

## **Evaluación de la actividad antibacteriana de quercetina frente a cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas a partir de casos de mastitis bovina.**

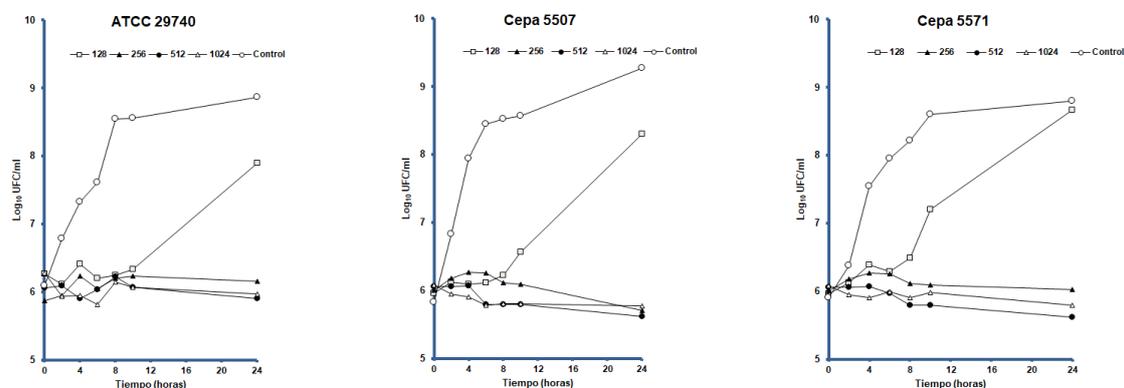
Storani, G.; Diaz David, D.C.; Fernández, H.R.; Picco, E.J.

Cátedra de Farmacología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral.  
[ginostorani@hotmail.com](mailto:ginostorani@hotmail.com)

Uno de los principales microorganismos responsable de las infecciones intramamarias que afectan a los bovinos en todo el mundo es el *Staphylococcus aureus*, causando importantes pérdidas económicas para los productores y la industria. Esto determina que la terapia antimicrobiana sea una de las bases de los programas de control de mastitis teniendo por objeto eliminar al agente. Hoy en día, la presencia de bacterias resistentes a antibióticos sigue su marcha inexorable, por lo que se postula que el descubrimiento de antibióticos más potentes no es la única solución a esta amenaza. Una alternativa a este problema podría ser el uso de compuestos naturales con propiedades antibacterianas, tal el caso de quercetina, un flavonoide que se encuentra en frutas y verduras, sobre el cual se han reportado también otras propiedades biológicas, como ser actividad anticancerígena, antiinflamatoria, antiviral, antioxidante y psicoestimulante <sup>2</sup>. En lo que hace a la actividad antimicrobiana, se ha visto que disminuye el crecimiento de cepas patógenas de *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*, entre otros microorganismos, además de disminuir la generación de ciertos factores de patogenicidad <sup>1,2</sup>. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la actividad de quercetina frente a cepas de *S. aureus* aisladas de vacas en lactación afectadas por mastitis.

Este estudio se desarrolló empleando como microorganismo de referencia a la cepa de *S. aureus* ATCC 29740 (*Newbould 305*), por haber sido originalmente aislada a partir de un caso de mastitis, dos cepas de *S. aureus* aisladas a campo, y un estándar analítico de quercetina dihidrato (99,3%, Santa Cruz Biotechnology), diluido en dimetilsulfóxido. En una primera etapa se estimó la concentración mínima inhibitoria (CIM), por macrodilución en caldo Mueller-Hinton, donde un inóculo de  $1 \times 10^6$  unidades formadoras de colonias (UFC) de cada una de las cepas de *S. aureus* se enfrentó a diluciones aritméticas 1:1 de quercetina en un rango de concentraciones de entre 16 a 1024  $\mu\text{g/mL}$ . Los ensayos se realizaron por duplicado incubándose en estufa a  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$  durante 24 horas. La CIM fue definida como la menor dilución de quercetina que evitó el desarrollo bacteriano visible. En una segunda etapa se caracterizó el comportamiento cinético de la actividad antibacteriana de quercetina mediante curvas de muerte bacteriana. Las bacterias fueron expuestas a concentraciones fijas equivalentes a 128, 256, 512 y 1024  $\mu\text{g/mL}$ . Un inóculo fue cultivado en ausencia de fármaco e incubado en estufa bajo idénticas condiciones para la construcción de la curva de crecimiento testigo. De cada cultivo se obtuvieron alícuotas de 0,1 mL al tiempo cero y luego de 2, 4, 6, 8, 10 y 24 horas de crecimiento. Éstas se diluyeron en solución salina isotónica a  $4^\circ\text{C}$  y una alícuota de cada última dilución fue extendida sobre la superficie de una placa de agar Mueller-Hinton e incubada  $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Todas las curvas se construyeron por duplicado y los valores de UFC/mL fueron estimados por el factor de corrección correspondiente. El número de bacterias viables en cada tiempo de muestreo fue expresado como el promedio de conteos realizados en cada repetición.

En las tres cepas bajo estudio la CIM de quercetina fue de 256  $\mu\text{g/mL}$ . La evolución temporal de la población bacteriana de estas cepas luego de haber sido expuesta a distintas concentraciones de quercetina respecto al crecimiento control se muestran representadas gráficamente en la Figura 1. Puede apreciarse que concentraciones de 256  $\mu\text{g/mL}$  o superiores demostraron actividad bacteriostática, pero sin encontrar diferencias significativas al incrementar en 4 veces la CIM, en tanto que la concentración de 128  $\mu\text{g/mL}$  si bien disminuyó el crecimiento bacteriano de forma significativa durante las primeras 8 horas, no consiguió desarrollar actividad bacteriostática.



**Figura 1.** Evolución de la masa bacteriana de *S. aureus* expuesta a diferentes concentraciones de quercetina.

El valor de CIM obtenido en este ensayo se encuentra dentro del rango reportado por otros autores para *S. aureus* meticilino sensibles aisladas en muestras de origen humano, donde se mencionan valores de entre 128 a 1024 µg/mL, lo cual nos permite corroborar la débil actividad antimicrobiana que presenta el compuesto bajo estudio<sup>2,3</sup>. No obstante ello, merece destacarse que con las concentraciones de 128 µg/mL consiguió demorarse el desarrollo bacteriano en las primeras 8 horas post tratamiento. Un efecto similar fue descrito al valorar la actividad frente a *S. epidermidis*, donde se reprimía el crecimiento entre las 2 y 8 horas, ya que a partir de allí el microorganismo se recuperaba, no encontrándose diferencias respecto al crecimiento control a las 24 horas post inoculación<sup>4</sup>. Entre los efectos que desarrolla quercetina y que podrían explicar su accionar bacteriostático frente a *S. aureus* podemos mencionar su capacidad para afectar la síntesis de peptidoglicano, así como el aumento en la permeabilidad de la membrana citoplasmática. Este efecto bacteriostático podría ser aprovechado combinándola con fármacos antimicrobianos de uso corriente a fin de potenciar su actividad<sup>1,4</sup>.

## Bibliografía

- 1- Carrada López, G.; Castañón Sánchez, C. (2018). Quercetina atenúa la virulencia de *Staphylococcus aureus* al disminuir la secreción de alfa toxina. *Rev. Arg. Microbiol.*, 50, 131-135.
- 2- Jaisinghani, R. (2017). Antibacterial properties of quercetin. *Microb. Res.*, 8:6877, 13-14.
- 3- Kyaw, B.; Schchi, A.; Lim, C. 2012. Bactericidal antibiotic-phytochemical combinations against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Braz. J. Microbiol.*, 43, 938-945
- 4- Siritwong, S.; Teethaisong, Y.; Thumanu, K.; Dunkhunthod, B.; Eumkeb, G. (2016). The synergy and mode of action of quercetin plus amoxicillin against amoxicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *BMC Pharmacol. Toxicol.*, 17, 39.