

Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Lavandula dentata* frente a cepas multirresistentes a antibacterianos asociadas a mastitis bovina

Antibacterial activity of *Lavandula dentata* essential oil against multidrug-resistant strains associated with bovine mastitis

Nerina Yexalén Rojas-Hernández^a, Adrian Zaragoza-Bastida^b, Ana Lizet Morales-Ubaldo^c,
Juan Noguez-Estrada^d, Nallely Rivero-Perez^{e*}

Abstract:

The present study aimed to determine the antibacterial activity of *Lavandula dentata* essential oil against reference and multidrug-resistant strains associated with mastitis. The essential oil was obtained through steam distillation technique, and its antibacterial activity was determined through the disk diffusion method. Data were normalized and analyzed using ANOVA and Tukey's test ($p < 0.05$) using Minitab 18 software. A greater effect was observed against reference strains, with inhibition zones of 15.0 mm for *S. aureus*⁶⁵³⁸ and 11.0 mm for *E. coli*³⁵²¹, respect to multidrug-resistant Gram-positive strains, inhibition zones were smaller (8.5-9.25 mm), while higher values were observed against Gram-negative strains (8.5 mm-11.75 mm), particularly in *Serratia liquefaciens* and *P. aeruginosa*. The results suggest a therapeutic potential of the essential oil, although further studies are required to determine its minimal inhibitory and minimal bactericidal concentrations.

Keywords:

Lavandula dentata, essential oils, antibacterial activity, multidrug resistance.

Resumen:

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Lavandula dentata* frente a cepas de referencia y multirresistentes asociadas a mastitis. El aceite esencial fue obtenido mediante la técnica de arrastre de vapor, y la actividad antibacteriana se determinó a través de la técnica de difusión en disco. Los datos fueron normalizados y analizados mediante ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0.05$) utilizando el software Minitab 18. Se observó mayor efecto en cepas de referencia, con halos de 15.0 mm para *S. aureus*⁶⁵³⁸ y 11.0 mm frente a *E. coli*³⁵²¹. En cepas multirresistentes Gram positivas, los halos fueron menores (8.5 - 9.25 mm), mientras que en Gram negativas se observaron valores mayores (8.5-11.75 mm), destacando *Serratia liquefaciens* y *P. aeruginosa* por su sensibilidad al tratamiento. Los resultados sugieren un potencial terapéutico del aceite esencial, aunque se requieren estudios adicionales para determinar su concentración mínima inhibitoria y mínima bactericida.

Palabras Clave:

Lavandula dentata, aceites esenciales, actividad antibacteriana, multirresistencia.

^a Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo | Instituto de Ciencias Agropecuarias | Tulancingo-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0009-0001-0208-9067>, Email: ro411427@uaeh.edu.mx

^b Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo | Instituto de Ciencias Agropecuarias | Tulancingo-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0000-0002-8537-5025>, Email: adrian_zaragoza@uaeh.edu.mx

^c Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo | Instituto de Ciencias Agropecuarias | Tulancingo-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0000-0001-9542-8242>, Email: ubaldolizet8@gmail.com

^d Universidad Politécnica de Francisco I. Madero | Ingeniería en Producción Animal | Tepatepec-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0000-0002-0493-8843>, Email: jnoguez@upfim.edu.mx

^e Autor de Correspondencia, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo | Instituto de Ciencias Agropecuarias | Tulancingo-Hidalgo | México, <https://orcid.org/0000-0002-6154-9983>, Email: nallely_rivero@uaeh.edu.mx

Introducción

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) se ha consolidado como uno de los principales desafíos sanitarios a nivel mundial, con un impacto significativo tanto en la medicina humana como en la medicina veterinaria. Según la Organización Mundial de la Salud [1], esta problemática se ha visto agravada por el uso inadecuado y excesivo de los antimicrobianos. Ante este escenario, ha crecido el interés por buscar compuestos alternativos, seguros y eficaces que contribuyan a reducir la dependencia de los antibióticos convencionales.

Entre estas alternativas, los aceites esenciales de origen vegetal han demostrado propiedades antimicrobianas destacadas, además de una baja toxicidad y un escaso riesgo de generar resistencia bacteriana [2]. En este sentido, el aceite esencial de *Lavandula dentata* ha captado interés científico por su composición química rica en compuestos bioactivos como linalool, 1,8-cineol y camphor, los cuales están asociados con propiedades antimicrobianas [3]. Estudios reportan que los aceites esenciales de *L. dentata*, caracterizados por un elevado contenido de monoterpenos oxigenados, exhiben actividad frente a bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, lo que se atribuye a la capacidad de estos compuestos para alterar la integridad de la membrana celular bacteriana [4]. En evaluaciones *in vitro*, el aceite esencial de *L. dentata* ha mostrado inhibición significativa del crecimiento bacteriano frente a estas especies, sugiriendo su potencial como agente antimicrobiano natural [3].

Particularmente, la mastitis bovina es una de las enfermedades más comunes en la industria lechera mundial, causada principalmente por bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, la cual genera pérdidas económicas. Su tratamiento se basa en el uso de antibióticos, pero su uso frecuente e inadecuado ha favorecido la aparición de cepas multirresistentes, lo que ha convertido a la resistencia antimicrobiana en un problema creciente que representa un riesgo para la salud pública por la posible transferencia de genes de resistencia [5]. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Lavandula dentata* frente a cepas multirresistentes como potencial alternativa terapéutica en mastitis bovina.

Materiales y métodos

Obtención del material vegetal

Las partes aéreas de *Lavandula dentata* fueron recolectadas manualmente durante el mes de junio en las instalaciones del Instituto de Ciencias Agropecuarias, ubicado en el municipio de Santiago Tulantepec de Lugo Guerrero, Hidalgo, México (20°03'40"N 98°23'00"O). Para la identificación de la planta se consultó el herbario de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), y se verificó que la planta correspondiera a *L. dentata* (IBUNAM: MEXU: 125978) (Figura 1). Posteriormente, el material vegetal fue sometido a un proceso

de secado a temperatura ambiente y en ausencia de luz durante un periodo de siete días.



Figura 1. Partes aéreas de *Lavandula dentata*.

Figura 2. Imagen representativa de los halos de inhibición de (A) *Staphylococcus aureus*⁶⁵³⁸ y (B) *Escherichia coli*³⁵²¹.

Extracción del aceite esencial de *Lavandula angustifolia* (AELd)

Una vez concluido el proceso de secado, se procedió a la obtención del aceite esencial mediante la técnica de arrastre de vapor, manteniendo una proporción planta: agua de 1:10. Para ello, se emplearon 300 g de material vegetal seco junto con 3,000 mL de agua destilada. La destilación se llevó a cabo durante 50 minutos, al término de este proceso el aceite esencial de *Lavandula dentata* (AELd) fue recolectado y conservado en un vial de vidrio a una temperatura de 4°C hasta su posterior evaluación antibacteriana [6].

Material biológico

Se emplearon ocho cepas bacterianas pertenecientes a la colección del Laboratorio de Bacteriología de Investigación del Área Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Como cepas indicadoras (ATCC) se utilizaron *Staphylococcus aureus*⁶⁵³⁸ y *Escherichia coli*³⁵²¹. Asimismo, se emplearon seis cepas multirresistentes previamente aisladas de muestras de leche de vacas con mastitis: *Staphylococcus aureus*⁸⁰⁷⁸, *Staphylococcus chromogenes*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*¹⁷⁰⁶⁰⁴, *Serratia liquefaciens* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana se determinó mediante la técnica de difusión en disco; para la cual se inoculó una colonia aislada de cada cepa en 2.0 mL de caldo nutritivo (BD Bioxon), los inóculos se incubaron a 37°C por 24 h. Una vez obtenidos, el crecimiento fue ajustado al 0.5 patrón de turbidez del estándar McFarland, equivalente a una concentración aproximada de 150×10^6 cel/mL [7].

De cada suspensión ajustada, se tomaron 100 µL y se distribuyeron uniformemente sobre placas de agar Mueller-Hinton (BD Bioxon, México), las cuales se dejaron secar durante 15 minutos. Posteriormente se colocaron discos de papel filtro (6 mm) impregnados con 3 µL de AELd, como control positivo se utilizó levofloxacin (10 µg/mL) y agua destilada estéril como control negativo. Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas, después de la incubación

se midieron los halos de inhibición generados [8].

La sensibilidad de las bacterias a los tratamientos se clasificó de la siguiente manera: no sensible (< 8.0 mm); sensible (8.0 a < 14.0 mm); muy sensible (14.00 a < 20.0 mm); y extremadamente sensible (> 20.0 mm) [9].

Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) y las diferencias entre las medidas se determinaron mediante una comparación Tukey, para ambas pruebas se utilizó un $<$ de confianza del 95%, usando el programa Minitab 18.

Resultados

De acuerdo con el análisis estadístico, se observaron diferencias significativas en la actividad antibacteriana del aceite esencial de *L. dentata* (AELd) entre las cepas evaluadas ($p = 0.0001$). De manera general, el AELd mostró mayor actividad frente a las cepas de referencia, con halos de inhibición de 15.0 mm para *S. aureus*⁶⁵³⁸ y 11.0 mm para *E. coli*³⁵²¹⁸, clasificadas como muy sensible y sensible, respectivamente (Cuadro 1 y figura 2).

Con respecto a las cepas multiresistentes, el 100% de ellas presentó sensibilidad al AELd; sin embargo, los halos de inhibición variaron significativamente ($p = 0.0001$). En las bacterias Gram positivas, la actividad fue menor, con halos de inhibición de 8.5 mm frente a *S. aureus*⁸⁰⁷⁸ y *E. faecium* y de 9.25 mm para *S. chromogenes*, que presentó la mayor sensibilidad dentro de este grupo.

En contraste, las bacterias Gram negativas mostraron una mayor susceptibilidad al tratamiento, con halos de inhibición de 8.5 , 9.5 y 11.75 mm para *E. coli*¹⁷⁰⁶⁰⁴, *P. aeruginosa* y *S. liquefaciens*, respectivamente, destacando esta última por su sensibilidad al aceite esencial.

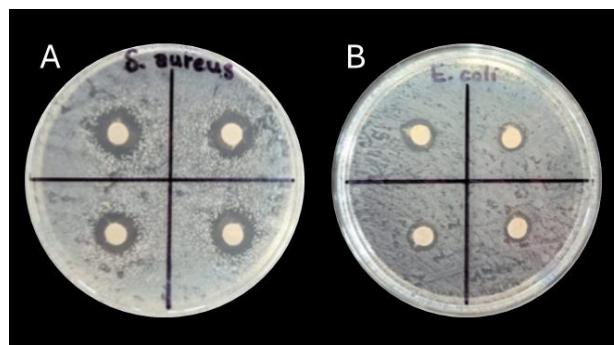
Cuadro 1. Diámetros de los halos de inhibición del AELd sobre cepas referencia y multiresistentes (mm).

Cepa evaluada	AELd	CF	Levofloxacin
<i>S. aureus</i> ⁶⁵³⁸	15.00 ± 0.00^A	MS	11.00 ± 0.81
<i>E. coli</i> ³⁵²¹⁸	11.00 ± 0.00^B	S	14.50 ± 0.57
<i>S. aureus</i> ⁸⁰⁷⁸	8.50 ± 0.57^B	S	19.50 ± 1.73
<i>E. faecium</i>	8.50 ± 0.50^B	S	10.00 ± 0.00
<i>S. chromogenes</i>	9.25 ± 1.25^B	S	9.00 ± 1.41
<i>E. coli</i> ¹⁷⁰⁶⁰⁴	8.50 ± 1.00^B	S	16.75 ± 1.50
<i>S. liquefaciens</i>	11.75 ± 1.50^B	S	30.00 ± 2.45
<i>P. aeruginosa</i>	9.50 ± 1.29^B	S	15.25 ± 2.36
Valor de P	0.0001		

AELd, Aceite esencial de *L. dentata*; CF, clasificación; MS, muy sensible, S, sensible. ^{A,B} Diferentes literales indican diferencias significativas entre bacterias.

Discusión

La actividad antibacteriana del AELd observada en el presente estudio es consistente con lo reportado en la literatura, donde se ha documentado una mayor susceptibilidad de las bacterias Gram positivas en comparación con las Gram negativas. En este contexto, Bouazama *et al.* (2017), reportaron que *S. aureus*²⁵⁹²³ fue más sensible en comparación con *E. coli*⁴¹⁵⁷ y *P. aeruginosa*²⁷⁸⁵³, lo cual coincide con los resultados obtenidos en



este estudio [10].

No obstante, al analizar la magnitud del efecto, se observa una variabilidad considerable en los diámetros de inhibición reportados en otros estudios. Bachiri *et al.* (2017) documentaron halos de inhibición de 20.10 ± 0.10 mm en *S. aureus* y 18.03 ± 0.00 mm sobre *K. pneumoniae*, valores superiores a los determinados en este estudio [11]. De manera similar, Aly *et al.* (2013) reportaron halos de 21 ± 1.7 mm en *P. aeruginosa* [12], mientras que en el presente estudio se obtuvo un diámetro inferior para la misma especie, evidenciando menor actividad antibacteriana.

Estas discrepancias pueden explicarse por la alta variabilidad en la composición química de los aceites esenciales, la cual está influenciada por factores como el origen geográfico, las condiciones agroclimáticas y el estado fenológico de la planta. Asimismo, las diferencias en los métodos de extracción, las concentraciones empleadas y las técnicas de evaluación antibacteriana pueden contribuir de manera significativa a la variación observada entre estudios.

Desde el punto de vista mecanístico, la actividad antibacteriana del AELd se ha asociado con la presencia de compuestos mayoritarios como el linalool, 1,8-cineol y alcanfor, los cuales ejercen su efecto principalmente mediante la alteración de la integridad de la membrana celular, el incremento de su permeabilidad y la consecuente pérdida de componentes intracelulares [3].

Conclusión

El AELd representó actividad antibacteriana frente cepas de referencia y multiresistentes, lo que sugiere su potencial como alternativa terapéutica para el tratamiento de la mastitis bovina. No obstante, es necesario determinar con precisión sus concentraciones mínimas inhibitoria (CMI) y bactericida (CMB) para sustentar su eficacia clínica, así como evaluar su perfil de toxicidad previo a su validación en estudios *in vivo*.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y al Instituto de Ciencias Agropecuarias por el apoyo para llevar a cabo el presente proyecto de investigación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Referencias

- [1] Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos. Organización Mundial de la Salud 2021. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- [2] Cavanagh HMA, Wilkinson JM. Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research* 2002; 16(4): 301–308. <https://doi.org/10.1002/ptr.1103>
- [3] El Abdali Y, Agour A, Allali A, Bourhia M, El Moussaoui A, Eloutassi N, Bouia A. Antibacterial, antioxidant, and in silico NADPH oxidase inhibition studies of essential oils of *Lavandula dentata* against foodborne pathogens. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2023; 2023: 36820398. <https://doi.org/10.1155/2023/9766002>
- [4] Bouyahya A, El Omari N, Hakkur M, El Menyiy N, Balahbib A, El Hachlafi N, Bakri Y. Traditional use, phytochemistry, toxicology, and pharmacological properties of *Lavandula dentata* L.: A comprehensive review. *South African Journal of Botany* 2023; 154: 67–87. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.01.023>
- [5] Morales-Ubaldo AL, Rivero-Perez N, Valladares-Carranza B, Velázquez-Ordoñez V, Delgadillo-Ruiz L. Antimicrobial resistance in bovine mastitis pathogens and alternative therapeutic approaches. *Veterinary and Animal Science* 2023; 20: 100296. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2023.100306>
- [6] Kant R, Kumar A. Advancements in steam distillation system for oil extraction from peppermint leaves. *Materials Today: Proceedings* 2021; 47: 5794–5799. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.04.123>
- [7] Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012. CLSI document M7-A5.
- [8] Rodrigues A, Filgueiras L, et al. *In vitro* evaluation of antibacterial activity of phytobiotics against pathogenic bacteria in continental aquaculture. *Ciência Animal Brasileira* 2020; 21(3): 567–578. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v26e-79128E>
- [9] Imane NI, Fouzia H, Azzahra LF, Ahmed E, Ismail G, Idrissa D, Mohamed KH, Sirine F, L'Houcine O, Nouredine B. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of some essential oils against multidrug resistant bacteria. *European Journal of Integrative Medicine* 2020; 35: 101074. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2020.101074>
- [10] Bouazama S, Harhar H, Costa J, Desjobert JM, Talbaoui A, Tabyaoui M. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Lavandula pedunculata* and *Lavandula dentata*. *Journal of Materials and Environmental Science* 2017; 8: 2154–2160.
- [11] Bachiri L, Bammou M, Echchegadga G, Ibijbjen J, El Rhaffari L, Haloui Z, Nassiri L. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of two lavender species: *Lavandula dentata* spp. *dentata* and *Lavandula pedunculata* spp. *pedunculata*. *European Scientific Journal* 2017; 13: 293. <https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n21p293>
- [12] Aly MM, Al-Ghamdi M, Bafeel SO, Khedr AM. Antimicrobial activities and phytochemical analysis of the essential oil of *Lavandula dentata* and *Plectranthus tenuiflorus*, collected from Al Baha region, Saudi Arabia. *Life Science Journal* 2013; 10(4): 3302–3309. <https://www.semanticscholar.org/paper/Antimicrobial-Activities-and-Phytochemical-Analysis-Aly-Al-Ghamdi/8302b535e75574e9a02f8ba65a9d30683f43a7e8>