



Actividad inhibitoria de extractos de *Plutarchia coronaria* sobre *Salmonella* serotipo Enteritidis ATCC 17036.

Cabeza Herrera Rodolfo Andrés, Cabeza Herrera Enrique Alfonso, Piscioti Ortega Danny Armando.

Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Microbiología, Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología GIMBIO, Edificio Simón Bolívar, Ciudadela Universitaria, Km 1 vía a Bucaramanga.

Resumen

La presencia de microorganismos en alimentos representa un desafío importante para la industria respecto a las consecuencias que acarrearán desde el punto de vista de la salud pública y las alteraciones. Debido a ello, el control de estos microorganismos por diversos métodos resulta importante para garantizar alimentos inocuos y estables, así como con mínimas modificaciones en su composición nutricional. A nivel mundial, *Salmonella* spp., es uno de los principales microorganismos asociados a enfermedades transmitidas por el consumo de alimentos (ETAs), haciendo necesaria la búsqueda de alternativas de tratamiento naturales para minimizar su impacto. El objetivo de este trabajo fue evaluar in vitro la actividad inhibitoria de extractos volátiles del fruto de la *Ericaceae Plutarchia coronaria* sobre *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036. Los extractos se obtuvieron a partir de frutos maduros mediante destilación por arrastre de vapor, la actividad antimicrobiana se determinó a través del método de difusión en agar y la Concentración Mínima Inhibitoria – CMI – utilizando la técnica de macrodilución en caldo. Los halos de inhibición obtenidos permitieron catalogar a *Salmonella* serotipo Enteritidis ATCC 17036 como muy sensible ante el extracto volátil puro y sensible ante el extracto diluido, obteniéndose una CMI de 455mg/ml, lo cual ofrece un valor de referencia como sustancia potencial para la conservación natural de matrices alimenticias.

Palabras Clave: Inhibición, *Plutarchia coronaria*, *Salmonella* Enteritidis.

Inhibitory activity of *Plutarchia coronaria* extracts on *Salmonella* serotype Enteritidis ATCC17036



Abstract

Microorganisms in foods represent a challenge to the industry respect the consequences their presence mainly from the point of view of public health and spoilage. *Salmonella spp*, is a leading borne microorganisms associated with food consumption diseases around of world, implying the search for alternative treatment to minimize its impact. The aim of this study was to evaluate in vitro antimicrobial activity of volatile extracts of the fruit of the *Ericaceae Plutarchia coronaria* on *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036. Extracts were prepared from ripe fruit by steam stripping distillation; the antimicrobial activity was determined by the agar diffusion method and Minimal Inhibitory Concentration MIC by macrodilution method. The inhibition zones obtained showed *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036 as very sensitive to extract pure and sensitive to diluted extract with a MIC to 455mg/ml, which provides a reference value as a potential substance for nature conservation in food matrices.

Key words: Inhibition, *Plutarchia coronaria*, *Salmonella* Enteritidis

*Para citar este artículo: Cabeza Herrera RA, Cabeza Herrera EA, Pisciotti Ortega DA. Actividad inhibitoria de extractos de *Plutarchia coronaria* sobre *Salmonella* serotipo Enteritidis ATCC 17036. Revista Bistua.2015.13(1):46-61

+ Autor para el envío de correspondencia y la solicitud de las separatas: Cabeza Herrera Rodolfo Andrés.Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Microbiología, Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología GIMBIO.email: racabeza@unipamplona.edu.co

Recibido: Octubre 04 de 2014

Aceptado Febrero 28 de 2015

Introducción

En las últimas décadas el aumento de infecciones asociadas a microorganismos en alimentos constituye un importante problema de salud pública en el mundo¹. De acuerdo con los reportes del Centers for Disease Control and Prevention (Centro para el Control y Prevención de Enfermedades – CDC), cientos de millones de personas alrededor del mundo sufren de enfermedades causadas por alimentos contaminados, y *Salmonella enterica* subsp. enterica serovar Enteritidis (*Salmonella* Enteritidis) es uno de los serotipos de *Salmonella* más comunes reportadas a nivel mundial implicadas en brotes alimenticios². Es difícil obtener datos exactos referentes a la incidencia de enfermedades transmitidas por microorganismos patógenos en alimentos debido a que la mayoría de infecciones de origen bacteriano causan cuadros sintomáticos leves manifestados en desordenes gastrointestinales y simples diarreas que no requieren tratamientos con antibióticos y la mayoría de estos casos no son reportados o notificados a las autoridades de salud competentes. No obstante, algunas enfermedades de transmisión alimentaria presentan cuadros clínicos severos con porcentajes de mortalidad relativamente altos³. Sólo

en Estados Unidos se presentan anualmente cerca de 48 millones de casos de enfermedades asociadas a microorganismos en alimentos, de los cuales 128.000 requieren hospitalización y cerca de 3000 terminan en muerte del paciente⁴. El género *Salmonella spp* hace referencia a bacilos Gram negativos, no esporulados, móviles excepto las serovariedades *Salmonella Gallinarum* y *Salmonella Pullorum*⁵. Todas las serovariedades conocidas de salmonellas son patógenas para el hombre, para los animales o para ambos, causando la enfermedad denominada salmonelosis^{6,7}. *Salmonella spp* habita normalmente en animales especialmente aves de corral y cerdos por lo que las fuentes más comunes de infección son los alimentos derivados de éstos aunque también se han asociado brotes al consumo de carne de res, cordero, productos lácteos frutas y vegetales⁸. De esta manera, la salmonelosis constituye una de las principales enfermedades de origen alimentario alrededor del mundo, manifestada por eventos diarreicos agudos, fiebre y grados variables de náuseas y vómito. Representa cerca del 30% de los casos atribuidos a intoxicaciones alimentarias en Estados Unidos donde se estima anualmente se presentan entre 2 y 4 millones de casos causando aproximadamente 600 muertes⁹. Un problema adicional



en las infecciones producidas por *Salmonella spp*, es la resistencia adquirida por muchas cepas a antimicrobianos de uso clínico como la ampicilina, las sulfamidas, el cloranfenicol y las quinolonas, los cuales se usan en la cría intensiva de animales de manera indiscriminada^{10,11}. La presencia de microorganismos como *Salmonella spp*. en alimentos, ha impulsado notoriamente los mecanismos de conservación y en la actualidad, está aumentando el interés por los antimicrobianos de origen natural que puedan ser extraídos para utilizarse con el fin de prolongar la vida útil de los alimentos, mediante el control natural de los procesos de alteración (preservación de alimentos) y prevención/control del crecimiento de microorganismos, incluyendo los patógenos (alimentos seguros)¹² y que representen seguridad para el consumidor. Muchos compuestos presentes en las plantas exhiben actividad antimicrobiana y en las últimas décadas se han presentado como alternativas viables para controlar a los microorganismos de manera natural^{12,13}. Las bayas o frutos rojos por ejemplo, son fuente importante de compuestos bioactivos tales como los fenoles y ácidos orgánicos los cuales pueden tener actividad antimicrobiana^{14,15}.

Extractos obtenidos a partir de la ericácea *Vaccinium macrocarpum*, demostraron tener actividad antibacteriana sobre *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* Typhimurium¹⁶. *Plutarchia coronaria* es un arbusto silvestre perteneciente a la familia de las ericáceas cuyo fruto en la madurez es rojo intenso o morado y podría exhibir actividad antimicrobiana. El objetivo de este trabajo fue determinar la actividad inhibitoria de extractos de *Plutarchia coronaria* sobre la bacteria patógena *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de las Muestras vegetales

Frutos maduros de *Plutarchia coronaria* fueron recolectados en el Cerro de Las Cruces, zona rural del municipio de Pamplona, vereda Fontibón, región oriental del casco urbano, geográficamente ubicado en las coordenadas 72°65' de longitud al oeste de Greenwich y a 7°37' de latitud norte, en la región suroccidental del departamento Norte de Santander sobre la vertiente Nororiental de la Cordillera Oriental. Muestras del material vegetal de donde se obtuvieron los frutos, reposan en el Herbario Catatumbo-



Sarare (HECASA) de la Universidad de Pamplona bajo el código de colección Humbolt 018:RC.

Obtención de los Extractos

Se tomaron 200 g de fruto los cuales fueron lavados con agua destilada y desinfectados durante 5 minutos con una solución de hipoclorito de sodio de 200 ppm. Se enjuagaron con abundante agua destilada y esterilizada, se trituraron durante 2 minutos en licuadora con recipientes esterilizados, filtrando el triturado a través de una gasa superplegada, recogiendo el filtrado en vasos de precipitado. La separación de los compuestos volátiles se realizó mediante una destilación con vapor-extracción con solvente¹⁷. Para su aplicación se realizó un montaje semejante a un extractor de destilación continua, consistente en dos erlenmeyers separados y conectados por vías diferentes a un condensador. En el primer erlenmeyer se agregaron 100 ml del filtrado y en el segundo se adicionaron 20 ml de hexano. El recipiente con la muestra se calentó hasta 95°C y de manera simultánea el hexano se calentó hasta 80°C. Los compuestos volátiles separados en el primer erlenmeyer fueron retenidos por el hexano evaporado por el segundo erlenmeyer y luego condensados. El condensado

obtenido fue separado con embudo de decantación, secado con sulfato de sodio anhidro, con el fin de eliminar el agua residual, filtrado y sometido al rotavapor para la separación del hexano y obtención del extracto para el posterior análisis antimicrobiano.

Preparación del Material Bacteriano

La cepa de *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036 fue suministrada por el cepario de la Universidad de Pamplona y mantenidas bajo refrigeración a 4°C, en caldo Infusión Cerebro Corazón – BHI (Oxoid Ltda). Se activó previamente a su utilización, incubándola a 37°C durante 18 horas. Los ensayos se hicieron a partir del patrón 0.5 de la escala McFarland equivalente a una población de 1.5×10^8 bacterias/ml. Para su preparación se mezcló un volumen de 0.5 ml de 0.048 mol/L (1.175% p/v $\text{BaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) se le adicionó 99.5 ml de 0.18 mol/L (0.36 N) H_2SO_4 (1% p/v). Esta mezcla fue agitada y llevada al espectrofotómetro obteniendo una absorbancia de 0.1 a 625nm de acuerdo a los valores establecidos teóricamente para este patrón. Posteriormente *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036 se repicó en caldo BHI y se incubó a 37°C hasta la



obtención de la densidad óptica del patrón 0.5 McFarland.

Test Antibacteriano

Para la determinación de la actividad antibacteriana de los extractos se utilizó la técnica de difusión en agar originalmente propuesta por Bauer y Kirbi e históricamente adoptada y recomendada por el National Committee on Clinical Laboratory Standards – NCCLS (Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico denominado hoy en día como Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI)¹⁸. A partir del McFarland 0.5 de *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036, se realizaron siembras masivas con hisopo estéril sobre cajas de Petri con Agar Mueller Hinton. Posteriormente se colocaron discos de papel filtro de 6mm de diámetro impregnados con 20µl del extracto de *Plutarchia coronaria* puro y diluido al 80%, 60%, 40% y 20% en etanol. Las cajas se mantuvieron durante 2 horas bajo refrigeración a 4°C y posteriormente fueron incubadas a 37°C durante 24 horas. Terminada la incubación, se midieron los halos de inhibición en milímetros, incluyendo el diámetro del papel filtro. También se realizó un control con el etanol para verificar la ausencia de efecto inhibitorio aportado por este alcohol.

Determinación de la CMI

La determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria CMI se realizó utilizando el método de macrodilución en caldo. Para este ensayo tubos con 9.8ml de caldo BHI estéril fueron adicionados con mezclas realizadas con una hora de antelación y mantenidas a 37°C de 0.1 ml del McFarland 0.5 de *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036 y 0.1ml de las concentraciones del extracto de *Plutarchia coronaria* partiendo desde la menor concentración donde se observó halo de inhibición hasta la primera concentración donde no se observó dicho halo de inhibición, de acuerdo con los resultados de la difusión en agar. Los tubos fueron incubados a 37°C durante 36 horas, determinando la turbidez a las 0, 6, 12, 18 y 24 horas de incubación en un espectrofotómetro BIOMATE 5 V 7.07 a 600nm (Thermo, Electron Corporation). La menor concentración donde no se observó aumento de la turbidez (crecimiento de las bacterias) en cualquiera de los triplicados fue tomada como la CMI. Después de determinar la CMI se sembró a partir de los tubos que no mostraron incremento en la turbidez 0,1ml en superficie sobre agar BHI para comprobar que realmente se inhibió el crecimiento.



De igual forma, los valores de absorbancia a 600 nm para cada uno de los tubos conteniendo la mezcla de *Salmonella* Enteritidis y extracto diluido de *Plutarchia coronaria* fueron transformados a unidades Log_{10} células/mL usando un modelo multiplicativo de relación entre densidad óptica y recuento en placa para *Salmonella* Enteritidis en caldo BHI desarrollado por Cabeza y Cabeza¹⁹.

Posteriormente, los resultados obtenidos fueron ajustados con el modelo primario de Baranyi para determinar los parámetros cinéticos (Máxima velocidad de crecimiento, duración de la fase de latencia, máxima velocidad de muerte y población inicial y final estimada) usando el programa DMFit v 2.1. (Norwich, UK)²⁰.

Todos los resultados fueron examinados con el software Statgraphics Centurión XV mediante un análisis de varianza simple para encontrar diferencias o no entre las medias a nivel $p < 0.05$, y en el caso de existencia de diferencias de medias se usó un test de comparación múltiple HSD de Tukey para establecer cuales medias difieren estadísticamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

52
Salmonella Enteritidis ATCC 17036 fue inhibida por los extractos de *Plutarchia coronaria* al 100% (puro), 80% y 60%, presentando halos de inhibición de 16.10 ± 0.90 ; 10.13 ± 0.85 y 8.07 ± 0.81 mm respectivamente, mientras que a concentraciones de 40% y 20% no se vio inhibida, tal como se aprecia en la Figura 1; encontrando diferencias significativas entre los diámetros de los halos de inhibición frente al control negativo a un nivel $p < 0.05$.

De acuerdo con el resultado anterior y teniendo en cuenta la categorización desarrollada por Ponce *et al*¹ donde se establece que un microorganismo es extremadamente sensible cuando se observan halos de inhibición con diámetros superiores a 20 mm, muy sensibles para diámetros entre 15 y 19 mm, sensibles para diámetros entre 9 y 14 mm y no sensibles para diámetros inferiores a 8 mm, *Salmonella* Enteritidis es muy sensible ante el extracto puro de *Plutarchia coronaria* y sensible cuando el extracto se diluye al 80% y 60%. Extractos obtenidos a partir de *Vaccinium angustifolium* han generado zonas de inhibición para otras salmonellas como *Salmonella* Typhimurium ATCC 6962 y *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 de 19.7 mm y 20.7 mm



respectivamente²². El fruto de *Prunus spinosa*, una baya silvestre extendida en varios países europeos, también ha demostrado actividad inhibitoria frente a *Salmonella* Enterica²³. Nikolić *et al.*²⁴ también reportaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de la ericacea *Gaultheria procumbens* frente a *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311, encontrando una CMI de 0.36 mg/ml para este aceite. Hammer *et al.*¹³ ya habían informado previamente la actividad antibacteriana de esta última ericacea frente a *Salmonella* Typhimurium, encontrando una inhibición del crecimiento a concentraciones de 0.5% de aceite esencial. Algunos mecanismos de acción de los extractos de bayas en la inhibición bacteriana implican la desestabilización de las membranas citoplasmáticas y por tanto alteraciones en la permeabilidad, inhibición de enzimas microbianas extracelulares, acciones directas sobre el metabolismo microbiano y privación de algunos sustratos requeridos para el desarrollo microbiano¹⁵.

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos con respecto a la CMI del extracto de *Plutarchia coronaria* sobre *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036, mientras que en las figuras 2 y 3 se muestran las curvas de comportamiento de *Salmonella*

Enteritidis ATCC 17036 frente a las diferentes concentraciones del extracto de *Plutarchia coronaria*.

Tal como se observa en la tabla 1, los tubos rotulados del 6 al 10 y que corresponden a las concentraciones de extracto de *Plutarchia coronaria* del 50%, 52%, 54%, 56% y 58%, respectivamente, no presentaron turbidez visible después de 24 horas de incubación a 37°C, mientras que los tubos rotulados del 1 al 5, los cuales corresponden a concentraciones de extracto de 40% al 48%, respectivamente, si presentaron incremento en su turbidez. Con base en este resultado, se estableció en 455 mg/mL como la CMI, la cual corresponde al tubo equivalente a la concentración de 50% y que se destaca en la columna sombreada de la tabla 1. Para corroborar los resultados se midió la absorbancia de todos los tubos, tanto aquellos que presentaban turbidez como los que no, encontrando un incremento medio de $1,288 \pm 0,091$ unidades de absorbancia en las concentraciones de 40% al 48% debido al desarrollo del microorganismo (figura 2), mientras que en aquellos tubos con concentraciones del 50 % al 56 % (figura 3) mantuvieron estable su densidad óptica después de 24 horas



con apenas un incremento de $0,001 \pm 0,006$ unidades de absorbancia con excepción del tubo correspondiente a la concentración del 56% donde la absorbancia disminuyó $0,009$ unidades; de igual forma, las siembras en placa de agar BHI no mostraron crecimiento bacteriano, confirmando que a concentraciones del 50% o más de extracto de *Plutarchia coronaria*, *Salmonella* Enteritidis se ve fuertemente inhibida. Los resultados obtenidos se asemejan a los reportados por diversos autores, donde otras especies de salmonellas como *Salmonella typhimurium* han mostrado sensibilidad ante extractos obtenidos a partir de la ericácea *Vaccinium macrocarpon*, siendo inhibida a concentraciones de 50, 75 y $100\mu\text{l/mL}$ en 24 horas¹⁶. En los estudios de Caillet *et al.*²⁵ sugieren diferentes CMI sobre *Salmonella typhimurium* a partir de extractos obtenidos de arándanos congelados (*Vaccinium macrocarpum*) e inclusive de productos procesados a partir de la misma baya y disponibles comercialmente (pulpa, jugo concentrado y jugo clarificado) mediante varios tipos de extracción y con solventes de diferente grado de polaridad para recuperar algunas clases de compuestos fenólicos específicos de acuerdo a su solubilidad. Extractos ricos en

compuestos fenólicos solubles, con compuestos apolares y con antocianinas mostraron una CMI de 5.20, 80 y $15.80\mu\text{l}$ fenol/poso respectivamente, utilizando la técnica de microdilución con placas estándar²⁵. Extractos de *Vaccinium angustifolium* también han demostrado una fuerte actividad inhibitoria sobre *Salmonella typhimurium* cuando se han utilizado puros y también sus fraccionados de antocianinas y antocianinas con proantocianidinas, mediante extracciones con diferentes tipos de solventes²². Las antocianinas y algunos otros compuestos fenólicos, han demostrado la capacidad para permear el lipopolisacárido de *Salmonella typhimurium* y otras salmonelas, desestabilizándolo e incrementando la salida de ATP del citoplasma¹⁵.

Las concentraciones de 40 al 48% del extracto de *Plutarchia coronaria* no afectan inicialmente el crecimiento de *Salmonella* Enteritidis, ya que no pudo observarse fases de latencia en ninguna de estas concentraciones, hecho que se contrasta con las formas de las curvas de crecimiento mostradas en las figuras 2 y 4, alcanzando la fase estacionaria en torno a las 12 ± 1 horas después de iniciado el ensayo en todas las concentraciones. Así mismo, tampoco



se apreciaron diferencias significativas a un nivel $p < 0,05$ en las velocidades de crecimiento de *Salmonella* Enteritidis para cada concentración de extracto evaluado, observándose una media de $0.206 \pm 0.018 \log_{10} \text{ cel/ml} \cdot \text{h}$; así como tampoco frente a la población final alcanzada después de 24 horas de incubación a 37°C (Tabla 2). Al finalizar el periodo de incubación, se obtuvo un incremento medio de $1,687 \log_{10}$ de células/mL, lo que permite afirmar que si bien a las concentraciones de 40% – 48% de extracto se da el crecimiento de *Salmonella* Enteritidis, dicho crecimiento es bajo en proporción a la población inicial inoculada, lo que da pie a la especulación de si dicho crecimiento se frena por la acción antibacteriana lenta del extracto diluido de *Plutarchia coronaria*, o si el crecimiento se detiene debido a la máxima capacidad de carga del medio de cultivo empleado en el estudio.

En la tabla 3 se muestran los resultados cinéticos de *Salmonella* Enteritidis obtenidos para las concentraciones de 50, 52, 54 y 56% de extracto de *Plutarchia coronaria*.

En cuanto a los parámetros obtenidos para los tubos con concentraciones de 50% a 56% o más de extracto de *Plutarchia coronaria*, después de 24

horas de incubación no se observaron incrementos significativos en la absorbancia, aún incluso en la concentración de 56% dicho valor disminuyó al final del ensayo, lo que indica en todos los casos una inhibición del crecimiento (Figura 3). Cuando los datos de absorbancia fueron transformados a \log_{10} células/ml y ajustadas al modelo de Baranyi, se observó una velocidad de crecimiento positiva para las concentraciones de 50%, 52% y 54%, mientras que para la concentración de 56% dicha velocidad fue negativa, sin embargo, el incremento final de la población para las tres primeras concentraciones no superó 1 cel/ml indicando la casi inhibición del crecimiento durante las 24 horas de exposición de *Salmonella* Enteritidis frente al extracto diluido de *Plutarchia coronaria* (tabla 3).

Los resultados anteriores sugieren que podría considerarse el uso de extractos de *Plutarchia coronaria*, en estudios complementarios sobre formulaciones alimenticias o su inclusión en la elaboración de membranas comestibles usadas en la preservación de alimentos.

Conclusion

La bacteria Gram negativa (G –) *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036, importante a nivel de la inocuidad



alimentaria, presenta una alta sensibilidad ante el extracto de *Plutarchia coronaria*, manifestada a través de halos de inhibición de 16 mm de diámetro. La Concentración Mínima Inhibitoria para este microorganismo, fue de 455mg/mL. De esta manera, el extracto de *Plutarchia coronaria*, exhibe potencial como conservante natural para la aplicación en formulaciones alimenticias, constituyente de empaques funcionales, futuras aplicaciones industriales y como posible agente terapéutico natural.

Referencias Bibliográficas

1. Meng J, Doyle M. 2002. Introduction. Microbiological food safety. *Microbes Infect.*, 4: 395 – 397.
2. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. 2015. *Salmonella* serotype Enteritidis – General Information. Consultado: 9 de marzo de 2015. Disponible en: http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/salmonella_enteritidis/
3. Schlundt J. 2002. New directions in foodborne disease prevention. *Int J Food Microbiol.*, 78: 3 – 17.
4. Scallan E, Griffin P, Angulo F, Tauxe R, Hoekstra R. 2011. Foodborne illness acquired in the United States — unspecified agents. *Emerg Infect Dis.*, 17:16 – 22.
5. FDA. Us Food and Drugs Administration. 2009. Bad Bug Book. Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Consultado: 4 de abril del 2010. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Food/FoodbornellnessContaminants/UCM297627.pdf>
6. Lax A, Barrow P, Jones P, Wallis T. 1995. Current perspectives in salmonellosis. *Br Vet J.*, 151: 351-377.
7. Suárez M, Mantilla J. 2000. Presencia de *Salmonella* serovariedad Enteritidis en productos de origen avícola y su repercusión en salud pública. *IATREIA* 13 (4): 237-245.
8. Campbell J, Mohle-Boetani J, Reporter R, Abbott S, Farrar J, Brandl M, et al. 2001. An outbreak of *Salmonella* serotype Thompson associated with fresh cilantro. *J Infect Dis*, 183: 984-987.
9. Angelidis A, Chronis E, Papageorgiou D, Kazakis I, Arsenoglou K, Stathopoulos G. 2006. Non-lactic acid, contaminating microbial flora in ready-to-eat foods: A potential food-quality index. *Food Microbiol.*, 23: 95-100.
10. Carramiñana J, Rota C, Agustín I, Herrera A. 2004. High prevalence of multiple resistance to antibiotics in *Salmonella* serovars isolated from a poultry slaughterhouse in Spain. *Vet Microbiol.*, 104, (1): 133–139.



11. Pinto L, Poeta P, Vieira S, Caleja C, Radhouani H, Carvalho C, et al. 2010. Genomic and proteomic evaluation of antibiotic resistance in *Salmonella* strains. *J Proteomics*, 73 (8): 1535-1541.
12. Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. 2010. Review Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21: 1199 – 1218.
13. Hammer K, Carson C, Riley T. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl. Microbiol.*, 86: 985-990.
14. Rauha J, Remes S, Heinonem M, Hopia A, Kahkonen M, Kujala T. 2000. Antimicrobial effects of finnish plant extracts containing flavonoids and others phenolic compounds. *Int J Food Microbiol.*, 56: 3-12.
15. Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Hartmann-Schmidlin S, Kahkonen M, Heinonen M, Maatta-Riihinen K. 2005. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *J App. Microbiol.*, 98: 991-1000.
16. Wu V, Qiu X, Bushway A, Harper L. 2008. Antibacterial effect of American cranberries (*Vaccinium macrocarpon*) on foodborne pathogens. *LWT Food Sci Technol.*, 41: 1834-1841.
17. Quintero A, González N, Staschenko E. 2004. Aceite esencial de las hojas de *Hyptis umbrosa* Salzm extraído por diferentes técnicas. *Acta Cient Venez.*, 55: 181-187.
18. Vardar-Unlü G, Candan F, Sökmen A, Daferera D, Polissiou M, Sökmen M, et al. 2003. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *J Agric Food Chem.*, 51(1): 63-67.
19. Cabeza-Herrera EA, Cabeza-Herrera RA. 2014. Desarrollo y Validación de un modelo de relación entre densidad óptica y recuento en placa para *Salmonella* Enteritidis en caldo BHI. En: Fundamentos de Microbiología Predictiva: aplicaciones teóricas y prácticas. Universidad de Pamplona. Pp. 34 – 47. Consultado: Noviembre 13 de 2014. Disponible en <https://drive.google.com/file/d/0B4xweoRsb1dSN0NBRm9LN0RmdFk/edit>
20. Baranyi J, Roberts TA. 1994. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int J Food Microbiol.*, 23: 277-294.
21. Ponce A, Fritz R, Del Valle C, Roura S. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT Food Sci Technol.*, 36: 679-684.
22. Lacombe A, Wu V, White J, Tadepalli S, Andre E. 2012. The antimicrobial properties of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) fractional components



58

against foodborne pathogens and the conservation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Microbiol.*, 30: 124 – 131.

23. Gündüz G. 2013. Antimicrobial activity of sloe berry purees on *Salmonella* spp. *Food Control*, 32: 354-358.

24. Nikolić M, Marković T, Mojović M, Pejin B, Savić A, Perić T, et al. 2013. Chemical composition and biological activity of *Gaultheria procumbens* L. essential oil. *Ind Crop Prod.*, 49: 561 – 567.

25. Caillet S, Côté J, Sylvain J, Lacroix M. 2012. Antimicrobial effects of fractions from cranberry products on the growth of seven pathogenic bacteria. *Food Control*, 23: 419-428.

Figura 1. Zonas de inhibición antibacteriana de extractos orgánicos de frutos de *Plutarchia coronaria* frente a *Salmonella* Enteritidis en agar Mueller Hinton. (A) 100%, (B) 80%, (C) 60%, (D) 40%, (E) 20%, (F) control negativo



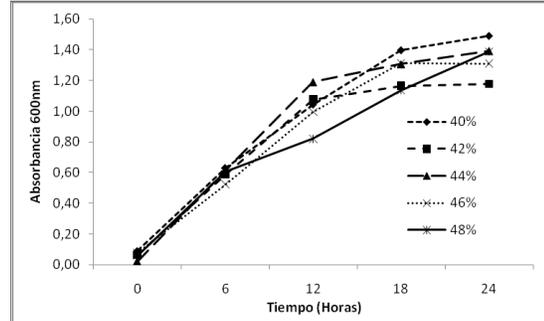
Fuente: Autores

Tabla 1. Concentración mínima inhibitoria sobre *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036.

Tubo	1	2	3	4	5
% de extracto	40	42	44	46	48
Concentración (mg/mL)	364	382.2	400.4	418.6	436.8
Turbidez	+	+	+	+	+

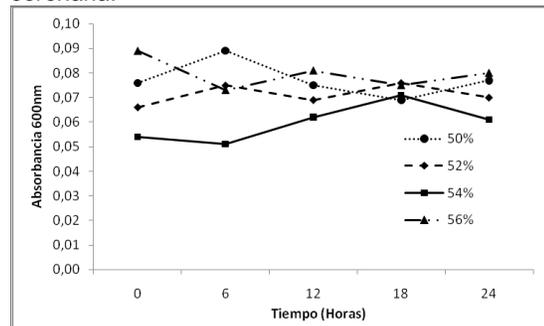
Tubo	6	7	8	9	10
% de extracto	50	52	54	56	58
Concentración (mg/mL)	455	473.2	491.4	509.6	527.8
Turbidez	-	-	-	-	-

Figura 2. Curvas de crecimiento de *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036 frente a concentraciones de 40% a 48% del extracto de *Plutarchia coronaria*.



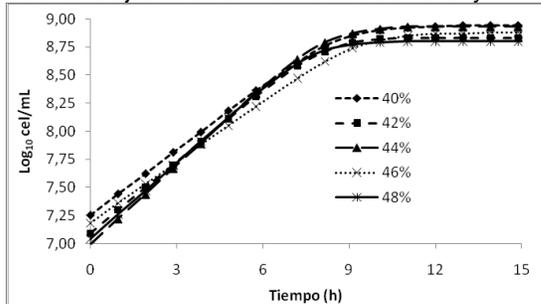
Fuente: Autores

Figura 3. Curvas de crecimiento de *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036 frente a concentraciones de 50% a 56% del extracto de *Plutarchia coronaria*.



Fuente: Autores

Figura 4. Curvas de crecimiento de *Salmonella* Enteritidis ATCC 17036 frente a concentraciones de 40 % a 48% del extracto de *Plutarchia coronaria* ajustadas con el modelo de Baranyi.



Fuente: Autores

Tabla 2. Parámetros cinéticos estimados para el comportamiento de *Salmonella* Enteritidis frente a concentraciones de 40 al 48% de extractos de *Plutarchia coronaria*

Concentración (%)	Parámetros cinéticos			
	$\mu_{\text{máx}} \pm \text{DE}$	$N_0 \pm \text{DE}$	$N_{\text{máx}} \pm \text{DE}$	Dif
40	0.192 ± 0.031	7.27 ± 0.15	8.89 ± 0.07	1.62
42	0.216 ± 0.008	7.10 ± 0.03	8.80 ± 0.02	1.70
44	0.209 ± 0.013	7.16 ± 0.05	8.89 ± 0.03	1.73
46	0.184 ± 0.025	7.20 ± 0.10	8.84 ± 0.06	1.65
48	0.229 ± 0.045	7.04 ± 0.02	8.78 ± 0.10	1.74
Promedio	0.206 ± 0.018	7.15 ± 0.09	8.84 ± 0.05	1.69 ± 0.05

$\mu_{\text{máx}}$ (máxima velocidad de crecimiento específico expresada en $\text{Log}_{10} \text{ cel} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); N_0 y $N_{\text{máx}}$ (Mínima y Máxima densidad de población estimada, expresadas en $\text{Log}_{10} \text{ cel/ml}$); Dif (diferencia entre $N_{\text{máx}}$ y N_0 expresada en $\text{Log}_{10} \text{ cel/ml}$).

Tabla 3. Parámetros cinéticos estimados para la muerte de *Salmonella* Enteritidis frente a concentraciones de 50 al 56% de extractos de *Plutarchia coronaria*.

Concentración (%)	Parámetros cinéticos			
	$\mu_{\text{máx}} \pm \text{DE}$	$N_0 \pm \text{DE}$	$N_{\text{máx}} \pm \text{DE}$	Dif
50	0,0031 ^a ± 0,0070	7,164 ± 0,060	7,217 ± 0,057	0,053
52	0,0012 ^a ± 0,0018	7,129 ± 0,027	7,164 ± 0,060	0,035
54	0,0052 ^b ± 0,0030	6,986 ± 0,060	7,110 ± 0,082	0,124
56	-0,0017 ^c ± 0,0024	7,223 ± 0,035	7,180 ± 0,056	- 0,043
Promedio	---	7,139 ± 0,111	7,155 ± 0,031	---

$\mu_{\text{máx}}$ (máxima velocidad de crecimiento específico expresada en $\text{Log}_{10} \text{ cel} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$); N_0 y $N_{\text{máx}}$ (Mínima y Máxima densidad de población estimada a las 24 horas de cultivo, expresadas en $\text{Log}_{10} \text{ cel/ml}$); Dif (diferencia entre $N_{\text{máx}}$ y N_0 expresada en $\text{Log}_{10} \text{ cel/ml}$).

Columnas con letras en común indican la no existencia de diferencias significativas a un nivel de $p < 0,05$



Cabeza Herrera Enrique Alfonso:Ph.D.
Profesor Asociado.Programa de
Microbiología.Facultad de Ciencias
Basicas. Grupo de Investigación en
Grupo de Investigación en Microbiología
y Biotecnología GIMBIO

Cabeza Herrera Rodolfo Andrés:Ms.C
Profesor.Programa de Microbiología.
Facultad de Ciencias Basicas. Grupo de
Investigación en Grupo de
Investigación en Microbiología y
Biotecnología GIMBIO

Pisciotti Ortega Danny Armando.Ms.C
Profesor.Programa de Microbiología.
Facultad de Ciencias Basicas. Grupo de
Investigación en Grupo de Investigación
en Microbiología y Biotecnología GIMBIO