

DEPARTAMENTO DE FARMACIA GALENICA

PROF. DR. JOSÉ M.^a SUÑÉ

ESTUDIO FARMACEUTICO DEL TEUCRIUM ERIOCEPHALUM. I ESTUDIO DEL PODER ANTISEPTICO

C. MIRANDA y J. M.^a SUÑÉ (*)

Ars Pharm. X, 129 (1969).

La motivación primera del estudio farmacéutico del *Teucrium eriocephalum* era precisamente su posible poder antiséptico. Por ello hemos procedido a estudiarlo en la esencia y en los preparados galénicos de la planta.

Han sido muy escasos los antecedentes bibliográficos encontrados y poco ilustrativos. Así GUIBOURT, hace más de un siglo (36), cita la esencia del *T. Scordium* como componente del "Electuario de Dioscorido" de propiedades estomacales y antisépticas y la última edición de "Medicamenta" (39) señala las propiedades antisépticas de los preparados para uso externo del *T. Chamædrys*.

Tan sólo en un trabajo experimental, de RASHBA y colaboradores (103) se estudia el poder antiséptico de un *Teucrium*, el *T. Chamæ-*

drys, junto al del *Theymus serpyllum* y al del *Stachys recta*, plantas todas de la familia Labiadas, utilizadas en medicina popular y en Homeopatía y que en experiencias previas, según los autores, demostraron propiedades antibacterianas. Encuentran en el mencionado *Teucrium* una "grasa etérea" obtenida de la planta en flor (la planta no florida no la posee) que detiene el desarrollo del estafilococo dorado n.º 209 pero no actúa sobre el disintérico de Guiss-Flexner ni sobre el *Mycobacterium* raza B-5, y un tanino de peso molecular bajo y propiedades ácidas, con un grupo pirocatequínico, también con actividad antibacteriana.

Técnica utilizada.

Se ha utilizado el "Test de las suspensiones" descrito en el "La-

(*) Extracto de la tesis doctoral de D.^a Candelaria Miranda Soria, dirigida por el Prof. Dr. José M.^a Suñé. La autora expresa su agradecimiento a los Profesores: Dr. Vicente Callao y Dr. Alberto Ramos Cormenzana, de la Cátedra de Microbiología y Estación Experimental del Zaidín, por su guía y consejo en esta parte de su trabajo.

Ver: C. Miranda, *Ars Pharm.* IX, 289 (1968).

C. Miranda y J. M.^a Suñé, *Ars Pharm.* IX, 381 (1968).

C. Miranda y J. M.^a Suñé, *Ars Pharm.* X, 35 (1969).

boratory Methods of Microbiology" (109), cuyo fundamento consiste en añadir a un determinado número de microorganismos la solución del antiséptico y determinar, en distintos intervalos de tiempo, el número de supervivientes.

Para ello ha de procederse, en primer lugar, a la preparación de la suspensión de células y ello se efectúa de la siguiente manera:

Los gérmenes de prueba, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, se incuban durante 24 horas a su temperatura óptima de crecimiento. La suspensión se prepara a partir de un medio sólido, lavando con solución salina estéril. Las células pueden separarse del medio líquido por centrifugación, eliminando el líquido y suspendiendo el sedimento en solución estéril.

El resultado de la suspensión se agita para disgregar los grumos. La concentración resultante aproximada es de 10^{10} células por mililitro.

Una vez preparada la suspensión de gérmenes, verdadero reactivo del ensayo, se procede a la determinación concreta de poder antiséptico con arreglo a la técnica siguiente:

La solución de antiséptico, preparada a la concentración requerida, se distribuye en matraces de Erlenmeyer, de 250 ml, de tal manera que, en total, antiséptico y solución estéril alcancen un volumen de 99 mililitros en cada matraz a los que se añade 1 ml (total 100 ml) de la suspensión de gérmenes. De ahí se toman 1 ml a los 30 segundos y a los 2, 5 y 10 minutos y se siembra en tubo de ensayo con 9 ml de solución

estéril. Finalmente se toman 0,5 ml de cada tubo y se siembran en 10 tubos de agar inclinado incubando en estufa a 37° durante 24 horas pasadas las cuales se arrastran los gérmenes agitando los tubos con solución estéril.

La suspensión de gérmenes de 9 tubos se reúne en otro ancho y estéril del que se toman 5 ml y se llevan al nefelómetro para determinar la turbidez. Se comprueba que la suspensión sin diluir da una turbidez de 99 con lo que el número de supervivientes en la solución tipo resulta imposible de contar. Por ello en los ensayos posteriores se diluye a la mitad alcanzando entonces la suspensión de células una turbidez de 50 que ya hace posible el recuento en el tipo.

Seguidamente se preparan 4 matraces de 150 ml con 1, 2, 3 y 4 ml respectivamente de solución problema con presunta actividad antiséptica y 98, 97, 96 y 95 ml (c.s.p. 99 ml) de solución estéril. Con ello se tiene preparada la serie problema. De igual manera se prepara la serie tipo, reemplazando la solución problema por solución estéril en el estudio de poder antiséptico de esencia y de preparados galénicos acuosos y por alcohol de la correspondiente graduación cuando la determinación de poder antiséptico es de un preparado galénico alcohólico (tintura).

Se toma 1 ml de la suspensión de gérmenes y se siembra en todos los matraces de las series tipo y problema (con ello se completan los 100 ml), agitando para que la interposición de gérmenes y antiséptico sea lo más perfecta posible. A los 30 segundos se pasa 1 ml de cada matraz a un tubo con 9 ml de solución estéril.

ril, operación que se repite a los 2 minutos, a los 5 y a los 10.

De cada tubo sembrado se recogen 0,5 ml y se siembran en profundidad y en superficie, en tubos de agar fundido, agitando para la completa homogeneización. Se vierten en placas de Petri y se llevan a la estufa a 37° durante 24 horas.

Transcurridas las 24 horas se procede al recuento de supervivientes en cada placa estudiándose la inhibición provocada por el antiséptico comparativamente con la serie tipo en los distintos intervalos de tiempo.

La evaluación de los resultados se expresa por el llamado *Coefficiente de reducción* (110) que indica el número de colonias supervivientes en el problema comparativamente al tipo, es decir:

$$\text{Coeficiente de reducción} = \frac{\text{N.º de colonias en la placa tipo}}{\text{N.º de colonias en la placa problema}}$$

1.—Experiencias frente a *Escherichia coli*.

Se han ensayado primeramente los preparados galénicos, infusiones cocimientos y tinturas, frente al *E. Coli*, observándose que en los dos primeros, cocimientos e infusiones, el recuento no podía realizarse con exactitud ya que junto a las colonias de *Coli*, aparecían otras de tipo *Pseudomonas*, que dificultaban extraordinariamente el recuento de las primeras. Dichas colonias se comprobó que eran debidas a gérmenes que ambos preparados llevaban y no se debían a contaminación en la técnica de ensayo. Su explicación es lógica dada la imposibilidad de esterilización previa de dichos preparados.

Por el contrario, aún sin esterilizar, la tintura presenta una clara inhibición del crecimiento del *E. Coli*. También era previsible dado el carácter de solución alcohólica de dicho preparado.

Del mismo modo se comprueba la acción antiséptica de la esencia sobre el *E. Coli*. En todas las pruebas efectuadas se mantienen constantes los dos factores siguientes:

Concentración de gérmenes: 1 ml da 50 de turbidez.

Concentración de gérmenes sembrados en cada placa: 5×10^4 .

a) Poder antiséptico de la tintura de *Teucrium eriocephalum*.

La solución tipo se prepara con alcohol de 70° por ser la graduación del alcohol empleado en la preparación de la tintura que se ensaya.

Serie I.

Número de supervivientes por placa en el tipo: 6.000.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: 2×10^{-3} .

Resultados obtenidos:

Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	1.650	3,6
2'	1.500	4
5'	1.320	4,5
10'	635	9,4

Serie II.

Número de supervivientes por placa en el tipo: 6.000.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: 2×10^{-3} .

Resultados obtenidos:

Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	1.740	3,4
2'	1.740	3,4
5'	1.690	3,5
10'	1.680	3,5

Serie III.

Número de supervivientes por placa en tipo: 6.000.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: 1×10^{-3} .

Resultados obtenidos:

Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	1.750	3,4
2'	1.740	3,4
5'	1.740	3,4
10'	1.730	3,5

Serie IV.

Número de supervivientes por placa en el tipo: 6.000.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: 5×10^{-4} .

Resultados obtenidos:

Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	1.820	3,2
2'	1.820	3,2
5'	1.800	3,3
10'	1.740	3,4

b) Poder antiséptico de la esencia de *Teucrium eriocephalum*.

Serie I.

Número de supervivientes por placa en tipo: 6.050.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: $1,75 \times 10^{-3}$.

Resultados obtenidos:

Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	600	10
2'	520	11
5'	440	13,7
10'	350	17,2

Serie II.

Número de supervivientes por placa en tipo: 6.050.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: $1,5 \times 10^{-3}$.

Resultados obtenidos:

Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	730	8,2
2'	640	9,4
5'	640	9,4
10'	630	9,5

Serie III.

Número de supervivientes por placa en tipo: 6.050.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: 1×10^{-3} .

Resultados obtenidos:

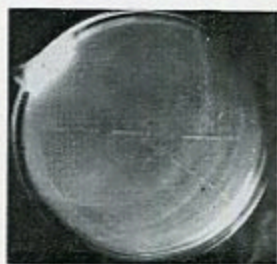
Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	850	7,1
2'	850	7,1
5'	820	7,4
10'	800	7,5

Serie IV.

Número de supervivientes por placa en tipo: 6.050.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: 5×10^{-4} .

Poder antiséptico de la esencia de *Teucrium eriocephalum*
frente a *Escherichia coli*



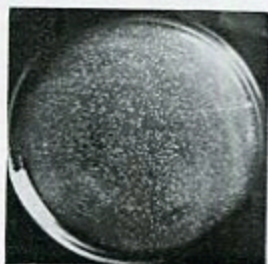
TIPO



30 segundos



2 minutos



5 minutos



10 minutos

Serie I.

Número de supervivientes por placa en tipo: 5.000.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: $1,75 \times 10^{-4}$.

Resultados obtenidos:

Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	570	8
2'	540	9,2
5'	510	9,8
10'	420	12

Serie II.

Número de supervivientes por placa en tipo: 5.000.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: $1,5 \times 10^{-3}$.

Resultados obtenidos:

Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	730	6,8
2'	720	6,9
5'	770	7,14
10'	640	7,9

Serie III.

Número de supervivientes por placa en tipo: 5.000.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: 1×10^{-3} .

Resultados obtenidos:

Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	870	5,5
2'	850	5,6
5'	790	6,3
10'	780	6,3

Serie IV.

Número de supervivientes por placa en tipo: 5.000.

Cantidad de antiséptico por placa en el problema: 5×10^{-4} .

Resultados obtenidos:

Tiempo	Superv.	Coef. Reducción
30"	1.020	4,5
2'	950	5
5'	880	5,5
10'	860	5,8

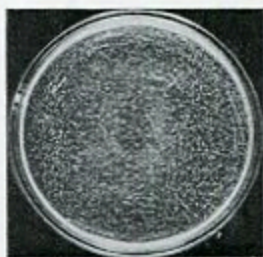
Poder antiséptico de la esencia de Teucrium ericephalum

frente a *Stafilococcus aureus*

Tipo

30 segundos	2 minutos
5 minutos	
10 minutos	

Poder antiséptico de la esencia de *Teucrium eriocephalum*
frente a *Stafilococcus aureus*



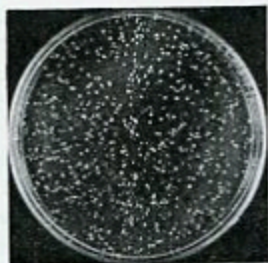
TIPO



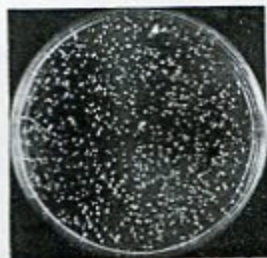
30 segundos



2 minutos



5 minutos



10 minutos

COEFICIENTES DE REDUCCION

Cantidad de antiséptico

	Tiempos	2×10^{-3}	$1,5 \times 10^{-3}$	1×10^{-3}	5×10^{-4}
Tintura sobre <i>Escherichia coli</i>	30"	3,6	3,4	3,4	3,2
	2'	4	3,4	3,4	3,2
	5'	4,5	3,5	3,4	3,3
	10'	9,4	3,5	3,5	3,4
Tintura sobre <i>Stafilococcus aureus</i>	30"	3,8	3,5	3,3	3,03
	2'	3,9	3,5	3,4	3,03
	5'	3,9	3,7	3,4	3,03
	10'	6,8	3,7	3,5	3,1

Cantidad de antiséptico

	Tiempos	$1,75 \times 10^{-3}$	$1,5 \times 10^{-3}$	1×10^{-3}	5×10^{-4}
Esencia sobre <i>Escherichia coli</i>	30"	10	8,2	7,1	5,8
	2'	11	9,4	7,1	5,9
	5'	13,7	9,4	7,4	6,05
	10'	17,2	9,5	7,5	6,4
Esencia sobre <i>Stafilococcus aureus</i>	30"	8	6,8	5,5	4,9
	2'	9,2	6,9	5,6	5
	5'	9,8	7,14	6,3	5,5
	10'	12	7,9	6,3	5,8

El estudio de los resultados obtenidos, agrupados en el cuadro anterior, nos lleva a establecer las siguientes consideraciones:

1) En las experiencias sobre *Escherichia coli* el poder antiséptico de la tintura sólo se hace algo significativo utilizando una concentración de antiséptico de 2 por 10^{-3} , la mayor utilizada, durante 10 minutos, también el mayor tiempo de observación empleado,

en cuyo caso llega a inhibir diez veces más que el tipo de comparación.

2) La esencia frente al mismo germen presenta poder antiséptico claramente significativo (próximo a 20) con el mismo tiempo de ensayo de 10 minutos y concentración menor ($1,75 \times 10^{-3}$), siendo ya algo significativo, tanto como la tintura en las condiciones señaladas en el apartado anterior, en el

tiempo de 30 segundos a aquella concentración y a los 2 minutos con concentración todavía inferior ($1,5 \times 10^{-3}$).

3) Frente a *Stafilococcus aureus* presenta la *tintura* una inhibición todavía inferior de tal manera que a la máxima concentración empleada (2×10^{-3}) y en el mayor tiempo (10 minutos) se obtiene un coeficiente de reducción (6,8) que ha de considerarse poco significativo.

4) La *esencia* frente al estafilococo dorado también presenta poder antiséptico inferior al demostrado frente al coli, aunque siempre mayor que el de la *tintura*. Puede considerarse algo significativo sólo utilizando la máxima concentración ensayada ($1,75 \times 10^{-3}$) y a partir de los 2 minutos.

CONCLUSIONES

1.—Se comprueba el poder antiséptico de la *esencia* de *Teucrium eriocephalum* sobre *Escherichia coli* y sobre *Stafilococcus aureus*, demostrándose un buen poder antiséptico sobre el primero, incluso a concentraciones de $1,75 \times 10^{-3}$, y poder antisép-

tico sólo regular frente al estafilococo a la misma concentración.

2.—Se comprueba que el poder antiséptico de la *tintura* de *Teucrium eriocephalum* frente a *Escherichia coli* y *Stafilococcus aureus* es muy inferior al de la *esencia*, siendo sólo algo significativa la concentración de 2 por 10^{-3} frente al segundo.

BIBLIOGRAFIA (*)

- 109.—HARRIGAN, W. F. y MC. CANCE, M. E.: "Laboratory Methods of Microbiology", Academic Press, London a. New York 1966, pág. 75-76.
- 110.—Joubert, L., Chambon, P. y Gattefosse, M.: "Notice Ar-0054", Gattefossé-Sfpa (1959).

(*) Para las referencias 1 a 29 véase ARS PHARM. IX, 289 (1968), para las 30 a 61 ARS PHARM. IX, 381 (1968) y para las 62-108 ARS PHARM., X, 55 (1969).