

ARTÍCULOS ORIGINALES

Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM)
Departamento de Investigaciones Microbiológicas

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE PLANTAS QUE CRECEN EN CUBA

Lic. Lizet Hernández Díaz¹ y Dra. Mayra Rodríguez Jorge²

Resumen

El presente trabajo tuvo por objetivo validar el uso tradicional como antimicrobiano de 3 especies vegetales que crecen en Cuba. Para ello se evaluó la actividad antimicrobiana a 3 extractos fluidos empleando el método de diluciones seriadas dobles en medio líquido utilizando una batería microbiana integrada por 4 bacterias Gram (+), 8 bacterias Gram (-), 1 levadura y un hongo dermatofito, todos de interés clínico humano. Los resultados obtenidos corroboran el uso tradicional de dichas especies y su posible utilización en la elaboración de fitofármacos.

DeCs: EXTRACTOS VEGETALES/uso terapéutico; PLANTAS MEDICINALES/crecimiento & desarrollo; MEDICINA HERBARIA, ACEITES VOLATILES; CULTIVOS AGRICOLAS/crecimiento & desarrollo; CUBA; ALBAHACA/uso terapéutico.

Summary

The main goal of the present paper was to validate the traditional use as antimicrobial of 3 plant species growing in Cuba. The antimicrobial activity was assessed in 3 fluid extracts by using the double serial dilutions method in a fluid medium and utilizing a microbial bacterium consisting of 4 Gram-positive bacteria, 8 Gram-negative bacteria, 1 yeast and 1 dermatophyte, all of them of human and clinical interest. The results obtained corroborated the traditional use of such species and their potential utilization in the production of phytodrugs.

Subject headings: PLANT EXTRACTS/therapeutic use; PLANTS, MEDICINAL/growth & development; MEDICINE, HERBAL; OILS, VOLATILE; CROPS, AGRICULTURAL/growth & development; CUBA; ALBAHACA/therapeutic use.

Numerosas son las investigaciones que se realizan encaminadas a la búsqueda de nuevos compuestos con actividades biológicas a partir de fuentes naturales. Dentro de ellos un considerable número de estudios han sido encaminados hacia la evaluación de actividades antimicrobianas en extractos y aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. Para ello se han empleado las técnicas *in vitro* dada la sencillez y reproducibilidad de las mismas.

Cuba ha ido sumándose a esta corriente mundial, y a lo largo del país existen instituciones científicas que se dedican a la búsqueda de diferentes actividades farmacológicas

dentro del reino vegetal, para lo cual la riqueza de la flora cubana ofrece inagotables posibilidades.

Ocimum basilicum L, *Ocimum tenuiflorum* L y *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, son plantas cultivadas en Cuba y se utilizan ampliamente en la medicina tradicional cubana que ha sabido aprovechar su rica flora y su vasta tradición en el empleo de fitofármacos, pero su aplicación sin un aval científico representa un riesgo para la salud humana.

Por esta razón se propuso validar el uso tradicional como antimicrobiano de las especies vegetales *Ocimum basilicum* L, *Ocimum tenuiflorum* L y *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.

¹ Licenciada en Microbiología. Investigadora Aspirante.

² Doctora en Ciencias Farmacéuticas. Investigadora Titular.

Métodos

Se evaluaron extractos etanólicos de 3 especies vegetales cultivadas en Cuba. Las especificaciones de cada planta se muestran en la tabla 1. Los extractos etanólicos se obtuvieron por reperlación de acuerdo a la NRSP 311 utilizando como menstruo etanol al 70 %⁵ (MINSAP. Medicamentos de origen vegetal. Tinturas y extractos fluidos. Procesos tecnológicos. 1992. NRSP 311).

El estudio de la actividad antimicrobiana *in vitro* se llevó a cabo mediante la determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) empleando el método de las diluciones seriadas dobles en medio líquido.¹ Se empleó caldo triptona soya como medio de cultivo para las bacterias y caldo Sabouraud dextrosa para los hongos.

Se empleó una batería microbiana integrada por las bacterias *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus faecalis* ATCC 19433, *Bacillus subtilis* ATCC 7001, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Serratia marcescens* ATCC 8100, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Shigella flexneri* ATCC 1202, la levadura *Candida albicans* ATCC 10231 y el hongo dermatofito *Trichophyton mentagrophytes* (aislamiento clínico).

El inóculo utilizado fue 10⁵ ufc/mL para las bacterias y la levadura y 10⁴ ufc/mL para los hongos. Se determinaron además las concentraciones mínimas microbicidas (CMM) mediante siembra de alícuotas (10 µL) de los tubos que mostraron inhibición, en medios agarizados específicos libres del agente antimicrobiano; agar Vogel-Johnson, agar Mc Conkey

No. 3, agar CLED, agar leche, agar cetrimide, agar SS y agar Sabouraud dextrosa, en dependencia del microorganismo en cuestión.

Resultados

La tabla 2 resume los resultados obtenidos en la evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana de las 3 especies vegetales.

Con el extracto de *O. Basilicum* L se pone de manifiesto que de las especies microbianas estudiadas las más sensibles resultaron ser las bacterias Gram (+), destacándose en tal sentido *B. subtilis*, el cual mostró los valores más bajos de CMI. También resultaron sensibles la levadura *Candida albicans*, el dermatofito *T. mentagrophytes* y de los Gram (-) solo *Ps. aeruginosa* y *P. vulgaris*; predominando en general las acciones microbicidas en el 71,4 % de los microorganismos.

Frente al extracto fluido de *O. tenuiflorum* L. también las bacterias Gram (+) fueron las más sensibles, siendo el *B. subtilis* el germen más inhibido. Siguen en orden decreciente de sensibilidad las bacterias Gram (-), *E. aerogenes*, *S. marcescens* y *K. pneumoniae*.

En este último microorganismo los valores de CMI no se corresponden con los de CMM evidenciándose para el resto de las especies microbianas una acción microbicida (90,9 %) lo que significa un daño letal del agente sobre la célula microbiana.

Con el extracto de *C. citratus* (DC) Stapf también *B. subtilis* mostró mayor sensibilidad, seguido en orden decre-

TABLA 1. Especificaciones de los extractos vegetales

Planta	Procedencia	Usos tradicionales	Tipo de extractos	% de sólidos totales	% de aceite
<i>Ocimum basilicum</i> L. Albahaca morada	E.E.P.M.	Antimicrobiano. Antiséptico. Diurético Rubefaciente.	Fluido con etanol al 70%	4,88	0,36
<i>Ocimum Tenuiflorum</i> L. (Albahaca blanca)	E.E.P.M.	Antimicrobiano Hipoglicemiante. Diurético Antiasmático	Fluido con Etanol al 70%	8,86	0,41
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC) (Caña santa)	E.E.P.M.	Antimicrobiano Antiasmático Diurético Antihipertensivo	Fluido con etanol al 70%	9,52	0,24

E.E.P.M. Estación Experimental de Plantas Medicinales "Dr. Juan Tomás Roig"

TABLA 2. Actividad antimicrobiana demostrada en los extractos fluidos de las especies *Ocimum basilicum* L., *Ocimum tenuiflorum* L. Y *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf.

Microorganismo	<i>O. basilicum</i>		<i>O. tenuiflorum</i>		<i>C. Citratus</i>	
	CMI	CMM	CMI	CMM	CMI	CMM
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	ND	-	22,15	22,15	ND	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	ND	-	11,07	22,15	ND	-
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100	ND	-	11,07	11,07	ND	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	ND	-	11,07	11,07	ND	-
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 8090	ND	-	-	-	ND	-
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	ND	-	-	-	7,61	15,23
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853	8,39	16,78	22,15	22,15	ND	-
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 1202	-	-	-	-	ND	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	8,39	8,39	11,07	11,07	15,23	15,23
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	4,19	8,39	5,53	5,53	15,23	15,23
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 19433	8,39	8,39	11,07	11,07	15,23	30,46
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 7001	0,52	0,52	2,76	2,76	3,80	3,80
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	8,39	8,39	11,07	11,07	15,23	15,23
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> (a. clínico)	8,39	8,39	11,07	11,07	7,61	7,61

CMI: Concentración mínima inhibitoria.

CMM: Concentración mínima microbicida.

ND: No detectable a las concentraciones evaluadas.

Nota: Los valores de CMI y CMM se expresan en mg/mL.

ciente por el hongo dermatofito *T. mentagrophytes*. Con relación a las bacterias Gram (-) solo *P. vulgaris* resultó inhibido por dicho extracto. Se observó también que el extracto provocó en el 71,4 % de los microorganismos estudiados una acción microbicida.

Discusión

Los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por varios investigadores.

Farauk y otros (1982) encontraron que las bacterias Gram (+) resultaron ser las más sensibles cuando estudiaron la actividad antimicrobiana en extractos clorofórmicos y metanólicos de plantas sudanesas, entre ellas *O. basilicum* L.² Otros estudios indicaron la presencia de actividad en extractos clorofórmicos y metanólicos de la familia *Lamiaceae* (especie *Ocimum*) frente a *S. aureus*, *C. albicans*, *Mycobacterium pheli* y *K. pneumoniae* empleando el método de dilución en agar y bioautografía, mientras que *Pérez y Anesini* (1994) estudiaron la actividad antibacteriana en extractos acuosos y obtuvieron resultados negativos.^{3,4}

A diferencia de *Ocimum basilicum*, *L* y *Ocimum tenuiflorum* L, los valores de CMI obtenidos con el extracto de *C. citratus* (DC) Stapf no coincidieron con lo reportado por Cáceres y otros (1987) al evaluar la actividad de extractos etanólicos de esta especie sobre *E. coli* y *Ps. aeruginosa*.⁵

La mayor parte de la literatura mundial sobre el tema avala la actividad tanto antibacteriana como antifúngica de los aceites esenciales de estas plantas. De hecho, el aceite esencial, está presente en cada uno de los extractos evaluados.

La evaluación de los aceites esenciales de *O. basilicum* L. y *O. tenuiflorum* L. frente a una bacteria integrada por

B. subtilis, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *B. cereus*, *C. albicans* y algunas especies de hongos fue realizada por varios investigadores quienes encontraron actividad en todos los casos.^{6,7} Similares a estos resultados fueron obtenidos por investigadores en Guatemala, donde popularmente se utilizan en el tratamiento de enfermedades dérmicas, contra patógenos humanos entre ellos *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *S. aureus* y *T. mentagrophytes*.⁵

Estudios en el aceite esencial de *O. tenuiflorum* L. y *O. basilicum* L. indicaron la presencia de compuestos a los que se les atribuyen propiedades antimicrobianas destacándose entre ellos el eugenol.⁸ De los extractos que evaluamos estos fueron los que mayor por ciento de aceite esencial presentaron (0,41 % y 0,36 % respectivamente).

Lemos y otros (1990) informaron potente actividad del aceite esencial de *C. citratus* sobre *B. subtilis*, *S. aureus* y *T. mentagrophytes*, mientras con *E. coli* y *Ps. aeruginosa* esta fue débil.⁹ Sin embargo, se ha referido presencia de actividad frente a *E. coli* y *S. aureus*.¹⁰

Según aparece reportado tanto en la actividad bacteriana como antifúngica de los constituyentes del aceite esencial de esta especie vegetal, el geranial y el neral (α y β citral) son los responsables de dicha actividad, pues el mirceno, otro de sus constituyentes, solo tiene un efecto sinérgico y coadyuvante con los anteriores.¹¹

Conclusiones

Quedó demostrada la actividad antimicrobiana de *Ocimum basilicum* L., *Ocimum tenuiflorum* L., *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, lo que justifica el uso tradicional de estas especies.

Referencias bibliográficas

1. Vanden BD, Vlitéinck A. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. *Methods Plant Biochem* 1991;6:47-69.
2. Farauk A, Bashir AK, Salih AKM. Antimicrobial activity of certain Sudanese plants used in folkloric medicine. *Fitoterapia* 1982;3:54-7.
3. Recio MC, Ríos JL, Villar A. Antimicrobial activity of selected plants employed in the spanish mediterranean area. *Phytotherapy Res* 1989;3:7-81.
4. Pérez C, Anesini C. Inhibition of *pseudomona aeruginosa* by argentinian medicinal plants. *Fitoterapia* 1994;65:169-72.
5. Cáceres A, Girón LM, Alvarado SR, Torres MF. Screening of antimicrobial activity of plants populary used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *J Ethnopharmacol* 1987;20:223-6.
6. Janssen AM, Chin NJ, Scheffer JCC. Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique. *Pharm Weekbl* 1986;8:289-94.
7. Prasad G, Kumar A, Singh AK. Antimicrobial activity of essential oils of some *Ocimum* species. *Fitoterapia* 1986;57:429-32.
8. Lawrence BM, Hogg JW, Terhune SJ, Pichitakul N. Essential oils and their constituent. IX Oils of *Ocimum tenuiflorum* and *Ocimum basilicum* from Thailand. *Flavour Ind* 1972;3:47-52.
9. Lemos TLC, Matos TJA, Alenca JW, Craveiro AA, Clark AM, Chesney JD. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. *Phytother Res* 1990;4:82-4.
10. Orafidiva LO. The effect of autoxidation of Lemongrass oil on its antibacterial activity. *Phytother Res* 1986;7:269-73.
11. Onawunmi GO, Yisak WA, Ogunlana EO. A study of the antibacterial activity. *Phytother Res* 1986;7:269-11.

Recibido: 6 de febrero del 2001. Aprobado: 26 de febrero del 2001.
Lic. *Lizet Hernández Díaz*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ave. 26 No. 1605 e/ Boyeros y Puentes Grandes, Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana.