

Contribución al estudio de la actividad antibacteriana de *Cetraria islandica* (L.) Ach.

por

F. BUSTINZA

En 1945, Burkholder y Evans señalan que sus ensayos sobre la actividad antibacteriana *in vitro* de *Cetraria islandica* frente al *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* les habían dado resultados negativos (1).

En 1947, Stoll, Renz y Brack señalan por primera vez ligera actividad del extracto de *Cetraria islandica* (L.) Ach. *Normalform* frente a la estirpe núm. 114 de *Staphylococcus aureus* y alguna mayor actividad (zona de inhibición de 14 a 17 mm. de diámetro) de *Cetraria islandica* (L.) Ach. var. *crispa-tenuifolia* frente a esa misma estirpe de estafilococo (2), y señalan al ácido d-protoliquistérico y d-l-úsico como los principios activos de dichas Cetrarias.

En otro trabajo de Stoll y colaboradores (3) sobre la actividad antibacteriana del ácido úsico sobre *Mycobacterium* y otros microbios, señalan el hecho interesante de haber obtenido ácido

(1) P. R. BURKHOLDER and AL W. EVANS: *Further studies on the antibiotic activity of Lichens*. «Bulletin of the Torrey Botanical Club», vol. 72, número 2, págs. 157-164, march 1945.

(2) A. STOLL, J. RENZ und A. BRACK: *Antibiotika aus Flechten*. «Experientia», vol. III/3, 1947, pág. 111.

(3) A. STOLL, A. BRACK und J. RENZ: *Die antibakterielle Wirkung der Usninsäure auf Mykobakterien und andere Mikroorganismen*. «Experientia», volumen II/3, 1947, pág. 115.

úsico racémico con rendimientos de 0,04 por 100 a partir de *Cetraria islandica* Ach.

Ciferri y Giacomini publicaron en 1948 (4) el resultado de sus investigaciones sobre la actividad de 231 ejemplares de líquenes frente al *Staphylococcus aureus* y señalan indicios de actividad para la *Cetraria islandica* var. *crispa* Ach., y ninguna actividad para *C. islandica* v. *sorediata* Arn.

Vartia, en 1949, dió cuenta del resultado de sus investigaciones sobre la actividad antibacteriana de diversos líquenes, y con respecto a *Cetraria islandica* observa que posee cierta actividad frente a *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* β -hemolyticus, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* y *B. megatherium* y que es inactivo frente a *Corynebacterium diphtheriae* y *B. subtilis* (5).

En otro trabajo de Vartia, publicado en 1950 (6), da cuenta de haber preparado a partir de *C. islandica* el ácido d-proto-liquestérico y observado que su sal sódica es activa frente a *Sarcina lutea*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* β -hemolyticus, *Corynebacterium diphtheriae mitis*, *B. megatherium* y *B. subtilis*, y a diluciones que oscilan entre 1/40.000 frente al *B. megatherium* hasta 1/320.000 para el *Strep.* β -hemolyticus. En cambio ni aun a la concentración de 1 en 5.000 el ácido d-proto-liquestérico es activo frente a *Escherichia coli*.

También Vartia extrae el ácido fumaroprotocetrárico de *C. islandica* y observa que su sal sódica ni aun a la concentración de 1 en 5.000 es eficaz para detener el crecimiento de las bacterias ensayadas (7).

En febrero de 1950 inicié mis ensayos sobre la actividad antibacteriana de *C. islandica* con un lote de dicho líquen que recibí

(4) R. CIFERRI e V. GIACOMINI: *Contributo allo studio dell' attività antibiologica di licheni di essiccata*. «Il Farmaco», maggio giugno, 1948, págs. 310-320.

(5) K. O. VARTIA: *Antibiotics in Lichen*. «Annales Medicinæ Experimentalis et Biologiæ Fenniae», vol. 27, 1949, fasc. I, págs. 46-54.

(6) K. O. VARTIA: *Antibiotics in Lichens II*. «Annales Medicinæ Experimentalis et Biologiæ Fenniae», vol. 28, 1950, fasc. I, págs. 7 a 19.

(7) K. O. VARTIA: *On antibiotic effects of Lichens and Lichen Substances*. Supplement núm. 7 (1950) to «Annales Medicinæ Experimentalis et Biologiæ Fenniae».

gracias a la amabilidad del Sr. Gunnar Tornqvist, farmacéutico de Estocolmo. Quise también al mismo tiempo ensayar paralelamente la actividad de un líquen islándico adquirido en una farmacia y se me ocurrió pedir una pequeña cantidad al farmacéutico de Abejar recientemente fallecido, D. Santiago Gallego.

La técnica que he seguido es la siguiente: 1 gr. de líquen se tritura en un mortero y luego se le adiciona 9 c. c. de una disolución tampón-fosfatos de pH 7 estéril y se hace una dispersión lo mejor posible. Se deja macerar media hora y se filtra a través de un lienzo de Nylón, y con el líquido de filtración se realizan los ensayos de actividad antibacteriana. En las fotografías números 1 y 2 se reflejan algunos de mis ensayos:

Fotografía núm. 1.

El medio de cultivo es un agar tampón fosfatos de pH 7. Se han sembrado hasta el borde del pocillo central con pipeta capilar cultivos en caldo de unas veinticuatro horas de las siguientes bac-

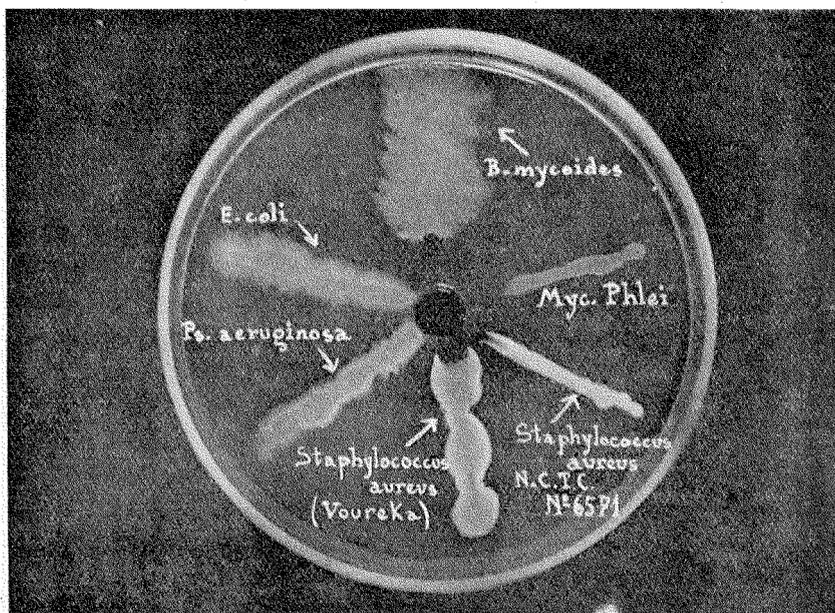


Fig. 1.—En el centro se ha colocado extracto de *Cetraria islandica*, procedente de Suecia.

terias: *B. mycoides* (8), *Mycobacterium phlei* (9), *Staphylococcus aureus* estirpe sensible a la penicilina (10), *Staphylococcus aureus* estirpe Voureka resistente a la penicilina (11), *Pseudomonas aeruginosa* (12) y *Escherichia coli* (13).

El pocillo central se llena con el extracto de *Cetraria islandica*. Al cabo de una media hora, se coloca la placa en la estufa a 37°, y la fotografía ha sido tomada a las veinticuatro horas de iniciada la experiencia.

Resultado.—Se aprecia bien claramente que el extracto de *Cetraria islandica* es activo frente a *B. mycoides*, *Mycobacterium phlei*, *Estafilococo* sensible a la penicilina y *Estafilococo* resistente a dicho antibiótico, y que en cambio es inactivo frente a *Ps. aeruginosa* y *E. coli*.

Fotografía núm. 2.

El medio de cultivo es agar tampón fosfatos de pH 7. Se han sembrado hasta el borde del pocillo central con pipeta capilar cultivos en caldo de unas veinticuatro horas de las siguientes bacterias: *Mycobacterium phlei*, *Mycobacterium tuberculosis avium* (14), *Mycobacterium ranae* (15), *Mycobacterium smegmatis* (16) y *Mycobacterium paratuberculosis grassberger* (17).

(8) Estirpe N. R. R. L. B-615.

(9) Estirpe recibida del N. C. T. C. de Londres.

(10) Es la llamada estirpe H, o sea la núm. 6.571 del N. C. T. C. de Londres, que se ha utilizado mucho en las valoraciones de penicilina.

(11) Esta estirpe fué facilitada por la Dra. Voureka, que trabaja con el Profesor Sir Alexander Fleming. Dicha estirpe posee elevada resistencia natural a la penicilina.

(12) Estirpe que me fué facilitada por el Dr. D. Joaquín de la Torre, del Instituto Nacional de Sanidad.

(13) Estirpe N. R. R. L. B-686.

(14) Número 177 del Centre de Types Microbiens de la Facultad de Medicina de Lausana.

(15) Estirpe que recibí del Dr. J. W. Steenken, Director del Trudeau Laboratory.

(16) Número 169 del Centre de Types Microbiens de la F. de Med. de Lausana.

(17) Número 55 B, del Centre de Types Microbiens de la F. de Med. de Lausana.

El pocillo central se llena con el extracto de *Cetraria islandica*. Al cabo de media hora se coloca en la estufa a 37° y la fotografía ha sido tomada a las veinticuatro horas de iniciada la experiencia.

Resultado.—Se aprecia claramente que el extracto de *Cetraria islandica* es activo frente a todas las especies de *Mycobacterium* sometidas al ensayo.

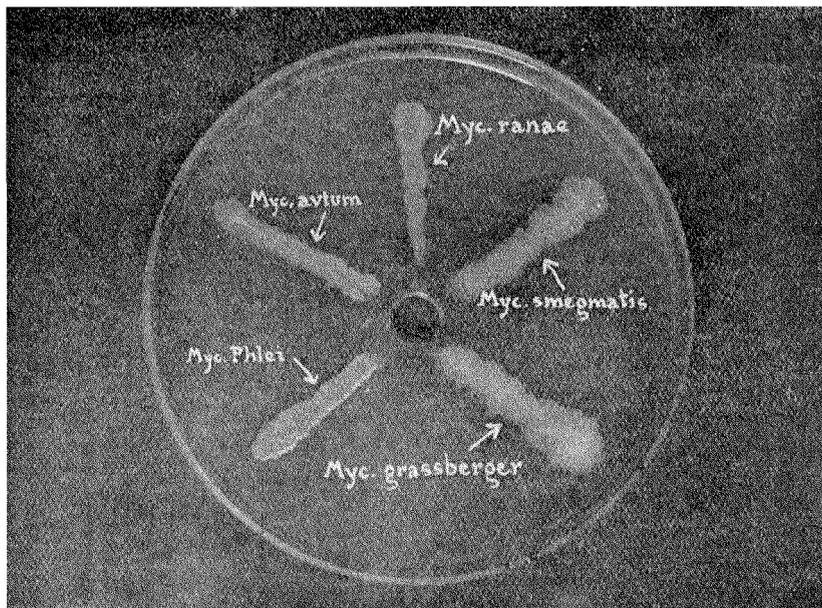


Fig. 2.—En el centro se ha colocado extracto de *Cetraria islandica*, procedente de Suecia.

Se han repetido estos ensayos varias veces, al objeto de confirmar los resultados (18).

Los extractos de líquen islámico procedente de la farmacia de D. Santiago Gallego resultaron con actividad ligeramente superior a los extractos de líquen islámico procedente de Suecia. Ello podría ser debido a que los ejemplares de que me envió el se-

(18) Quiero expresar mi gratitud a D. Juan Daza Valdés por su ayuda preparando los medios de cultivo utilizados en estos ensayos.

ñor Gallego estaban muy resecos, pues llevaban muchísimos años en su envase y probablemente a peso igual contenían alguna mayor cantidad de principios activos.

Las fotografías que presento corresponden a los ensayos con el extracto de *Cetraria islandica* procedente de Suecia.

Ya he indicado anteriormente que Vartia investigó la actividad antibacteriana del ácido fumaroprotocetrárico. He extraído del líquen islándico, primero con éter sulfúrico y luego con acetona, y he obtenido el ácido fumaroprotocetrárico, que he caracterizado por sus reacciones de coloración con la p-fenilendiamina, benzidina, anilina y potasa. Y con dicho ácido he realizado una única experiencia de ensayo de su actividad a elevada concentración (19) frente a *Staphylococcus aureus* estirpe H, *E. coli*, *B. mycoides*, *Mycobac. phlei* y *Ps. aeruginosa*, y únicamente he apreciado ligera inhibición del Estafilococo y del *Mycobacterium phlei* y alguna mayor inhibición del *B. mycoides*, *Escherichia coli* y *Ps. aeruginosa* no han sido inhibidos en su crecimiento.

He intentado extraer ácido úsnico de mis ejemplares de *Cetraria islandica*, pero hasta el presente no lo he logrado. Sin embargo, la gran actividad de los extractos crudos del líquen islándico frente a las cinco especies de *Mycobacterium* sobre las que he ensayado me inclinan a creer que pueda ser debido al ácido úsnico, cuya presencia en *Cetraria islandica* ha sido puesta en evidencia, como antes dije, por el Profesor Stoll y colaboradores.

CONCLUSIONES

Los extractos de *Cetraria islandica* poseen actividad antibacteriana *in vitro* frente a las siguientes bacterias: *B. mycoides*, *Staphylococcus aureus* estirpes sensibles y resistentes a la penicilina, *Mycobacterium tuberculosis avium*, *Mycobacterium paratuberculosis smegmatis*, *Mycobacterium paratuberculosis grassberger*, *Mycobacterium paratuberculosis phlei* y *Mycobacterium ranae*.

Los extractos de *Cetraria islandica* no han revelado *in vitro* por las técnicas seguidas ninguna actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

(19) Dispersión muy fina al 2,5 por 100 en disolución tampón fosfatos de pH 7.

SUMMARY

The crude extracts of *Cetraria islandica* have antibacterial activity against: *B. mycoides*, *Staphylococcus aureus*, strains resistant and sensitive to penicillin, *Mycobacterium tuberculosis avium*, *Mycobacterium paratuberculosis smegmatis*, *Mycobacterium paratuberculosis grasberger*, *Mycobacterium paratuberculosis phlei* and *Mycobacterium ranae*.

The crude extracts of *Cetraria islandica* have not revealed *in vitro* any activity against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*.

Laboratorio de Fisiología Vegetal.
Jardín Botánico. Madrid (marzo 1951).