

INHIBICIÓN DE *Gardnerella vaginalis* POR EXTRACTOS VEGETALES UTILIZADOS EN EL NORORIENTE Y SUROCCIDENTE DE GUATEMALA PARA EL TRATAMIENTO DE VAGINITIS

Cinthya Samayoa, María del Carmen Palacios y Armando Cáceres.
Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,
Universidad de San Carlos de Guatemala.

RESUMEN

Las infecciones vaginales se encuentran entre los problemas que con más frecuencia se presentan en ginecología. La vaginosis por *Gardnerella vaginalis* es la más común presentándose en el 40% de los casos que se reportan. El tratamiento indicado es con metronidazol el cual es un fármaco que puede causar efectos secundarios. Los objetivos del proyecto fueron encontrar alternativas de tratamiento, validar experimentalmente la acción antimicrobiana de once plantas medicinales de uso popular en Guatemala en el tratamiento y contribuir a proveer a la población con opciones farmacológicas efectivas y accesibles. Las plantas fueron identificadas y se prepararon extractos etanólicos a los cuales se les determinó la actividad contra dos cepas de *G. vaginalis* preparando una mezcla de agar-extracto en cajas de petri, obteniendo una concentración de extracto de 1 mg/mL. Las cajas con agar-extracto fueron inoculadas con las cepas por cuadruplicado, obteniéndose una inhibición en el crecimiento en siete de los 11 extractos, a los que se les determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), presentando actividad a una concentración de 0.5 mg/mL los extractos de *Solanum americanum*, *Baccharis trinervis*, *Stachytarpheta cayennensis*, *Sterculia apetala*, *Salvia lavanduloides*, *Vernonia deppeana* y *Tabebuia rosea*. Estos resultados demuestran una actividad moderada de los extractos, lo que valida en alguna forma su uso popular.

INTRODUCCIÓN

La mayoría de vaginitis y secreciones vaginales sintomáticas son causadas por bacterias, como *Gardnerella vaginalis* que provoca una vaginosis, por la levadura *Candida albicans* y el protozoo *Trichomonas vaginalis*, que provocan una vaginitis. El término vaginosis difiere de vaginitis, por que en la primera hay un incremento en la descarga de flujo, sin inflamación significativa y asociada a la ausencia relativa de polimorfonucleares, mientras que en la segunda, además existe una marcada inflamación y presencia de polimorfonucleares. La vaginosis por *G. vaginalis* es la más común, presentándose en un 40 a 50% de mujeres con afecciones vaginales (1-3).

Los síntomas reportados con más frecuencia son el incremento de la descarga vaginal, puede haber irritación y prurito, pero la presencia de síntomas no corresponde exactamente a un diagnóstico clínico. El diagnóstico es realizado a través del examen del flujo vaginal, detectando la presencia de tres de las cuatro características siguientes: flujo vaginal, homogéneo, de color blanco-grisáceo y de olor desagradable; pH del fluido vaginal mayor a 4.5; prueba de producción de aminas positiva; y presencia de células guía (células clave) en el montaje en fresco (1, 4, 5).

Este proceso, tiene mayor prevalencia en mujeres embarazadas y en aquellas que usan dispositivos intrauterinos o anticonceptivos orales. También es un factor de riesgo para desarrollar otras patologías más graves como: enfermedad pélvica

inflamatoria, neoplasia intraepitelial del cérvix, aborto, parto prematuro, endometritis e incremento en la adquisición de infección por Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) (4-7).

Para el tratamiento de vaginosis por *G. vaginalis*, las drogas de elección son los derivados de los imidazoles, siendo el metronidazol el más usado el cual puede causar efectos secundarios como cefalea, náusea, regusto metálico y diarrea entre otros. En Guatemala la medicina natural ha sido utilizada desde generaciones antiguas, principalmente en el área rural, a la cual la mayoría de pacientes recurren al uso de plantas a las que se les atribuyen propiedades curativas, sin existir una base científica que confirme su verdadera acción farmacológica. Por esa razón, el presente estudio evaluó la actividad contra *G. vaginalis* de algunos extractos de plantas de uso popular en el tratamiento de afecciones vaginales (7, 8).

Existen varios estudios que demuestran la actividad de diversas plantas, comprobándoseles actividad antibacteriana, antifúngica, antiprotozoaria y antihelmíntica. En Guatemala han realizado pocos estudios sobre la actividad contra *G. vaginalis* *in vitro* de las plantas medicinales utilizadas por la población en tratamientos de vaginitis, pudiéndose mencionar a Montes qui en 1993 estudió la actividad antibacteriana *in vitro* contra *G. vaginalis* de seis plantas de la flora guatemalteca, de las cuales cinco presentaron actividad antibacteriana (9).

En el estudio se evaluó la actividad contra *G. vaginalis*

11 plantas utilizadas para tratamiento de vaginitis en el nororiente y suroccidente del país, de las cuales aún se desconocía su efectividad en la actividad atribuida, las plantas seleccionadas fueron: Nororiente: *Baccharis trinervis* Lam., *Cornutia pyramidata* L., *Quercus crispifolia* Trelease, *Stachytarpheta cayennensis* L.Rich, *Sterculia apetala* Jacq y *Tabebuia rosea* Bertol. Suroccidente: *Acalypha pseudoalopecuroides* Pax & Hoffm, *Hypericum uliginosum* HBK, *Salvia lavanduloides* HBK, *Solanum americanum* Miller, *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray y *Vernonia deppeana* Less.

Se utilizó como control positivo un estándar de metronidazol, que es el fármaco de elección para el tratamiento de *G. vaginalis* (10).



Figura 1: Fotografía de las plantas con bioactividad

Preparación del extracto

Al obtener las plantas se identifican, secan y muelen, ya molidas se pesan 400 g si son densas (corteza, rizoma, semilla) o 100 g si son hojas. La materia pesada se coloca en un percolador con etanol al 95 % y se deja reposar de 12 a 24 horas. El extracto se concentra en rotavapor hasta llegar a una consistencia semisólida. El extracto se vierte en una placa de cristalización tarada y rotulada, y se coloca en una desecadora durante 7-15 días. Cuando el extracto tiene consistencia sólida, se pasa a viales debidamente tarados y rotulados. Se calcula el rendimiento del extracto y se almacena en viales a 4°C (11).

Obtención de las cepas de *G. vaginalis*

Se consiguió la autorización del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) y del Hospital General San Juan de Dios para realizar un muestreo de las pacientes que asisten por infecciones vaginales.

El muestreo se realizó así: Primero se verificó que la sintomatología y aspecto del flujo vaginal de la paciente indicaran

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de las plantas en estudio

Las plantas se seleccionaron mediante la recopilación de la información obtenida por CEMAT, a través de encuestas dirigidas a personas que conocen y utilizan plantas medicinales para el tratamiento de infecciones vaginales. Se detectaron alrededor de 100 plantas, de las cuales se seleccionaron 11, de acuerdo a su accesibilidad, frecuencia de uso y que no hayan sido sometidas a estudios previos. Se efectuó una revisión bibliográfica de las plantas y se obtuvo el material vegetal que fue proporcionado por el Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos Farmaya, S.A. Figura 1.

que la causa de la infección fuera posiblemente *G. vaginalis*. Luego se procedió a tomar la muestra del cuello del útero o de la vagina con un hisopo estéril, dependiendo de donde provenga el flujo. El hisopo se frotó firmemente en el área escogida, se colocó en el medio de transporte (Stuart) y se llevó la muestra lo antes posible al laboratorio para realizarle las pruebas de identificación.

La muestra se sembró en el medio de cultivo Agar Columbia-Acido Nalidixico (CNA) en doble capa, colocando el inóculo con el hisopo y luego estriando con un asa en argolla, las cajas sembradas se colocaron en una jarra con candela e incubaron a 36°C durante 24 horas.

Se observó el crecimiento obtenido en las cajas y se seleccionaron colonias pequeñas que presentaban β -hemólisis, las cuales se resembraron para purificar la cepa y se les realizaron las prueba de identificación de *G. vaginalis*.

Preparación de cajas con agar-extracto

Se prepara una solución de cada extracto con una concentración de 10 mg/mL, la que se esterilizó por filtración

con Millipore (0.2 µm), y se le efectuó una prueba de esterilidad en agar Muller-Hinton.

El agar-planta se prepara mezclando 9 mL de agar CNA con sangre humana y 1 mL de la solución de extracto disuelto, obteniendo una concentración final de extracto de 1 mg/mL. Las cajas se dejaron solidificar y se incuban a 36°C durante 24 horas para comprobar esterilidad.

Preparación del inóculo

Se inoculó una asada de cada cultivo puro en un tubo con 5.0 mL de caldo tripticasa soya e incubó a 36°C durante 48 horas. Luego se realizó una dilución 1:100, para obtener el inóculo a utilizar.

Determinación de la actividad ante *G. vaginalis*

Las cajas con agar-extracto se inocularon con una asada de cada cepa, haciendo cuatro repeticiones para cada una. Dejar reposar durante 5 a 10 minutos e incubar en anaerobiosis a 36°C durante 24 horas. Como control negativo se utilizó una caja con 9 mL de Agar CNA con sangre humana y 1 mL de etanol al 50% y como control positivo se utilizó una caja con 9 mL de Agar CNA con sangre humana y 1 mL de estándar de metronidazol.

Interpretación de resultados

Actividad negativa: Crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.

Actividad positiva: Ausencia de crecimiento a lo largo del inóculo.

Contaminación: Crecimiento bacteriano fuera del inóculo.

A los extractos que presentaron actividad positiva se les determinó

la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM).

Determinación de la CIM

Se prepararon cajas de Petri cuadruplicate con diluciones seriadas del extracto. En cada uno de los cuadrantes se inocularon cuatro estrías de la cepa y se incubaron en anaerobiosis a 36°C durante 24 horas. La interpretación de los resultados se realizó siguiendo los mismos criterios presentados en el inciso anterior. Figura 2.

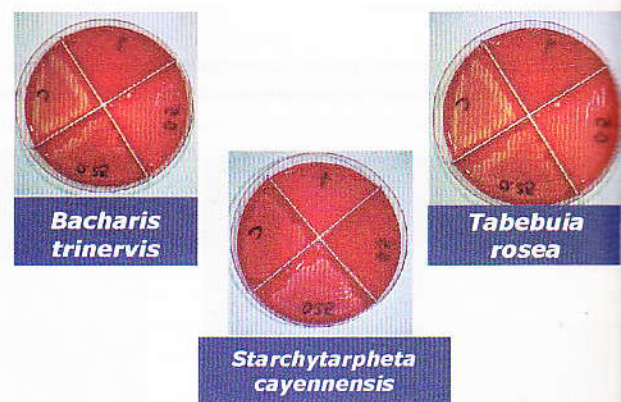


Figura 2: Concentración inhibitoria mínima de los extractos.

Diseño experimental

Tipo de estudio: Experimental

Variable independiente: Plantas usadas para tratamiento de vaginitis en Guatemala.

Variable dependiente: La actividad contra *G. vaginalis* de los extractos etanólicos de las plantas seleccionadas.

Tabla 1. Información general y rendimiento de las especies estudiadas

Nombre científico	Nombre común	Lugar de origen	Usos	Parte	Voucher #	Rend (%)
<i>B. trinervis</i>	Barba fina	Alta Verapaz	Infección vaginal	tallo	643	34.50
<i>C. pyramidata</i>	Flor lila	Alta Verapaz	Flujo vaginal	hoja	724	15.60
<i>N. lobata</i>	Tres puntas	Alta Verapaz	Leucorreas	hoja	458	23.60
<i>Q. crispifolia</i>	Encino	Alta Verapaz	Flujo vaginal	tallo	754	5.60
<i>S. cayennensis</i>	Verbena azul	Alta Verapaz	Enfermedades venéreas	hierba	501	16.85
<i>S. apetala</i>	Castaño	Petén	Flujo vaginal	hoja	280	10.22
<i>T. rosea</i>	Matiliguete	Jalapa	Infección vaginal	hoja	343	10.10
<i>A. pseudoalopeuroides</i>	Hierba del cáncer	San Marcos	Enfermedades venéreas	hoja		24.72
<i>H. uliginosum</i>	Retij	San Marcos	Inflamación	hoja	970	19.50
<i>S. lavanduloides</i>	Salvia de monte	San Marcos	Flujo vaginal	hoja	735	17.74
<i>S. americanum</i>	Macuy	Suchitepéquez	Leucorrea	hoja	294	28.30
<i>T. diversifolia</i>	Mirasol	Suchitepéquez	Lavado vaginal	hoja	684	11.41
<i>V. deppeana</i>	Suquinay	Suchitepéquez	Hemorragia vaginal	hoja		8.31

RESULTADOS

Selección de las plantas

Se seleccionaron 11 plantas utilizadas en el nororiente y suroccidente de Guatemala para el tratamiento de vaginitis (Tabla 1), de acuerdo a su accesibilidad, a su frecuencia de uso y que no habían sido sometidas a estudios previos. Se presentan los nombres comunes, científicos y los usos que se les dan a dichas plantas.

Obtención de extractos

Se prepararon extractos etanólicos de las plantas seleccionadas, obteniéndose el porcentaje de rendimiento del extracto etanólico de cada una basándose en la relación del peso inicial de la materia vegetal seca y el peso final del extracto (Tabla 1).

Actividad contra *G. vaginalis*

En el tamizaje preliminar a una concentración de 1 mg/mL, los extractos etanólicos de *C. pyramidata*, *Q. crispifolia*, *N. lobata*, *A. pseudoalopecuroides*, *H. uliginosum* y *T. diversifolia* no presentaron actividad contra *G. vaginalis*; siendo los extractos positivos *B. trinervis*, *S. cayennensis*, *S. apetala*, *T. rosea*, *S. lavanduloides*, *S. americanum* y *V. deppeana* (Tabla 2).

A los extractos que demostraron actividad contra *G. vaginalis*, se les determinó la CIM obteniendo para *B. trinervis*, *S. cayennensis*, *T. rosea* y *S. americanum* una concentración de 0.5 mg/mL, mientras que *S. apetala*, *S. lavanduloides* y *V. deppeana* demuestra actividad a una concentración de 1 mg/mL (Tabla 4).

Tabla 2.
Tamizaje de la actividad de los extractos etanólicos contra *G. vaginalis* (1 mg/mL)

Extracto etanólico	Actividad
<i>A. pseudoalopecuroides</i>	-
<i>B. trinervis</i>	+
<i>C. pyramidata</i>	-
<i>H. uliginosum</i>	-
<i>N. lobata</i>	-
<i>Q. crispifolia</i>	-
<i>S. americanum</i>	+
<i>S. apetala</i>	+
<i>S. cayennensis</i>	+
<i>S. lavanduloides</i>	+
<i>T. diversifolia</i>	-
<i>T. rosea</i>	+
<i>V. deppeana</i>	+

Tabla 3
CIM de la actividad contra *G. vaginalis* de los extractos etanólicos

Extracto etanólico	CIM (mg/ml)
<i>B. trinervis</i>	0.5
<i>S. americanum</i>	0.5
<i>S. apetala</i>	1
<i>S. cayennensis</i>	0.5
<i>S. lavanduloides</i>	1
<i>T. rosea</i>	0.5
<i>V. deppeana</i>	1

DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se puede observar que las once plantas seleccionadas cumplen con los requerimientos necesarios para el estudio, ya que son utilizadas por la población del nororiente y suroccidente de Guatemala en el tratamiento de diversos tipos de problemas vaginales como leucorreas, infecciones, flujos vaginales y enfermedades venéreas.

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos del tamizaje realizado con los extractos etanólicos contra *G. vaginalis*, encontrándose que de los once extractos seis no presentan actividad (*C. pyramidata*, *Q. crispifolia*, *N. lobata*, *A. pseudoalopecuroides*, *H. uliginosum* y *T. diversifolia*), a pesar de que se utilizan para tratar infecciones vaginales. La inactividad de *N. lobata* fue inesperada, ya que esta planta ha sido sometida a varios estudios en los cuales se ha comprobado que posee actividad contra bacterias (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *Salmonella typhi*) y protozoos (*L. mexicana*, *T. cruzi* y *T. vaginalis*).

Por otro lado, siete de los once extractos etanólicos presentaron actividad contra *G. vaginalis* en el tamizaje, *B. trinervis*, *S. cayennensis*, *S. apetala*, *T. rosea*, *S. americanum*, *V. deppeana* y *S. lavanduloides*. A estos extractos se les determinó la CIM (Tabla 4), observándose que *B. trinervis*, *S. cayennensis*, *S. americanum* y *T. rosea* presentan una CIM de 0.5 mg/mL, lo que demuestra una actividad moderada contra *G. vaginalis* de estos extractos, por lo que solamente podrían utilizarse a nivel comunitario en preparaciones caseras, no para preparaciones farmacéuticas, porque su concentración inhibitoria no alcanza los valores aceptados para la elaboración de medicamentos.

Respecto al porcentaje de rendimiento obtenido por cada planta (Tabla 2), se puede concluir que *B. trinervis* es la de mejor rendimiento (34.50%), y presenta actividad contra *G. vaginalis* a una concentración de 0.5 mg/mL, lo que la hace la planta más efectiva del estudio realizado.

La obtención de estos resultados confirma la hipótesis planteada y dan lugar para continuar realizando estudios sobre la actividad farmacológica que presenta la variedad de flora existente en nuestro país, no solo para tratar infecciones vaginales sino también para otros tipos de patologías y así seguir validando su uso proporcionando a la población nuevas opciones de tratamientos confiables y accesibles.

Esta investigación aportó datos importantes confirmando la actividad de cuatro plantas utilizadas por la población del nororiente de Guatemala para el tratamiento de vaginitis, validando su uso comunitario.

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y al Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos Farmaya, S. A.

REFERENCIAS

1. El Manual Merck. 9ª ed. España: Harcourt Brace Sociedad Anónima, 1997. 3122p.
2. Morales AS. Inhibición *in vitro* de *Trichomonas vaginalis* por extractos acuosos y vegetales de uso popular. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de Graduación, Facultad de ciencias Químicas y Farmacia) 1990. 89p.
3. Massó G, *et al.* Medicina Interna. España: Masson, Sociedad Anónima, 1997. Vols. 2, Vol. 1, 1938p.
4. Acevedo L. Aplicación de la Técnica de Papanicolaou en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2001. 65p.
5. Koneman, *et al.* Diagnóstico microbiológico. 3a. Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1992. 910p.
6. Montes AL. Estudio de la Actividad antibacteriana *in vitro* contra *Gardnerella vaginalis* de seis plantas de la flora Guatemalteca. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1993. 79p.
7. Holmes KK, *et al.* Sexually Transmitted Diseases. United States of America: Editorial McGraw-Hill, 1984. 1079p.
8. Hardman JG, *et al.* Goodman & Gilman Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 9ª ed. España: Interamericana McGraw-Hill, Vols. 2, Vol. 2, 1996. 199p.
9. Beard CM, *et al.* Lack of evidence for cancer due to use of metronidazole. N Engl J Med 1979; 10:519-522.
10. Ocampo RA. Domesticación de plantas medicinales en Guatemala. Guatemala: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, 1994. 132p.
11. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria, 1996. 402p.