

Determinación *in vitro* del efecto antibacteriano de un extracto obtenido de quebracho colorado, *Schinopsis lorentzii*

PROSDÓCIMO, F.¹; BATALLÉ, M.¹; SOSA, N.¹; DE FRANCESCHI, M.¹; BARRIOS, H.¹

Resumen

Últimamente se incrementó la búsqueda de promotores de crecimiento naturales en reemplazo de antibióticos, restringidos por normativas internacionales. Se determinó la actividad inhibitoria *in vitro* de un extracto de quebracho colorado (*Schinopsis lorentzii*) compuesto por polifenoles con catequinas sobre algunas bacterias patógenas comparándolo con Bacitracina Metileno Disalicilato al 11 %. Del primero se utilizaron dosis de 500 ppm hasta 0,05 ppm en diluciones crecientes. La Bacitracina fue utilizada de 330 ppm hasta 0,03 ppm. Se aplicó el método de difusión en agar modificado por Vignolo *et al* sobre *Salmonella Gallinarum* biotipo *gallinarum*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus aureus*. Tanto el Extracto como la Bacitracina actuaron contra bacterias Gram positivas como Gram negativas en diversas concentraciones. Estos datos permiten suponer que los polifenoles con catequinas pueden transformarse en una herramienta para sustituir los antibióticos promotores de crecimiento, proveyendo un producto de origen natural inocuo para la salud humana.

Palabras clave: (extracto vegetal), (*Schinopsis lorentzii*), (acción antibacteriana), (promotor de crecimiento)

¹ Universidad Nacional de Luján. Departamentos de Tecnología y de Ciencias Básicas. Av. Constitución y Ruta 5. (6700). Luján. Buenos Aires. mdf@unlu.edu.ar

Recibido: 2-11-2010 - Aceptado: 13-01-2011

Summary

Lately, the search for natural growth promoters to replace antibiotics, restricted by international regulations, has increased. The *in vitro* inhibitory activity of a red quebracho extract (*Schinopsis lorentzii*) composed of polyphenols over some pathogenic bacteria was determined, comparing it to Bacitracin Methylene Disalicylate at 11 %. Of the first one, doses of 500 ppm up to 0,05 ppm in increasing dilutions were tested. The Bacitracin was used of 330 ppm up to 0,03 ppm. The method of diffusion in agar, modified by Vignolo *et al*, was applied on *Salmonella gallinarum*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* and *Staphylococcus aureus*. The extract, as well as the Bacitracin, acted against Gram negative and Gram positive bacteria in various concentrations. These data lead us to suppose that polyphenols may become a tool to substitute antibiotic growth promoters, providing a natural product, safe for human health.

Key words: (plant extract), (*Schinopsis lorentzii*), (antibacterial action), (growth promoter).

Introducción

En los últimos años se ha incrementado la búsqueda de agentes naturales con acción antibacteriana ya sea como promotores de crecimiento en aves comerciales y otras especies, como así también en el control de algunos microorganismos como las salmonelas en aves de postura y clostridios en pollos para carne¹³.

El uso masivo de antibióticos en producción animal ha sido indicado como responsable de la aparición de resistencias en seres humanos como consecuencia de la acumulación de residuos en carnes y huevos. Es creciente la demanda de los diversos países, en especial de la Unión Europea, en el sentido de reemplazar antibióticos, fundamentalmente aquellos que se utilizan como agentes promotores de crecimiento. En este aspecto existen ya normativas expresas que los prohíben⁹.

En función de ello se han desarrollado agentes alternativos como probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos y extractos vegetales entre otros. Estos últimos fueron utilizados tradicionalmente con fines terapéuticos en la medicina de todas las culturas originarias, formando parte de su

farmacopea, desde los tiempos más remotos^{3,5}. Presentan una composición química que da lugar a distintos metabolitos secundarios cuyas propiedades farmacológicas pueden ser utilizadas con fines terapéuticos en humanos y animales.

Desde hace un tiempo se estudian algunos componentes vegetales, en especial derivados del orégano (*Origanum vulgare*) y del paraíso (*Melia azedarach*) para el control de agentes bacterianos y parasitarios y como estimulantes del crecimiento en producción avícola^{1,4,10}. En la mayoría de los casos no se conoce con exactitud cual es el principio activo que produce los efectos benéficos sobre la salud de los animales, pudiéndose encontrar polifenoles (taninos, ligninas y flavonoides) como asimismo aceites esenciales.

Los extractos de polifenoles obtenidas al estado puro presentan propiedades antibacterianas, afectando la porción lipídica de la membrana citoplasmática de los microorganismos patogénicos, provocando una disminución del consumo de oxígeno y la alteración de la cadena respiratoria. Pueden ser utilizados como agentes promotores de crecimiento no antibióticos^{11,12}.

Con el fin de determinar la actividad inhibitoria de un Extracto Vegetal Polifenólico (EVP) sobre diversas bacterias comunes en patología de animales de crianza intensiva se realizaron ensayos *in vitro* comparándolo con un producto de síntesis química.

Materiales y métodos

El producto evaluado fue un extracto de quebracho colorado (*Schinopsis lorentzii*). La obtención se realizó a partir de pequeños trozos (chips) de madera del árbol sometido a presión y vapor para solubilizarlo y extraerlo. La especie es utilizada industrialmente y repoblada en la provincia de Formosa. El extracto, químicamente, está compuesto por polifenoles sin agregado de otros principios activos, con un reducido tenor de cenizas 1,2 – 1,4 %. Se ensayaron 5 dosis partiendo de 500 partes por millón (ppm) hasta 0,05 ppm en diluciones crecientes de base 10.

El antibiótico de síntesis química fue Bacitracina Metileno Disalicilato al 11 % (BMD) (Alpharma, USA) utilizado de la misma manera en dosis de 330 ppm hasta 0,03 ppm. Para las dosis iniciales de ambos productos (500 y 330 ppm, respectivamente) se consideraron aquellas correspondientes a las dosis de uso de cada uno de éstos.

Las cepas microbianas utilizadas fueron: *Salmonella Gallinarum* biotipo *gallinarum* (SG) cepa de campo (cedida por el Dr José Luis Garbi del Laboratorio Platalab), *Clostridium perfringens* (CP), *Staphylococcus aureus* (SA) y *Escherichia coli* (EC) (del cepario de la Universidad Nacional de Luján).

Para detectar la actividad inhibitoria se utilizó el método de difusión en agar modificado por Vignolo *et al* (1993)¹⁴ por el cual a placas con 10 ml de agar nutritivo se le adiciona una sobrecapa de 7 ml del mismo medio inoculado con 70 microlitros de un cultivo *overnight*. Una vez solidificado el medio se realizan orificios de 3 mm de diámetro en los que se colocan 30 microlitros de las diferentes diluciones del producto a evaluar. La capacidad antibacteriana se mide mediante la observación de halos de inhibición luego de incubar las placas 24 hs. a 37° C.

Resultados

Los resultados indicaron que el extracto de quebracho colorado (*Schinopsis lorentzii*), como el BMD poseen actividad inhibitoria frente a todas las cepas bacterianas ensayadas (Tabla 1).

El ensayo demostró que tanto el EVP como el BMD fueron, en general, efectivos contra bacterias Gram positivas como Gram negativas en concentraciones, no solo de uso terapéutico sino también en diluciones mayores ya que, mientras que para SG y SA ambos fueron igualmente activos en las concentraciones de 500 y 330 ppm y 0,5 y 0,3 ppm, respectivamente, el EVP actuó a diluciones mayores frente a CP y EC.

Discusión y conclusiones

En la bibliografía internacional existen antecedentes que demuestran la acción de numerosos extractos vegetales evaluados *in*

Tabla 1. Actividad inhibitoria del Extracto Vegetal Polifenólico (EVP) y de la Bacitracina Metileno Disalicilato (BMD) frente a diferentes cepas bacterianas expresadas en ppm

Producto	Cepa bacteriana			
	CP	SG	EC	SA
EVP	0,5	500	0,5	0,5
BMD	330	330	33	0,3

CP: *Clostridium perfringens*; SG: *Salmonella gallinarum*; EC: *Escherichia coli*; SA: *Staphylococcus aureus*. Se expresan las menores concentraciones que produjeron halos de inhibición total.

in vitro contra diversas bacterias patógenas. Kamel (2000)⁸ encontró que tanto canela (*Cinnamomum verum*) como orégano (*Oreganum vulgare*), fueron efectivos frente a *E. coli*, *S. Typhimurium* y *C. perfringens*. Por su parte Helander *et al.* (1998) y Juven *et al.* (1994)^{6,7} hallaron que la acción antimicrobiana de los aceites esenciales de algunas plantas podía ser asociada con su carácter lipolítico. Ferket *et al.* (2005)² vincularon la acción antimicrobiana de los ingredientes presentes en aditivos alimenticios de origen vegetal utilizados como agentes promotores de crecimiento por su capacidad de desintegrar la membrana celular de las bacterias patógenas. Zrutova *et al.* (2005)¹⁵. demostraron, a través de experiencia *in vitro*, que diferentes aceites esenciales lograron inhibir el crecimiento de *C. perfringens*.

Estos estudios han sido corroborados a través del uso efectivo de algunos extractos vegetales como agentes promotores de crecimiento en producción animal¹³. Sin embargo es necesario ratificar, no sólo con trabajos experimentales realizados *in vivo*, sino también con evaluaciones, a llevarse a cabo a campo, la acción estos extractos vegetales contra los agentes patógenos como una alternativa de elección ante la necesidad de reemplazar a los antibióticos de síntesis química con tales fines.

Los resultados de este ensayo permiten concluir que los polifenoles obtenidas a partir del extracto de quebracho colorado (*Schinopsis lorentzii*) pueden transformarse en una herramienta de valor al momento de sustituir los antibióticos promotores de crecimiento, en función de las normativas internacionales que los prohíben, proveyendo de esta manera un producto de origen natural inocuo para la salud humana.

Bibliografía

1. de Araújo, SAC., Teixeira, MFS., Dantas, TUM., *et al.* Usos potenciais de Melia azedarach (Meliaceae): Um levantamento. *Arq. Inst. Biol.* Sao Paulo. 2009; 76(1):141-8.
2. Ferket, P., Santos, A. Jr., Oviedo-Rondon, E. Dietary factors that affect gut health and pathogen colonization. *32nd Annual Carolina*

Poultry Nutrition Conference. 2005. Research Triangle Park, North Carolina, USA: 1-22

3. Font Quer, Pio. *Dioscórides renovado*. 1999. Editorial Península. Madrid.
4. Giannenas, L., Florou-Paneri, P., Papazahariadou, M., Christaki, E., Botsoglou, N.A., Spais, AB. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broiler after experimental infection with *Eimeria tenella*. *Archives of Animal Nutrition*. 2003; 57(2): 99-106.
5. Guéye, EF. Ethnoveterinary medicine against poultry diseases in Africa villages. *World's Poultry Science Journal*. 1999; 55(2): 187-98.
6. Helander, I., Alakomi, H., Latva-Kala, K., *et al.* Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1998; 46(9): 3590-95.
7. Juven, B. Kanner, j. Schved, F., Weisslovicz, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *Journal of Applied Bacteriology*. 1994; 76(6): 26-31.
8. Kamel, C. Natural plants extracts: Classical remedies bring modern animal production solutions. *3rd Conference on Sow feed Manufacturing in the Mediterranean Region*. 2000; Reus, Spain: 31-8.
9. Regulation 1831/2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of the European Union*. 2003.
10. Sarica, S., Ciftci, A., Demir, E., Kilinc, K., Yildirim. Y. Use of an antibiotic growth promoter and two herbal natural feed additives with and without exogenous enzymes in wheat based broiler diets. *South African Journal of Animal Science*. 2005; 35(1): 61-72.
11. Simões, CMO., Schenkel, EP., Gosmann, G., Mello, JCP., Mentz, LA., Petrovick, PR., *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. Porto Alegre Editora. UFRGS. 1104 p. 2007
12. Stapleton, PD., Shah, S., Anderson, JC., Hara, Y., Hamilton-Miller, JMT., Taylor, PW. Modulation of β -lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2004; 23(5): 462-7.
13. Steiner, T. Managing Gut Health. Natural Growth as a Key to Animal Performance. *Nothingham University Press*. UK. 2006.

14. Vignolo, G., Suriani, F., Holgado, A., Oliver, G. Antibacterial activity of *Lactobacillus* strains isolated from dry fermented sausages. *Journal Applied Bacteriology* 1993; 75:344-9.
15. Zrutova, J., Ritter, M., Svoboda, KP., Brooker, JD. Secondary plant metabolites to control growth of *Clostridium perfringens* from chickens. *15th European Symposium on Poultry Nutrition*. 24-29 september 2005. Balatombüed, Hungary: 221-3.