+	122	78.21	7.04	0.0001	106	67.95	4.48	0.0001
		-	34	21.79			50	32.05		
	5	+	118	75.64	6.4	0.0001	102	65.38	3.84	0.0001
		-	38	24.36			54	34.62		
Quercetina (mM)	205	+	121	77.56	6.88	0.0001	105	67.31	4.32	0.0001
		-	35	22.44			51	32.69		
	102.5	+	113	72.44	5.6	0.0001	97	62.18	3.04	0.0023
		-	43	27.56			59	37.82		
	51.25	+	122	78.21	7.04	0.0001	106	67.95	4.48	0.0001
		-	34	21.79			50	32.05		

χ^2 : valor de ji cuadrada calculada.

El carvacrol daña la membrana exterior de las bacterias gram negativas e incrementan la permeabilidad de la membrana citoplasmática que causa pérdidas de ATP, fuga de iones y lisis celular (Meira *et al.*, 2017). El hecho de que las bacterias gram negativas flageladas en presencia de carvacrol no desarrollen flagelos, podría tener implicaciones para el uso de este compuesto como aditivo antibacteriano para productos alimenticios y/o para la generación de nuevos antibióticos; ya que si la célula bacteriana no presenta flagelos,

esto disminuye o inhibe su mecanismo de patogenicidad, al ser menos capaz de adherirse a las células epiteliales del huésped.

Finalmente, el efecto de quercetina sobre la *E. coli* O157:H7 a una concentración de 102 mM, resulta ser la óptima en la movilidad de las bacterias, teniendo el mismo efecto en la interacción quercetina-extracto B; esto puede ser atribuido a que el principal compuesto activo en las hojas de guayaba es el flavonoide quercetina, al cual se le atribuye un efecto antibacteriano (Echemendía y Morón, 2004).

CONCLUSIÓN

Se concluye que el extracto A de hoja de guayaba y su compuesto en mayor proporción (quercetina) son efectivos en la inhibición de la movilidad de *E. coli* O157:H7; por lo tanto lo hace una alternativa de origen natural para el tratamiento del síndrome diarreico en rumiantes.

LITERATURA CITADA

BAÑUELOS-VALENZUELA R, Delgadillo-Ruiz L, Echavarría-Cháirez F, Delgadillo-Ruiz 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. <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v52n3/2521-9766-agro-52-03-309.pdf>

BETTELHEIM KA. 1998. Reliability of CHROMagar® O157 for the Detection of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157 but Not EHEC Belonging to Other Serogroups. *Journal of Applied Microbiology*. 85:425-428. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1998.853469.x>

BERMÚDEZ-VÁSQUEZ MJ, Granados-Chinchilla F, Molina A. 2019. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Psidium guajava* and *Cymbopogon citratus*. *Agronomía Mesoamericana*. 30(1): 147-163. <http://dx.doi.org/10.15517/am.v30i1.33758>

BISWAS B, Rogers K, McLaughlin F, Daniels D, Yadav A. 2013. Antimicrobial activities of leaf extracts of guava (*Psidium guajava* L.) on two gram-negative and gram-positive bacteria. *International journal of microbiology*. 2013: 1-7. <https://doi.org/10.1155/2013/746165>

BIRDI T, Daswani P, Brijesh S, Tetali P and Natu A. 2010. Newer insights into the mechanism of action of *Psidium guajava* L. leaves in infectious diarrhoea. *BMC complementary and alternative medicine*. 10(1): 33. <https://link.springer.com/article/10.1186/1472-6882-10-33>

BLANCO M, Padola NL, Krüger A, Sanz ME, Blanco JE, González EA, Dahbi G, Mora A, Bernárdez MI, Etcheverría AI, Arroyo GH, Lucchesi PMA, Parma AE, Blanco J. 2004. Virulence genes and intimin types of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and beef products in Argentina. *Int Microbiol.* 7:269–76. <http://revistes.iec.cat/index.php/IM/article/view/9482>

BOLUKAOT JY, Kock MM, Strydom KA, Mbelle NM and Ehlers MM. 2019. Molecular characteristics and genotypic diversity of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 isolates in Gauteng region, South Africa. *Science of the Total Environment.* 692: 297-304. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.119>

BOTELHO LAB, Kraychete GB, e Silva C, Lapa J, Regis DVV, Picão RC and Bonelli RR. 2015. Widespread distribution of CTX-M and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in *Escherichia coli* from Brazilian chicken meat. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 110(2): 249-254. <https://doi.org/10.1590/0074-02760140389>

CATTOIR V, Leclercq R. 2017. Resistance to Macrolides, Lincosamides, and Streptogramins. *Antimicrobial Drug Resistance* (pg 269-280). Springer, Cham. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-46718-4_18

DURÁN M, Montero P, Marrugo Y. 2013. Extractos metanólicos de corteza de guayaba (*Psidium guajava* L.) y mango (*Mangifera indica* L.): efecto citotóxico, antihemolítico y en la morfología de membrana de eritrocitos. *Revista UDCA Actualidad & Divulgación Científica.* 16(2):327-334. <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/1744>

ECHEMENDÍA SCE, Morón RFJ. 2004. Tintura de hojas de *Psidium guajava* L. enpacientes con diarrea aguda simple. *Rev Cubana Plant Med.* 9(3): 1-13. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000300008

GALLEGOS-FLORES PI, Bañuelos-Valenzuela R, Delgadillo-Ruiz L, Meza-López C y Echavarría-Cháirez F. 2019. Actividad antibacteriana de cinco compuestos terpenoides: carvacrol, limoneno, linalool, α -terpineno y timol. *Tropical and Subtropical Agroecosystems.* 22:241-248. <https://pdfs.semanticscholar.org/c11b/a9ad9c764c58baaded8d9a5eded06c7c1513.pdf>

GARCÍA BL, García GVL, Rojo DM, Sánchez GE. 2001. Plantas con propiedades antioxidantes. *Revista cubana de investigaciones biomédicas.* 20(3):231-235. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002001000300011

GEDDE MM, Davis DK, Huestis WH. 1997. Cytoplasmic pH and human erythrocyte shape. *Biophysical journal*. 72(3):1234-1246. [https://www.cell.com/biophysj/pdf/S0006-3495\(97\)78770-8.pdf](https://www.cell.com/biophysj/pdf/S0006-3495(97)78770-8.pdf)

GIRONÉS-VILAPLANA A, Mena P, García-Viguera C, Moreno DA. 2012. A novel beverage rich in antioxidant phenolics: Maqui berry (*Aristotelia chilensis*) and lemon juice. *LWT - Food Science and Technology*. 47(2): 279-286. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.01.020>

GOOD P. 2000. Permutation tests. A practical guide to resampling methods for testing hypotheses. Second edition. *Springer-Verlag, New York*. Pp. 270. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-3235-1>

GUTIERREZ ME, Janes ME, Torrico DD, Carabante KM, Prinyawiwatkul W. 2016. Assessment of the ability of five culture media for the detection of *Escherichia coli* O157. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(8), 1910-1915. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13164>

GYLES CL. 2007. Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Journal of Animal Science*. 85: 45–62. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-508>

IWERIEBOR BC, Iwu CJ, Obi LC, Nwodo UU, Okoh AI 2015. Multiple antibiotic resistances among Shiga toxin producing *Escherichia coli* O157 in feces of dairy cattle farms in Eastern Cape of South Africa. *BMC microbiology*. 15(1):213. <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12866-015-0553-y>

HIRVONEN JJ, Siitonen A, Kaukoranta SS. 2012. Usability and performance of CHROMagar STEC in detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol*. 50:3586-3590. <https://doi.org/10.1128/JCM.01754-12>

KAPER JB, Nataro JP, Mobley HLT. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. 2:123–40. <https://www.nature.com/articles/nrmicro818>

KIM YB, Seo KW, Shim JB, Son SH, Noh EB, Lee Y J. 2019. Molecular characterization of antimicrobial-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from layer parent stock. *Poultry science*. 98(11):5892-5899. <https://doi.org/10.3382/ps/pez288>

LARA DJA, Silva VM, Bañuelos VR, Delgadillo RL, Delgadillo RO. 2019. Incidencia de *Escherichia coli* O157: H7 en heces de rumiantes lactantes con síndrome diarreico. *Revista MVZ Córdoba*. 24(3): 7339-7345. <https://doi.org/10.21897/rmvz.1232>

LÓPEZ MA, Valbuena-Gregorio E, Quihui-Cota L, Morales-Figueroa GG, Ruiz-Cruz S, Campos-García JC, Díaz-Meza E, Pablos-Rodríguez DE. 2017. Efecto de Microemulsiones de Aceites Esenciales Sobre el Eritrocito Humano y Bacterias Patógenas. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*. 38(1):247-254. <http://www.rmib.mx/index.php/rmib/article/view/27>

LOZOYA X, Reyes MH, Chávez MA., Martínez GMC, Soto GY and Doubova SV. 2002. Intestinal anti-spasmodic effect of a phytodrug of *Psidium guajava* folia in the treatment of acute diarrheic disease. *Journal of Ethnopharmacology*. 83(1-2): 19-24. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00185-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00185-X)

MARTÍNEZ MJ, Molina N, Boucourt E. 1997. Evaluación de la actividad antimicrobiana de *Psidium guajava* L. (guayaba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2(1): 12-14. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47961997000100003&script=sci_arttext&tlng=en

MEIRA NV, Holley RA, Bordin K, de Macedo RE, Luciano FB. 2017. Combination of essential oil compounds and phenolic acids against *Escherichia coli* O157: H7 in vitro and in dry-fermented sausage production. *International journal of food microbiology*. 260:59-64. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.08.010>

MILTON AAP, Agarwal RK, Priya GB, Aravind M, Athira CK, Rose L, Saminathan M, Sharma AK, Kumar A. 2018. Captive wildlife from India as carriers of Shiga toxin-producing, Enteropathogenic and Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Journal of Veterinary Medical Science*. 81(2): 321-327. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0488>

MOYNE AL, Sudarshana MR, Blessington T, Koike ST, Cahn MD, Harris LJ. 2011. Fate of *Escherichia coli* O157: H7 in field-inoculated lettuce. *Food Microbiology*. 28(8): 1417-1425. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.001>

NILE SH, Nile AS, Keum YS. 2017. Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods. *3 Biotech*. 7(1): 1-10. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-017-0706-9>

PARSONS BD, Zelyas N, Berenger BM, Chui L. 2016. Detection, characterization, and typing of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology*. 7: 1-12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00478>

PESEWU GA, Cutler RR, Humber DP. 2008. Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *Journal of ethnopharmacology*. 116(1): 102-111. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.005>

RATTANACHAIKUNSOPON P, Phumkhachorn P. 2010. Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajava*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(5): 393-396. <https://doi.org/10.5897/JMPR09.485>

RODRÍGUEZ-ANGELES G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública de México*. 44: 464-475. <http://www.insp.mx/salud/index.html>

RODRÍGUEZ RA, Lafourcade PA, Pérez RL. 2013. Hojas de *Psidium guajava* L. *Revista Cubana de Farmacia*. 47(1): 127-135. https://www.researchgate.net/profile/Jesus_Rafael_Rodriguez_Amado/publication/260774883_Hojas_de_Psidium_guajava_L/links/55fae20008ae07629e07b496/Hojas-de-Psidium-guajava-L.pdf

TANG Y, Kim H, Singh AK, Aroonnuan A, Bae E, Rajwa B, Bhunia AK. 2014. Light scattering sensor for direct identification of colonies of *Escherichia coli* serogroups O26, O45, O103, O111, O121, O145 and O157. *PLoS One*. 9(8): e105272. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105272>

VITAS AI, Naik D, Pérez-Etayo L, González D. 2018. Increased exposure to extended-spectrum β -lactamase-producing multidrug-resistant Enterobacteriaceae through the consumption of chicken and sushi products. *International journal of food microbiology*. 269: 80-86. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.026>

WANG Y, Yam KL. 2018. Inhibitory effect of thymol via different modes of delivery on growth of *Escherichia coli* DH5 α . *Food Packaging and Shelf Life*. 16:92-96. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.02.007>

WITTUM TE, Mollenkopf DF, Daniels JB, Parkinson AE, Mathews JL, Fry PR, Abley MJ, Gebreyes WA. 2010. CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases present in *Escherichia coli* from the feces of cattle in Ohio, United States. *Foodborne Pathog Dis*. 7:1575–9. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0615>