

Estudio in vitro del efecto bactericida del aguacate

Study in vitro of the bactericided effect of avocado

Lic. Rosa Raventós Rivero; Dr. Ricardo M. García Vega; Ing. Mario Pazos González

Instituto Superior de Ciencias Médicas Carlos J. Finlay. Camagüey, Cuba.

RESUMEN

El aguacate se ha venido utilizando por la población desde hace siglos en el tratamiento local de heridas infectadas o no, de forma totalmente empírica y basándose en las historias y experiencias de las generaciones que nos han precedido. Nuestro equipo de trabajo decidió estudiar las acciones del aguacate y determinar sus verdaderas acciones terapéuticas para reafirmar o refutar las propiedades que se han transmitido de boca en boca. Una de las etapas de esta investigación consistió en comprobar el efecto bactericida in vitro. Para realizar el estudio decidimos utilizar el método de dilución neutralización propuesto por las Normas AFNOR de Francia. Se realizó por el método a doble ciegas para obtener cepas de gérmenes gram positivos y negativos que en esos momentos afectaban a los pacientes quemados ingresados en nuestro Servicio de Quemados.

Se pudo concluir que la solución de aguacate no presentó efecto bactericida ante *Estafilococo áureo*, pero ante los grams negativos que fueron analizados que son el *Proteus mirabilis* y la *Pseudomona aeruginosa* quedó demostrado el efecto bactericida de la solución empleada.

DeCS: PLANTAS MEDICINALES; QUEMADURAS; BACTERICIDAS.

ABSTRACT

The Avocado has used since ancient times for the local treatment of infected or not infected wounds by the population empirically based on histories and experiences of previous generations. Our work team decided to study actions of avocado and determine its real therapeutic actions for reassuring or refusing properties that have been extended through one person to another. One of the stages of this research consisted of checking the bactericidal effect in vitro. So as to perform the study we decided to use the method of the neutralization -dilution proposed by AFNOR Norms of France. For the double blind study performed, gram positive and negative, germ smears were studied performed, at that moment affected burnt patients admitted in our Service. Concluding, avocado did not present bactericidal effect negative analyzed, Proteus Mirabilis and Pseudomonas Aeruginosa it was demonstrated the bactericidal effect of the solution used.

DeCS: PLANTS, MEDICINALS; BURNS; BACTERICIDES.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad infecciosa es tan antigua como la humanidad, la historia recoge los esfuerzos del hombre para combatirla.

El paciente quemado durante años ha sido una preocupación constante para los equipos de profesionales que los han atendido y una de las primeras dificultades ha sido y es la infección de este tipo de pacientes que van desde la simple contaminación de la lesión hasta la temida y fatal septicemia (1-4).

Esto ha llevado a que sean múltiples los medicamentos utilizados para realizar una cura local y todos han tenido la intención de alcanzar uno que produzca la asepsia de las lesiones e impida el crecimiento de gérmenes de cualquier tipo, Suman miles las investigaciones que en el ámbito mundial se han realizado para llevar adelante esta parte importante del tratamiento que es la cura local; sin embargo, aún no existe el tratamiento local ideal que permita erradicar la infección en el paciente quemado.

En nuestro país no hemos estado ajenos a este interés científico con el objetivo de dar un importante paso en el manejo de estos pacientes. Esto se ha visto incentivado en los últimos años ante la existencia de un feroz bloqueo que nos impide llegar a múltiples avances de la salud en el mundo.

Motivados por este interés muy especial es que nos decidimos a realizar un estudio completo del aguacate que como ya mencionamos en otros trabajos fue usado por

los indios Aymará en Bolivia con la finalidad de aplicarlo sobre las heridas para lograr su curación. En esa zona de América este fruto recibe el nombre de Palta. Este tratamiento fue tomado por los Incas y se utilizó para aplicarlo sobre los pacientes a los cuales le practicaban la trepanación del cráneo en aquella época. Hoy aún los descendientes de los Aymará siguen utilizando la Palta en el tratamiento de múltiples afecciones cutáneas y fue allí donde lo conocimos y decidimos investigarlo a fondo.(5)

Este trabajo forma parte de un conjunto de etapas o fases que sobre este producto de la naturaleza hemos desarrollado. En él exponemos los resultados alcanzados al comprobar in vitro el efecto bactericida del producto, previo a su utilización en una etapa posterior que resultó ser su empleo en el tratamiento de un grupo de ratas quemadas.

METODOS

Se prepararon varias soluciones en los laboratorios del Instituto Superior Pedagógico José Martí en los cuales se intercalaron soluciones con extracto activo del aguacate, esto se hizo de forma tal que el personal encargado de hacer el estudio in vitro desconocía en qué muestras se encontraba la solución con extracto activo de aguacate (método a doble ciegas).

Las cepas bacterianas fueron aisladas de pacientes hospitalizados, las muestras se obtuvieron a partir de la superficie quemada, identificados en el laboratorio y tomándose las que tenían un reconocido valor patógeno, estadísticamente representativos, enfrentándolos a todas las soluciones estudiadas.

Se realizaron estudios de sensibilidad utilizando un método bacteriológico cuantitativo poniendo las diferentes soluciones frente a los siguientes gérmenes, Pseudomona Aeruginosa, Estafilococo Aureo y Proteus Mirabilis (6,7).

La técnica escogida para la evaluación resultó ser el método de Dilución Neutralización propuesta por las Normas AFNOR de carácter internacional la cual consta de dos pasos que son:

- . Ensayo Preliminar
- . Ensayo definitivo

Consiste en la determinación de la capacidad de una solución a una concentración dada de reducir a la décima parte el número de células microbianas presentes en crecimiento exponencial y bajo condiciones de laboratorio (8-11).

Ensayo Preliminar:

Se cultivaron las cepas bacterianas a utilizar en un medio apropiado a temperatura ambiente, se les dio tres pases a las 24, 48 y 72 horas.

Se prepararon las suspensiones bacterianas en diluyente de agua de triptona que contenían seis perlas de vidrio de un diámetro entre 3 y 4 mm. Se ajustó la turbiedad a un patrón de una concentración de 1 a 3 por 10 a la octava potencia de células por ml.

Se realizaron diluciones sucesivas de las suspensiones bacterianas en el diluyente, hasta obtener una suspensión bacteriana con una concentración de 1 a 3 por 10 elevado a dos células por mililitros. Se sembró 1ml en cada placa de petri de 10 por 100 ml. que contenían 15 ml de agar para conteo bacteriano y se designó como N (conteo control de colonias bacterianas). Se incubaron a 37 grados centígrados por 48 horas y se efectuó un conteo de colonias como control que debía mostrar de 100 a 300 colonias por placa de petri.

Se tomaron dos tubos que contenían 9 ml de neutralizante: a uno se le añadió 0.5 ml de la solución a evaluar y al otro 0.5 ml de agua destilada, se agitaron por rotación suavemente por 10 minutos en contacto con la dilución que contenía de 2 a 6 por 10 elevado a la quinta potencia de células por ml, se tomó un ml y se colocó en los tubos 0.5 ml. Se dejó cinco minutos en reposo a temperatura ambiente sembrando luego un ml de la dilución de neutralizante con la solución a evaluar en las placas de petri designadas con la letra n y un ml de la dilución del neutralizante y Agua destilada en las placas designadas con la letra N, se incubaron las placas a 37 grados centígrados durante 48 horas procediendo a la lectura:

De donde $n > \text{ó} = 0.5N$

Según la fórmula se determinó que el neutralizante escogido era el ideal para proteger el 50% o más de las células bacterianas.

Ensayo definitivo:

Se prepararon soluciones bacterianas realizando un conteo de colonias similares al ensayo preliminar.

Se añade 1 ml de la solución bacteriana ajustada de 1 a 3 por 10 a la octava potencia de colonias por ml a un tubo de ensayo estéril que contenía 5 ml de la solución estudiada y 4ml. de Agua destilada estéril mezclándola con agitación tipo vórtex dejándolo cinco minutos en reposo. Se extrajo un ml de la mezcla y se añadió a un tubo que contenía 9 ml de neutralizante, dejándolo 10 minutos en reposo a temperatura ambiente. Se sembró 1 ml en cada una de las placas con agar designada con la letra n incubándose a 37 grados centígrados por 48 horas, los resultados se dieron por el cálculo de la actividad bactericida para cada una de las sustancias estudiadas según la fórmula:

$$n, < \acute{o} = N' / 10$$

Donde **n** es el número de colonias bacterianas promedio sobrevivientes después de estar en contacto con la solución estudiada y **N** el número de colonias promedio aparecidas en el conteo control de la suspensión bacteriana.

RESULTADOS

Se emplearon tres soluciones en el estudio. Las cuales se identificaron con las letras A, B, y C.

La solución que contenía el extracto obtenido de la masa del aguacate resultó ser la identificada con la letra C. Las soluciones A y B contenían sustancias totalmente neutras.

Cuando las soluciones se colocaron frente a la concentración de *Estafilococo Aureo* se pudo apreciar que las soluciones marcadas con A y B no tuvieron ningún efecto bactericida al igual que la marcada con la letra C que no presentó ningún efecto bactericida (Tabla 1).

Tabla 1. Resultado del ensayo frente a *Estafilococo áureo*

Soluciones	No. de	No. de	N=ó<N/ 10
	Colonias	Colonias	
	EN N	EN n	
A	500	500	
B	500	500	
C	101	84	

Fuente: Datos de laboratorio

Al poner las soluciones frente a las suspensiones de *Proteus Mirabilis* se encontró que las soluciones A y B no mostraron ningún efecto bactericida; sin embargo, la identificada con la letra C mostró eficacia bactericida ya que n resultó ser < a N/10 (Tabla 2).

Tabla 2. Resultado del ensayo definitivo frente Alproteus Mirabilis

Soluciones	No. de colonias	No. de Colonias	N=ó< N/ 10
	EN N	EN n	
A	500	500	n.>N/10
B	500	500	n>N/10
C	300	10	n>N/10

Fuente: datos de laboratorio

Cuando enfrentamos las soluciones a las concentraciones de Pseudoma Aeruginosa, tanto la A como la B, demostraron su ineficacia bactericida, pero C mostró un amplio efecto bactericida con un 100% de eficacia, ya que $n = 0$.

Los resultados se dieron por el cálculo de la actividad bactericida de la solución empleada para cada cepa bacteriana según la formula:

$$n, < \acute{o} = N' / 10$$

Por todo lo antes expuesto podemos concluir que la única solución que tenía efectos bactericidas resultó ser la C. quedando demostrada su eficacia bactericida in vitro ante los gérmenes grams negativos utilizados

Tabla 3. Resultado del ensayo definitivo frente a *Pesudomona aeruginosa*

Soluciones	No. de Colonias	No. de Colonias	N=óN// 10
	EN N'	EN n,	
A	500	500	n,> N`/10
B	500	500	n,> N'/10
C	300	0	n,<N'/10

Fuente: Datos de laboratorio

CONCLUSIONES

Al realizar el estudio in vitro para evaluar la acción bactericida del aguacate frente a los principales gérmenes que se detectan a diario en la sala de quemados se encontró que el extracto obtenido cumple con esta propiedad frente a los grams negativos, y fue mayor ante la *Pseudomona Aeruginosa*, sin embargo, resultó ineficaz al enfrentarse al germen gram positivo seleccionado para este estudio

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. R. F., New concepts of sepsis and septic syndrome. Etiologic correlations. Rev. Clin. Esp. 1996, jul; 196. Suppl 2: 27-37.
2. Nosocomial bacteriemia in critically ill patients: a multicenter study evaluating epidemiology and prognosis. Spanish Collaborative Group for infections in Intensive Care Units of Sociedad Española de Medicina Intensiva y Unidades coronarias. Clin. Infect. Dis. 1997; 24 (3): 387-99.
3. Chung Hua Cheng Hsing Shan., Bacteriological investigation of burn blister fluid. Wai Ko Tsa Chich. 1991; 7 (1): 13-4, 73-4.
4. Decrease of the incidence of sepsis syndrome after early enteral nutrition of patients with severe burns. Nutr. Hosp. 1996; 11 (5): 274-8.
5. Garcia R. , Raventos R.. Estudio de la acción del aguacate sobre el proceso de cicatrización en ratas de experimentación quemadas. (En proceso de publicación). 1999.
6. Diagnosis of Bacteremia in children by quantitative direct planting and a radiometric procedure. J. Clin. Microbiol. 1981; 13 (3): 478-82.
7. Comparison of four rapid methods for identification of Enterobacteriaceae from blood cultures. J. Clin. Microbiol. 1983, 17 (3): 493-9.
8. Association Française de Normalisation. Norma AFNOR N.F.T. 72-150. Antiseptique e Desinfectant utilises a e'lat liquide riscible a eçan et neutralisables. Determination de e'activite bactericide; (Methodo par dilution neutralisation), Paris 1981.
9. Barry Clyde AI, Thornale Ray. Pruebas de Susceptibilidad: Procedimiento para pruebas de difusión. EN: Lannete E. Manual de microbiología Clínica. 3ed. La Habana: Edit. Científico Técnica; 1982. Vol. 1. P. 651-574.
10. Gavan TL. Prueba in vitro de susceptibilidad antimicrobiana. Implicaciones Clínicas y Limitaciones. Clin. Med. N.A 1974; 58 (3): 193-504.