

Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto"

EFFECTO DE UN EXTRACTO DE *PETIVERIA ALLIACEA* LIN SOBRE EL CRECIMIENTO DE *GIARDIA LAMBLIA* IN VITRO

Lic. Aimée Echevarría¹ y Lic. Dinorah Torres Idavoy¹

RESUMEN

Se evaluó el efecto de un extracto fluido elaborado con un menstuo de *Petiveria alliacea* (anamú) sobre el crecimiento *in vitro* de *Giardia lamblia*. Para este ensayo se empleó una cepa aislada en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", procedente de un paciente infestado. Los cultivos fueron incubados a 37 °C durante 48 h y posteriormente ajustada su concentración a 2×10^5 parásitos por 0,5 mL. Los resultados obtenidos muestran un marcado efecto anti-giardiasico, por los altos porcentajes inhibitorios del crecimiento con las 5 concentraciones probadas (17,2; 4,3; 1,075; 0,54 y 0,135 mg/mL), que alcanzó el 96,81 % con la mayor concentración y el 5,03 % con la de 0,135 mg/mL. La concentración media inhibitoria resultó de 2,05 mg/mL.

DeCS: PLANTAS MEDICINALES; EXTRACTOS VEGETALES/farmacología; EXTRACTOS VEGETALES/uso terapéutico; GIARDIA/efectos de drogas; GIARDIA/crecimiento & desarrollo; GIARDIASIS/quimioterapia.

En los últimos años la medicina tradicional y popular ha retomado un lugar cimerio en las investigaciones científicas, debido a la falta de fármacos y la necesidad de nuevos medicamentos, sobre todo en los países del Tercer Mundo; pero el empleo de los medicamentos obtenidos de estas fuentes requiere investigaciones científicas obligatorias apoyadas en los conocimientos empíricos que la población tiene al respecto.

La *Petiveria alliacea* Linn (P.a.) vernaculamente llamada anamú, es una plan-

ta de la familia *Fitolacáceas* que crece de forma abundante en las islas que forman las Antillas, incluyendo a Cuba, el norte de México, América Continental Tropical y la Península de La Florida, en Estados Unidos.¹

En el país fue el doctor *Ernesto Ledón Ramos*, célebre químico cubano, el científico que dio inicio al estudio del anamú como fuente de medicamento, específicamente como anticanceroso (1975). El doctor *Sergio Santana Sánchez*, médico cubano, realizó estudios clínicos de la P.a.

¹ Licenciada en Bioquímica.

en pacientes con leucemia (The Tropical Medical Herbs. Foundation of America Inc.). Valdés Gutiérrez R. en su trabajo de tesis (13032. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana, 1989), se refiere al efecto de extractos de P.a. en el hipotálamo de animales de experimentación. Estévez² evaluó el efecto antitumoral de cocimiento de hojas de anamú en animales con resultados negativos como citostáticos, ensayado en leucemia y adenocarcinoma de mama. Iglesias y otros en el Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana aislaron, caracterizaron y realizaron los estudios farmacológicos del principio hipoglicemiante de P.a. (Iglesias Lores R. Estudios farmacológicos del principio hipoglicemiante de *Petiveria alliacea*. Primera Jornada Nacional de Medicina Tradicional. Ministerio de Salud Pública. La Habana 1991. Moisés Danguillecourt T. Estudios toxicológicos del principio hipoglicemiante de la *Petiveria alliacea*. Tercer Taller Nacional de Plantas Medicinales, Bayamo, Cuba, 1990.) Furonos y otros estudiaron el efecto antiinflamatorio de un extracto acuoso de hojas de P.a. (Efecto antiinflamatorio del extracto acuoso de hojas de *Petiveria alliacea*. Tercer Taller Nacional de Plantas Medicinales, Bayamo, Cuba, 1990) y *Ontivares N.* y *Medina JO* aislaron a partir de fracciones acuosas un principio con actividad antiinflamatoria (Aislamiento de una fracción con actividad antiinflamatoria de *Petiveria alliacea*. V Congreso de la Sociedad Cubana de Ciencias Farmacéuticas. La Habana, 1993).

La *Giardia lamblia* es el protozoo parásito del intestino delgado más comúnmente informado en los exámenes de heces humanas sobre todo en niños y constituye una importante causa de trastornos gastrointestinales, tanto en países desarrollados como subdesarrollados.³

En la actualidad las 4 drogas más usadas para el tratamiento de esta parasitosis son la quinacrina, el metronidazol, tinidazol y la furazolidone. Estas no son siempre totalmente eficaces y con frecuencia producen efectos colaterales indeseables, dentro de los cuales se ha sugerido que puedan ser carcinogénicas o mutagénicas.⁴ Por lo tanto, las investigaciones relacionadas con la búsqueda de drogas efectivas en dicho tratamiento son de gran interés en el país.^{5,6}

El presente trabajo tiene como objetivo determinar el efecto de un extracto fluido de anamú sobre el cultivo *in vitro* de *Giardia lamblia*.

MÉTODOS

Se utilizaron hojas de anamú, colectadas en octubre y secadas a la sombra en la estación de Plantas Medicinales de Alquizar. Para su uso las hojas fueron fragmentadas.

Se elaboró un extracto fluido con menstruo etanol/agua al 30 % preparado según el método de repercolación con 4 extracciones descrito en la Norma Ramal de Salud Pública, Cuba 311,⁷ al que se le realizó la determinación de sólidos totales⁸ para un valor de 17,2 g/100 mL.

A partir del extracto original se añadió 500, 125, 31, 16, 4 µL de este a 5 mL de medio TYI-S-33 para obtener concentraciones finales de 17,2; 4,3; 1,075; 0,54 y 0,135 mg/mL.

La cepa C 16 empleada fue aislada⁹ en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" en 1990 procedente de un paciente con una infestación por *Giardia lamblia*. La cepa fue mantenida en tubo de vidrio de 12 mL que contenía 5 mL de medio TYI-S-33¹⁰ suplementado con bilis¹¹ hasta la formación de una monocapa.

Como control positivo se usó una solución de tinidazol (6 mg/mL), de la cual se tomó 20 µL para 5 mL de medio TYI-S-33, con una concentración final en 6 µg/mL.

Para este ensayo se preparó un cultivo control al que se añadió 500 µL de etanol al 30 % (empleado en la preparación del extracto) a 5 µL de medio TYI-S-33.

Ensayo de inhibición de crecimiento.

Para esta investigación se colectaron los parásitos en fase logarítmica de crecimiento de un cultivo incubado a 37 °C durante 48 h, se colocaron los tubos en baño de hielo durante 10 min, posteriormente se ajustó la concentración de parásitos a 2×10^5 / 0,5 mL por conteo mediante el verificado en una cámara de Neubauer.

A cada tubo que contenía 5 mL del medio de cultivo y la concentración específica del extracto en el caso de las muestras y de tinidazol y etanol en el caso de los controles, se le añadieron 0,5 mL de la suspensión de parásitos (tabla 1).

Los cultivos fueron incubados durante 48 h a 37 °C. Pasado este tiempo las suspensiones conservadas en hielo fueron centrifugadas a 300 g durante 10 min, y posteriormente se determinó el número de parásitos mediante conteo en una cámara de Neubauer.

Cada experimento fue realizado por triplicado y el porcentaje de inhibición del crecimiento se expresó según la fórmula de Crouch y otros, 1986.¹²

$$\text{Porcentaje de inhibición del crecimiento} = 100 - \left(\frac{\# \text{ parásito en cultivo tratado}}{\# \text{ parásito en cultivo no tratado}} \right) \times 100$$

RESULTADOS

Los resultados (tabla 2) muestran que el extracto fluido de *Petiveria alliacea* Lin tiene un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Giardia lamblia in vitro*.

En la figura se puede observar que el porcentaje de inhibición del crecimiento varía en dependencia de la concentración utilizada. La concentración media inhibitoria calculada dio un valor de $2,0548337 \pm 0,13$, con un coeficiente de variación de 6,5.

Estos resultados preliminares permiten pensar en la presencia de un principio activo con efecto inhibitorio marcado sobre el crecimiento de *Giardia lamblia* en el extracto fluido de *Petiveria alliacea*, aunque se supone se encuentre a bajas concentraciones.

TABLA 1. Esquema para la evaluación del efecto inhibitorio del extracto sobre *Giardia lamblia*

Muestra por triplicado	Medio TYI-S-33 (mL)	Extracto de anamú (µL)	Tinidazol 6 µL	Etanol (µL)	Parásitos* (mL)
1	5	500	-	-	0,5
2	5	125	-	-	0,5
3	5	31	-	-	0,5
4	5	16	-	-	0,5
5	5	4	-	-	0,5
6	5	-	20	-	0,5
7	5	-	-	500	0,5

* Concentración: 2×10^5 parásitos mL.

TABLA 2. Efecto del extracto alcohólico al 30 % de *Petiveria alliacea* en el cultivo in vitro de *Giardia lamblia*

	Extracto de Anamú (mg/mL)					Tinidazol
	17,2	4,3	1,075	0,54	0,135	
% de inh.						
Exp. 1	95,64	61,79	37,95	19,49	5,03	95,90
% de inh.						
Exp. 2	97,98	60,20	37,80	17,88	5,04	97,73
Media	96,81	60,99	37,87	18,68	5,03	96,81
DE	1,65	1,12	0,11	1,14	0,01	1,29

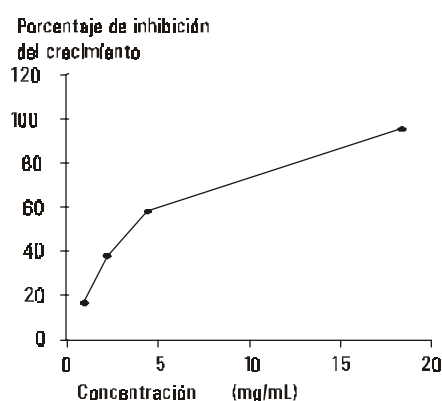


FIG. Efecto del extracto de *Petiveria alliacea* Lin sobre el cultivo in vitro de *Giardia lamblia*.

DISCUSIÓN

Como ya se ha dicho, muchos son los medicamentos que se han empleado en el tratamiento de esta parasitosis, entre los

cuales se destacan los derivados imidazólicos como el metronidazol, el tinidazol, el ornidazol y el nimorazol.

Dichos medicamentos no siempre resultan efectivos y producen efectos no deseados; además, los progresos en el estudio axénico de *Giardia lamblia*^{10,11,13} han permitido desarrollar métodos para la evaluación *in vitro* de medicamentos,¹⁴⁻¹⁶ lo que posibilita la valoración de nuevos productos como lo es el extracto fluido de *Petiveria alliacea* Linn que atrae la atención en dicho trabajo. Puede afirmarse teniendo en cuenta los resultados obtenidos que dicho extracto muestra un marcado efecto anti*giardiásico* porque así lo indican los altos porcentajes inhibitorios del crecimiento con una exposición a la droga de solo 48 h.

Otro aspecto importante se debe destacar que el o los componentes con la actividad anti*giardiásica* en el producto no han sido identificados, asunto que resultaría de interés para trabajo futuros.

SUMMARY

The effect of a fluid extract made with a menstruum of *Petiveria alliacea* (anamú) on the growth of *Giardia lamblia* *in vitro* was evaluated. A strain isolated from an infected patient at "Pedro Kouri" Institute of Tropical Medicine was used in this trial. The cultures were incubated at 37 °C during 48 hours and later their concentrations of 2×10^5 parasites per 0.5 mL were adjusted. The results obtained showed a marked anti*giardiasis* effect due to the high inhibitory percentages of growth with the 5 tested concentrations (17.2; 4.3; 1.075; 0.54 and 0.135 mg/mL). An effect of 96.81 % was attained with the highest concentration and of 5.03 % with the concentration of 0.135 mg/mL. The mean inhibitory concentration was 2.05 mg/mL.

Subject headings: PLANTS, MEDICINAL; PLANT EXTRACTS/pharmacology; PLANT EXTRACTS/therapeutic use; GIARDIA/drug effects; GIARDIA/growth & development; GIARDIASIS/drug therapy.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Roig Mesa JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Ciencia y Técnica, 1974:159-61.
2. Estevez A, Polanco N, Marquina G, Contreras D, Vergara A. Efecto antitumoral de cocimiento de hojas de *Petiveria alliacea* en animales. Rev Cubana Farm 1976;10(1):81-4.
3. Knight R. Epidemiology and transmission of giardiasis. Trans R Soc Trop Med Hyg 1980;74:433.
4. Wolfe MS. Giardia and giardiasis. New York: Plenum, 1984:147-59.
5. Torres D, Pérez N, Bosst M, Menidola J, Hernández H. Sensibilidad de *Giardia lamblia* a extractos de *Artemisia absinthium* y *Artemisia vulgaris in vitro*. Rev Cubana Med Trop 1993;45(3):170-2.
6. Torres D, Holland I, Palacio E. Efecto de un extracto alcohólico de propóleos sobre el crecimiento de *Giardia lamblia in vitro*. Rev Cubana Cienc Vet 1990;21:15-21.
7. NRSP 311. Normas Ramales de Salud Pública, Cuba. Medicamentos de origen vegetal. Extractos y tinturas. Procesos tecnológicos, 1992, pág. 1-13.
8. NRSP 312. Normas Ramales de Salud Pública. Cuba. Medicamento de origen vegetal. Extractos y tinturas. Métodos de ensayo, 1992, pág. 14-24.
9. Torres D, Núñez F, Finlay C. Aislamiento y axenización de *Giardia lamblia* en niños procedentes de círculos infantiles de Ciudad de La Habana. Rev Cubana Invest Biomed 1996;15(2):123-6.
10. Diamond LS, Harlow S, Cunnick CC. A new medium for the axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* and other Entamoeba. Trans R Soc Trop Med Hyg 1978;72:431.
11. Keister DB. Axenic culture of *Giardia lamblia* in TYI-S-33 medium supplemented with bile. Trans R Soc Trop Med Hyg 1983;77:487.
12. Crouch AA, Seow WK, Thong HY. Effect of twenty-three chemotherapeutic agents on the adherence and growth of *Giardia lamblia in vitro*. Trans R Soc Trop Med Hyg 1986;80:893.
13. Visversvara GS. Axenic growth of *Giardia lamblia* in Diamond's TPS-1 medium. Trans R Soc Trop Med Hyg 1980;74:213.
14. Jokipii L, Jokipii AM. *In vitro* susceptibility of *Giardia lamblia* trophozoites to metronidazole and tinidazole. J Infect Dis 1980;141:317.
15. Gilling FD, Diamond LS. Inhibition of clonal growth of *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* by metronidazole, quinacrina and other antimicrobial agents. J Antimicrob Chemother 1981;8:305.
16. Boreham PFL, Phillips RE, Sheppherd BW. The sensitivity of *Giardia intestinalis* to drugs *in vitro*. J Antimicrob Chemother 1984;14:449.

Recibido: 15 de febrero del 2001. Aprobado: 19 de marzo del 2001.

Lic. *Aimée Echevarría*. Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto". Avenida Monumental, Habana del Este, CP 11700, Ciudad de La Habana, Cuba.