

Evaluación de la actividad antimicrobiana "in vitro" de Ficus religiosa

Evaluation of the "in vitro" antimicrobial activity of the Ficus religiosa

AUTORES

Ms C. Enma Guevara Pérez (1)
Lic. Lázara González Landorán (2)
E-mail: lazaragonzalez.mtz@infomed.sld.cu
Dra. Tamara Cabrera Dorta (3)
Dr. Rolando Medina Domínguez (4)
Tec. Raisa González Giralde (5)

(1) MsC. en Microbiología Clínica. Profesora Asistente. Facultad de Ciencias Médicas. Matanzas.

(2) Licenciada en Cibernética. Profesora Asistente. Facultad de Ciencias Médicas. Matanzas.

(3) Especialista de I Grado en Fisiología Normal y Patológica. Profesora Asistente. Facultad de Ciencias Médicas. Matanzas.

(4) Especialista de I Grado en Pediatría. Profesor Instructor. Hospital Pediátrico "Eliseo Noel Caamaño". Matanzas.

(5) Alumna de tercer año en Tecnología de la Salud. Filial Tecnológica "27 de Noviembre". Matanzas.

RESUMEN

Entre las tendencias actuales más generalizadas en el estudio y la utilización de las plantas medicinales se encuentran los esfuerzos que se realizan en la búsqueda de fitocomplejos que proporcionen nuevas sustancias bioactivas con efectividad antimicrobiana. La planta seleccionada para este estudio Ficus religiosa pertenece a la familia Moraceae y es conocida comúnmente como álamo. Se determinó el efecto antimicrobiano de la planta que crece en Cuba donde se conocen efectos atribuidos, pero no comprobados ni referidos en la bibliografía facultada para orientar su uso a la población. La evaluación se realizó en el extracto fluido con un 3 % de sólidos totales obtenido de las semillas mediante percolación, utilizando como menstruo alcohol al 30 % y mediante los métodos de difusión en agar y dilución en medio líquido se enfrenta el mencionado extracto a 16 microorganismos que incluyen bacterias, levadura y hongos filamentosos. Se demuestra efecto bacteriostático del extracto en la máxima concentración para Bacillus subtilis y ausencia de efectividad para los restantes microorganismos probados. Con estos resultados no se aconseja el uso preferentemente de las semillas de esta planta como antimicrobiano si se tiene en cuenta que existen numerosas especies en el país que crecen abundantemente y tienen mejor efectividad como tal.

DeCS:

FICUS RELIGIOSA/farmacología

FICUS RELIGIOSA/análisis

FICUS RELIGIOSA/uso terapéutico

PLANTAS MEDICINALES/microbiología

FITOTERAPIA

HUMANOS

INTRODUCCIÓN

En Cuba existe una abundante y variada flora con un elevado número de especies, algunas con usos populares que poseen gran arraigo y no están sustentadas por estudios que avalen sus propiedades farmacológicas. *Ficus religiosa* es una de esas plantas, pertenece a la familia Moraceae y se conoce comúnmente como álamo. La población la usa como antialopécico y en afecciones de la piel, (1) sin embargo, no existen informes que lo demuestren experimentalmente en las bases de datos FITOMED, MEDNA y CUMED, ni se orienta a la población en la bibliografía facultada para su uso (2,3). Se conocen reportes de efectos antibacterianos y antitumorales probados en Finlandia (4) y aparecen medicamentos registrados para usos cicatrizantes, antiinflamatorios, para el tratamiento de los tumores, como antisoriásico, para la dermatitis y antimicótico (5). De las señaladas propiedades se propone comprobar la efectividad antimicrobiana de *Ficus religiosa* que crece en nuestro país con el fin de completar en parte su estudio farmacológico y contribuir a la búsqueda de sustancias bioactivas que respondan a la problemática existente con respecto a la resistencia a los antimicrobianos (6). Se emplearon los métodos de difusión en agar y dilución en medio líquido, enfrentando el extracto fluido obtenido de las semillas de este vegetal a 16 microorganismos que incluyen bacterias, levadura y hongos filamentosos.

MÉTODO

Extracto vegetal estudiado: La planta evaluada se seleccionó entre las especies presentes en la biodiversidad vegetal silvestre y cultivada de la provincia de Matanzas, la identificación taxonómica fue realizada por la MSc. Amalia Enriquez, y la muestra se conserva en la colección del herbario del Jardín Botánico de la Universidad "Camilo Cienfuegos". El material vegetal se colectó en el mes de mayo del año 2003, en las áreas aledañas a la carretera del central "Cuba Libre", de Pedro Betancourt. El secado se realizó en estufa hasta la obtención de valores constantes y para el ensayo se utilizó extracto fluido al 30 % obtenido de las semillas mediante el método de percolación. Los diferentes procedimientos y análisis de especificaciones de calidad se siguieron de acuerdo al estándar nacional establecido para extractos vegetales: NRSP 310, 311 y 312. La elaboración del extracto, caracterización y las determinaciones del estudio fitoquímico fueron realizados por la Lic. María E. Oliva en el Laboratorio de Investigación y Producción de Medicina Natural del territorio y el extracto se conservó en frasco ámbar y a temperatura ambiente hasta su uso.

Microorganismos de ensayo: Cepas de referencia internacional procedentes de la American Type of Culture Collection (ATCC) y cepas de origen clínico identificadas en el laboratorio de Micología del Hospital "Calixto García" de Ciudad de La Habana.

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 13565
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC14028
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 10278
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 13315
<i>Candida albicans</i>	origen clínico
<i>Trichophyton rubrum</i>	origen clínico
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	origen clínico
<i>Microsporum canis</i>	origen clínico
<i>Microsporum gypseum</i>	origen clínico
<i>Aspergillus niger</i>	origen clínico
<i>Aspergillus flavus</i>	origen clínico

Medios de cultivo empleados:

Caldo Mueller-Hinton, Agar Mueller-Hinton y Agar Nutriente para las bacterias.

Caldo Sabouraud y Agar Sabouraud–glucosa para los hongos.

Preparados según las instrucciones del Centro Nacional de Biopreparados (7).

Concentraciones probadas: 30,0; 15,0; 7,5; 3,8; 1,9; 0,9; 0,5; 0,2; 0,1 y 0,06mg/mL

Controles: alcohol al 30 % (menstruo empleado para la obtención del extracto) y como

antimicrobianos (8): Estreptomina 10mg/mL (para las bacterias), Nistatina 4mg/mL

(levadura) y Ketoconazol 10mg/mL (hongos filamentosos).

Metodología empleada para la determinación de la actividad antimicrobiana: Se utilizaron los métodos de difusión en agar y de dilución en medio líquido teniendo en cuenta la diversidad de criterios y técnicas empleadas en la investigación de plantas medicinales (9). Mediante el método de difusión los medios de cultivo fundidos y mantenidos a 48°C se inocularon obteniendo una concentración celular de 9×10^6 UFC/mL, después de solidificar y perforar, se pipetearon 100 mL de las diferentes concentraciones del extracto y los controles en los pocillos. Las bacterias y levadura se incubaron durante 24 horas a 37°C y los hongos filamentosos a 25°C durante 7 días, observando en estos últimos diariamente la aparición de colonias. La lectura se realizó atendiendo la presencia del halo de inhibición del crecimiento microbiano producido alrededor de los pocillos como evidencia del efecto producido (+) y la ausencia de halo se consideró un resultado negativo (-). Se realizaron un total de 30 réplicas.

Para determinar CMI y CMB se enfrentaron las diferentes concentraciones del extracto a la cepa inhibida empleando el método de diluciones dobles seriadas en caldo con pases a medio agarizado (10). Todos los tubos se incubaron a 37°C durante 24 horas con agitación a las 18 horas de realizado el experimento. Se realizó la lectura visual de la inhibición del crecimiento microbiano y desde estos tubos se transfirieron alícuotas al medio agarizado libre de extracto para valorar el efecto y menor concentración del extracto que impidió la aparición de colonias. No se determinó CMF por no resultar inhibidos por el extracto ninguno de los hongos probados.

- Análisis estadístico: Se realizó un análisis descriptivo de las variables estudiadas calculando CMI, CMB y por ciento de efectividad del extracto.

RESULTADOS

En el extracto evaluado se demostró actividad inhibitoria del crecimiento bacteriano y ausencia de efectividad frente a los hongos probados. Como se observa en la Tabla de resultados, la máxima concentración y CMI del extracto (30 mg/mL) resultó la única con acción y sólo para *Bacillus subtilis*, lo que representa un 6,25 % de efectividad frente a la totalidad de las cepas ensayadas. Al determinar CMB no se observó efecto letal, sino bacteriostático para el microorganismo susceptible.

Tabla de resultados de la actividad antimicrobiana del extracto fluido de semillas de *Ficus religiosa*.

Microorganismos de prueba	Concentraciones probadas									
	(mg/mL)									
	30,0	15,0	7,5	3,8	1,9	0,9	0,5	0,2	0,1	0,06
<i>Staphylococcus aureus</i>	-									
<i>Bacillus subtilis</i>	+	-								
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-									
<i>Escherichia coli</i>	-									
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-									
<i>Shigella flexneri</i>	-									
<i>Salmonella typhimurium</i>	-									
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-									
<i>Proteus vulgaris</i>	-									
<i>Candida albicans</i>	-									
<i>Trichophyton rubrum</i>	-									
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	-									
<i>Microsporum canis</i>	-									
<i>Microsporum gypseum</i>	-									
<i>Aspergillus niger</i>	-									
<i>Aspergillus flavus</i>	-									

Leyenda:

(+) Inhibe el crecimiento microbiano. (-) No inhibe el crecimiento microbiano.

DISCUSIÓN

Con respecto a la ausencia de efecto antifúngico observada en este extracto, coincide con los resultados obtenidos por Mousa y cols. en Finlandia a partir de las frutas de *Ficus religiosa*, (4) pero no con la información de NAPRALERT que refiere productos medicamentosos registrados con efecto antimicótico obtenidos a partir de esta planta (5). De estos medicamentos no se encontraron reportes de trabajos originales que lo comprueben para someter a análisis con respecto a estos resultados, pero es importante señalar que en este estudio se incluyeron levaduras, dermatofitos y *Aspergillus* entre los hongos probados para los que se evidenció ausencia de efecto total.

Los mencionados trabajos de Mousa y cols. señalan también actividad antibacteriana en las frutas de esta planta, pero no refieren los microorganismos de ensayo sobre los que se pudiera discutir. La posible diferencia observada con respecto a la actividad bacteriostática demostrada sólo para un microorganismo en este estudio, hacen pensar que en alguna medida puede estar causada por el tipo de extracto no especificado utilizado por los autores, la procedencia y parte útil de la planta y/o la diversidad de bacterias probadas en su estudio. Los resultados evidencian efectividad del extracto como bacteriostático sólo frente a *Bacillus subtilis* en la máxima concentración. Este microorganismo resulta un agente etiológico que puede causar afecciones de la piel, pero también son causales la mayoría de los probados en este ensayo para los que se demostró ausencia de efectividad en el extracto. El débil efecto expuesto en este estudio no aconseja el uso preferentemente de las semillas de esta planta como antimicrobiano, según los usos atribuidos en Matanzas por Pomares en afecciones de la piel, (1) se debe tener en cuenta que existen numerosas especies que crecen abundantemente en Cuba y tienen mejor efectividad como tal.

Según estos resultados no se justifica la efectividad de las semillas de *Ficus religiosa* que crecen en nuestros suelos para elaborar medicamentos como los registrados para las dermatitis (5) cuando éstas sean causadas por bacterias, levaduras u hongos filamentosos como los probados en este estudio. No se discute el uso para las señaladas dermatitis de otras causas, ni otros efectos señalados que para nada tienen que ver con los objetivos de este trabajo.

En estudios de alcaloides y saponinas de otras especies del género *Ficus*, que crecen en diferentes regiones de Cuba, se demostró la ausencia de estos compuestos (11,12), sin que se mencionen presencia de otros en la bibliografía revisada que puedan estar vinculados a la acción antimicrobiana de las mismas ni de la especie en estudio.

En el análisis fitoquímico realizado al extracto (paralelamente a este estudio) se observan como componentes sólo azúcares reductores y aminoácidos de los que se desconoce que posean actividad antibacteriana. Probablemente existan otros compuestos (no determinados en el mencionado estudio) responsables de la escasa actividad inhibitoria encontrada frente al único microorganismo afectado por este extracto.

Se supone ausencia de efectos perjudiciales en *Ficus religiosa* por razones de la existencia de medicamentos registrados, pero no por la constancia de trabajos originales que así lo refieran, a pesar de la búsqueda realizada. (5)

Se sugiere continuar los estudios de actividad biológica en *Ficus religiosa*, siguiendo la ruta crítica establecida para completar la evaluación farmacológica y profundizar en estudios de toxicidad y genotoxicidad (13) en cultivos de esta especie que crece en Cuba.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pomares T. Uso de medicamentos obtenidos a partir de *Ficus religiosa* en el tratamiento de la alopecia y afecciones de la piel. Pedro Betancourt. Matanzas: Policlínico "Dr. Cesario Sánchez Gómez"; 2002.
2. Ministerio de Salud Pública. Guía Terapéutica Dispensarial de Fitofármacos y apifármacos. La Habana: MINSAP; 1992.
3. Ministerio de Salud Pública. Normas de especialidades médicas para el uso de Fitofármacos y Apifármacos. La Habana: MINSAP; 1992.
4. Mousa O. Bioactivity of certain Egyptian *Ficus* sp. Pharmacognosy Division, University of Helsinki, Finland. *J Ethnopharmacol.* 1994; 41 (1-2): 71-6.
5. NAPRALERT. Antimicrobial. USA: University of Illinois ; 2003.
6. Llop A. Resistencia a los antimicrobianos y vigilancia microbiológica en Cuba. En: Resistencia antimicrobiana en las Américas. Magnitud del problema y su contención. La Habana: Ed. OPS/HCP/HCT; 2000. p. 116-23.
7. Verpoorte R, Van Beek T A, Thomassen PHAM, Aandeweil J, Baerheim Svendsen A. Screening of antimicrobial activity of some plants belonging to the Apocynaceae and Loganiaceae. *J Ethnopharmacology.* 1983; (8): 287-302.
8. Ríos J L, Recio M C, Villar A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature. *Spain J of Ethnopharmacology.* 1988 ;(23): 127-14.
9. Baron E J, Peterson L R, Finegold SM. *Barley & Scott's Diagnostic Microbiology.* 9th Ed. USA: Mosby Editors; 1994.
10. Domínguez ME, Oquendo M, Batista M, Herrera P. Tamizaje de alcaloides y saponinas de plantas que crecen en Cuba II. Península de Guanahacabibes. Instituto de Ecología y Sistemática. Academia de Ciencias de Cuba. *Rev Cubana Enferm.* 1995;11(3)
11. Fernández de Córdoba H, Batista M, Sarduy R. Tamizaje de alcaloides y saponinas en plantas que crecen en Cuba III. Sierra del Rosario. Inst de Ecología y Sistemática. *Rev Cubana Enferm* 1995;11(3).
12. Quiñones I. Editorial Dirección de Ciencia y Tecnología MINSAP. *Rev Cubana Plantas Med.* 2002;7(3): 127-8.
13. Sánchez A, Fonseca G, Capiro N, Fernández D. Propuesta de ruta crítica para la evaluación genotóxica de plantas medicinales en Cuba. *Rev Cubana Farm.* 2000; 34(1): 34-43.

SUMMARY

Among the most common contemporary tendencies in the study and use of medicinal plants, we found the efforts made to find fitocomplexes providing new bioactive substances with antimicrobial effectiveness. The plant selected for this study, *Ficus religiosa* belongs to the Moraceae family, and is commonly known in Cuba as alamo (* Translator note : If we literally translate the word alamo, we should translate it as poplar in English, but the poplar belongs to the Salicaceae family). We determined the antimicrobial effect of this tree growing in Cuba where there are known attributed effects, that are not proved nor referred in the bibliography authorizing its use among the population. The evaluation was made in a fluid extract with a 3 % of total solids obtained from the seeds by percolation, using as menstruum alcohol at 30 % and the methods of diffusion in agar and dilution in a liquid medium. We proved the mentioned extract against 16 microorganisms, including bacteria, yeasts and filamentous fungi. It was proved the bacteriostatic effect of the maximal concentration extract against *Bacillus subtilis* and absence of effect against the rest of the proved microorganisms. As a result we do not recommend the preferential use of this plant's seeds as an antimicrobial agent, taking into account that there are many other species growing abundantly in our country and showing a better antimicrobial effect.

MeSH:

FICUS RELIGIOSA/pharmacology

FICUS RELIGIOSA/analysis

FICUS RELIGIOSA/therapeutic use

PLANTAS, MEDICINALS/microbiology

PHYTOTHERAPY

HUMAN

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

Guevara E, González L. Oliva ME, Cabrera Dorta T, Medina R, González R. Evaluación de la actividad antimicrobiana "in vitro" del *Ficus religiosa*. Rev méd electrón[Seriada en línea] 2008; 30(1). Disponible en [URL: http://www.cpimtz.sld.cu/revista%20medica/ano%202008/vol1%202008/tema05.htm](http://www.cpimtz.sld.cu/revista%20medica/ano%202008/vol1%202008/tema05.htm)[consulta: fecha de acceso]