

EFFECTO DE EXTRACTOS DE *ACHIRANTES ASPERA* SOBRE *E. COLI* UROPATÓGENA

Dr. Guillermo Barreto Argilagos; Dra. Karely Alonso; Dra. Mileydis Estévez Cuadrado; Lic. Omitza Jiménez Espiñeira

Universidad Ignacio Agramonte. Camagüey, Cuba.

RESUMEN

El trabajo evalúa la acción de tinturas (30% y 80%) y decocción de *A. aspera* sobre la viabilidad y expresión fenotípica de la fimbria P en una cepa de *E. coli* aislada de un caso de pielonefritis. Mediante el método de dobles diluciones se comprobó una acción bactericida de los extractos no dependiente del alcohol. La decocción no afectó la sensibilidad de *E. coli*. Tanto las tinturas como la decocción provocaron la inhibición fenotípica "in vitro" de la fimbria P.

DeCS: MEDICAMENTOS HERBARIOS CHINOS; INFECCIONES POR ESCHERICHIA COLI.

ABSTRACT

This work assesses the action of tinctures (30% and 80%) and decoction of *A. aspera* on the viability and phenotypic expression of the fimbria P. in a smear of *E. coli* isolated of a pielonephritis case. Through the method of double dilutions it was proved a bactericide action of the extracts, non depending on alcohol. Decoction did not affect the sensibility of *E. coli*. Both, either tinctures or decoction caused the phenotypic inhibition "in vitro" of the fimbria P.

DeCS: CHINESE HERBAL; ESCHERICHIA COLI INFECTIONS.

INTRODUCCIÓN

E. coli constituye el patógeno oportunista más frecuente en las infecciones del tracto urinario (ITU) (1,2,3). La adherencia de *E. coli* a las células uroepiteliales constituyen el evento más importante en la patogénesis de la ITU (4). La adhesión al uroepitelio protege a las bacterias del lavado urinario incrementando así su capacidad de multiplicación a los tejidos renales (2). Las fimbrias P predominan en las cepas causantes de infecciones del tracto urinario superior en niños y adultos (1,3). Se han efectuado algunas experiencias con el objetivo de inhibir la expresión de ésta mediante el empleo de concentraciones subletales de antibióticos (5,6) y extractos de *Lepidium virginicum* (7).

En los últimos años se ha producido un verdadero renacimiento de la denominada medicina natural. Las plantas constituyen una de sus líneas fundamentales. Una de las plantas más utilizadas en diversas latitudes para las afecciones renales es *A aspera* (8). El presente trabajo evalúa la acción de extractos de esta planta sobre la viabilidad de *E. Coli* uropatógena y la expresión fenotípica de la fimbria P.

METODOS

Cepa: Se utilizó una cepa de *E Coli* aislada de un paciente adulto afectado de pielonefritis.

Se designó como RH. Se trata de una cepa hemolítica (hly) y con presencia de fimbria P, aspecto establecido previamente mediante hemoaglutinación manosa-resistente (HAMR).

Hasta el momento de su utilización se conservó en caldo Müller-Hinton (OXOID, Gran Bretaña con glicerina al 30% y a una temperatura de - 20° C.

Medios de cultivo: En todas las experiencias se utilizaron dos medios de cultivo: agar Müller-Hinton y caldo Müller-Hinton, ambos de la firma OXOID (Gran Bretaña). En los casos que se suplementaron con los extractos evaluados, los mismos se prepararon con un 50% y un 75% del agua requerida al momento de esterilizarse. Luego de efectuada ésta, se completó el volumen faltante con decocción y tinturas, respectivamente.

Extractos: En todos los casos se utilizó la planta completa, seca y molida. El material vegetal se secó primero al aire (5 días) y luego en estufa con circulación de aire a 40 °C (3 días).

La decocción se prepara hirviendo el material vegetal en agua durante 10 minutos. Las tinturas se obtuvieron por percolación (10). En todos los casos se preparó el material vegetal por filtración, restituyéndose el volumen inicial con el solvente correspondiente.

Las principales características de los extractos utilizados se recogen en el siguiente cuadro:

Características de los extractos estudiados

Forma de extracción	Material vegetal (g)	Solvente (mL)
Percolación con mezcla hidroalcohólica (30%)	100	100
Percolación con mezcla hidroalcohólica (80%)	100	100
Decocción	10	100

Efecto de los extractos sobre la viabilidad de *E. coli* uropatógena:

Se estableció mediante dos técnicas.

a) Por difusión en agar Müeller-Hinton, mediante la utilización de discos de papel de filtro Whatman 3 impregnados en 20 µL del extracto correspondiente. El procedimiento seguido fue el sugerido para antibiogramas convencionales (11). Se realizaron 10 réplicas.

b) Mediante el método de dobles diluciones (12) Para una mayor confiabilidad, luego de 18 horas de incubación a 37 °C, de cada dilución se efectuó una siembra en agar Mac Conkey. La experiencia contó con 10 réplicas.

Efecto de los extractos de *A aspera* sobre la expresión fenotípica de la fimbria P:

Se realizó acorde a lo sugerido para extractos de plantas (13). La presencia de la fimbria, luego del tratamiento correspondiente, se estableció mediante HAMR (9) con hematíes humanos A. Se efectuaron 10 réplicas de cada ensayo.

Análisis estadístico.

En los casos en que se entendió pertinente se aplicó el análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cepa utilizada en el presente trabajo reunía las características más frecuentes en *E. Coli* responsable de pielonefritis: provoca hemólisis total en agar sangre del carnero y brinda HAMR frente a hematíes humanos A (1-3,9).

La acción de los extractos evaluados sobre la viabilidad de *E. coli* resultó variable y no coincidente en las dos técnicas utilizadas. De acuerdo al método de difusión en gel de agar, el pobre efecto bactericida de una de las tinturas (80%) está influenciado en cierta medida, por el alcohol (Tabla 1). Según esta técnica, los restantes extractos no afectan en lo absoluto la viabilidad de la cepa estudiada.

Tabla 1. Efecto de los extractos sobre la viabilidad (método de difusión).

Extractos	X (0 en mm)
Tintura (30% etanol)	0.0 ^a
Tintura (80% etanol)	10.9 ^{cd}
Decocción	0.0 ^a
Controles	
Mezcla hidroalcohólica (30%)	0.0 ^a
Mezcla hidroalcohólica (80%)	8.3 ^{bc}
ES □ 0.86	P<0.05

Sin embargo, de acuerdo al método de dobles diluciones, las dos tinturas ejercen una acción bactericida en las dos primeras dobles diluciones que no está influida por la presencia del alcohol (Tabla 2). Esta aparente contradicción se ha constatado en experiencias realizadas con extractos de *L. virginicum* L. (17). Al parecer, los grupos

funcionales (o grupo funcional) que afectan la viabilidad bacteriana no difunden (o lo hacen con gran dificultad) en el gel de agar. Se trata de un efecto al que no escapan algunos antibióticos, como es el caso de las polimixinas (14).

Tabla 2. Efecto de los extractos sobre la viabilidad (método de dobles diluciones).

Extractos	Diluciones			
	1/2	1/4	1/8	1/16
Tintura (30%)	-	-	+	+
Tintura (80%)	-	-	+	+
Decocción	+	+	+	+
Controles				
Mezcla hidroalcohólica (30%)	+	+	+	+
Mezcla hidroalcohólica (80%)	+	+	+	+

Leyenda: +: Crecimiento bacteriano

-: Ausencia de crecimiento

La decocción no mostró acción sobre la viabilidad bacteriana en ninguno de los métodos ensayados. Ello puede ser consecuencia de que los grupos funcionales (o grupo funcional) responsables de esta actividad sean termolábiles o insolubles en agua. Los resultados reportados en la literatura consultada también son variados.

A los extractos realizados con hexano a partir de hojas secas y semillas se les atribuye una débil acción bactericida (15), en tanto que a los extractos clorofórmicos de semilla se les atribuye una mayor actividad bactericida frente a *E. coli* (16). Resultan coincidentes, no obstante, en cuanto a que las decocciones de raíz (8,17) y el jugo de la planta entera se le atribuyen propiedades diuréticas.

Los tres extractos mostraron un efecto inhibitorio en la expresión fenotípica de la Fimbria P (Tabla 3). Se trata de un factor de colonización con una gran estabilidad y que se expresa en diversos medios de cultivo de uso convencional para el diagnóstico de *E. coli* (18). Un efecto inhibitorio semejante se ha obtenido frente a extractos de *L. virginicum* L. (7). También se ha inhibido la expresión fenotípica de los factores F4 y F5 de *E. coli* enterotoxigénicas mediante contactos sucesivos con extractos de corteza de *Eucalyptus* (13, 19).

Tabla 3. Acción inhibitoria sobre la fimbria P.

Extracto	HAMR
Tintura (30%)	-
Tintura (80%)	-
Decocción	-
Control	+

Leyenda: HAMR: Hemoaglutinación manosa-resistente

-: Ausencia de fimbria P

+: Presencia de fimbria P

El resultado inhibitorio de estos extractos sobre la expresión fimbrial de P, unido a la acción diurética ya reportada (8, 16, 17) constituyen los elementos de interés para la eliminación de *E. coli* en ITU, fundamentalmente en casos de pielonefritis.

El presente trabajo, por limitaciones de tiempo abordó el comportamiento de la planta completa en los ensayos efectuados. La repetición de éstos utilizando la planta por partes, contribuirá a una mejor comprensión de su acción sobre esta entidad bacteriana tan común en los casos de ITU.

CONCLUSIONES

1. La técnica de dobles diluciones resulta más adecuada que la difusión en gel de agar para evaluar el efecto bactericida de extractos de *A. aspera*.
2. Las tinturas de *A. aspera* en mezclas hidroalcohólicas (30% y 80%) mostraron un efecto bactericida sobre *E. coli* no influido por el alcohol. La decocción no afectó su viabilidad.
3. Los tres extractos investigados inhiben la expresión fenotípica de la fimbria P. Esta propiedad, asociada a la acción diurética de la planta, contribuye a la eliminación de *E. coli* de los ITU. Fundamentalmente en los casos de pielonefritis, en los que la fimbria P constituye el principal factor de colonización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Orskov I, Orskov F. *E. coli* in extra-intestinal infections. J. Hyg. Camb 1985; 95: 151-575.
2. Orskov F, Orskov IE. *E. coli* serotyping and disease in man and animals. Can. J. Microbiol 1992; 38: 699-704.
3. Blanco J, Alonso MP, González EA. Mecanismos de patogénesis de *E. coli* causantes de infecciones extraintestinales. Enf. Infec. Y Microbiol 1991; Clín. 9: 640-651.
4. Korhonen TK, Virkola R, Westerlung B, Tarkkanen AM, Lahteenmakl K, T. Sareneva T, Parkkinen J, Kwisela P, Holtthofer H. Tissue interaction of *E. coli* adhesions. Anthonie van Laeuwenhoek. 1988; 54: 411-420.
5. Padilla C, Vázquez M, Faúndez O. Effects of minimum inhibitory concentrations of the three antimicrobians on the growth cells and fimbriation of uropathogenic *E. coli*. Rev. Lat-amer. Microbiol. 33: 705-108, 1991.
6. Barreto G, Alonso K, Estévez M, Jiménez O, S. Díaz, M.E. Loret de Mola y G. Pardo: *E. Coli* uropatógenas. Revista de Ciencias Médicas Camagüey.
7. Barreto, G., K. Alonso, M. Estévez, O. Jiménez, Díaz S, Pardo G y Herrera R. Efecto de extractos de *L. Virginicum L.* sobre *E. coli* uropatógena. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, 1996
8. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Ed. Ciencia y Técnica; 1974:670
9. Blanco J, Blanco M, Alonso MP, Garabal JJ, Blanco JE, y González EA. Factores de virulencia de los *E. coli* causantes de infecciones extraintestinales. Universidad de Santiago de Compostela. Galicia: Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico; 1992: 11-50.
10. Norma Ramal de Salud Pública 311: Extractos fluidos y tinturas. Tinturas por percolación, La Habana: Cuba, 1991.
11. Bio-Merieux Bacteriología Productos y reactivos para laboratorio. Lyon, Francia: 1989:63-9.
12. Barreto G, Ramos O, Lezcano Y, Velázquez B, Moreno M, Pardo G. Efecto bactericida o bacteriostático de un medicamento a base de eucalipto. Revista de Producción Animal 1993; 7(1y2): 9-71.
13. Barreto G, Ramos O, Lezcano Y, Velázquez B, Moreno M, Pardo G. Efecto de un medicamento a base de eucalipto (Eucabev) sobre la producción de los factores

- de colonización F4 y F5 de *E. coli* enterotoxigénica. Revista de Producción Animal 1993;7 (1 y 2): 73-76.
14. Jawetz, E., J. L. Melniok y G. A. Adelberg: Manual de Microbiología Medicina 1ra. Edición cubana. P 130 Editorial Pueblo y Educación, La Habana, 1985.
 15. Ikram M, Haq I. Screening of medicinal plants for antimicrobial activity, Part I. Fitoterapia 1988; 51: 231-235.
 16. Samielsen G, Ferah M, Claeson P, Hagos M, Thulin M, Hedberg O, Worfa A, Hassan A, Elmi A, Adburahman A, Abdi YM. Alim: Inventory of plants used in traditional medicine in Somalia. I. Plants of the families *Acantaceae-chenopodiaceae*. Jr Ethnopharmacology 1991; 35: 25-63.
 17. Kerharo J, Adam JG. La pharmacopée série galaisi traditionelli. Vigot Foeres, Paris, 1974.
 18. Barreto G, Espiñeira O, Prieto M, Guerra A, Guevara G. Expresión fimbrial (F4 y P) de *E. coli* en medios de cultivo convencionales. Revista de Producción Animal, 1996.
 19. Barreto G, Pazos M, Martín M, Díaz S, Pardo G, Velázquez B. Acción de extractos de *E. saligna* y *E. citriodora* sobre el factor de colonización F4. Revista de Producción Animal. 1994; 8 (3).

Recibido: 2 de septiembre de 1997

Aprobado: 16 de febrero de 1998