

Eficacia antibacteriana *in vitro* del alumbre napolitano sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*

Jean Carlos Páucar Caro ¹

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 15/10/2017

Aprobado: 01/12/2017

Autor corresponsal

Jean Carlos Páucar Caro.
jeancarlo.pibe11@gmail.com

Financiamiento

Autofinanciado

Conflictos de interés

Ninguno

Citar como

Páucar Caro JC. Eficacia antibacteriana *in vitro* del alumbre napolitano sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Rev Peru Med Integrativa.2017;2(4):823-7.

Resumen

Objetivo. Evaluar la eficacia antibacteriana *in vitro* del alumbre napolitano, adquirido en una herbolaria de la ciudad de Trujillo, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. **Materiales y métodos.** Se obtuvo alumbre napolitano "natural" en una herbolaria comercial, el cual se trituró y diluyó en agua estéril para obtener soluciones con concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%. Estas fueron colocadas en discos de papel filtro y ubicadas en placas Petri con cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se utilizó como control positivo la dilución en cloruro de sodio al 0,9% de piperacilina/tazobactam 4/0,5 mg. Se midieron los halos de inhibición obtenidos después de 48 h en mm. **Resultados.** Los mayores promedios de diámetros en halos de inhibición se encontraron en las soluciones de alumbre napolitano con concentraciones al 100%, en el caso de *Staphylococcus aureus* (18,7±3,2 mm) y 75% en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (15,0±1,8 mm). Sin embargo, estos fueron menores a los encontrados en el control positivo (68,2±3,7mm y 65,6±4,0 mm, respectivamente). Se observó una relación dosis-dependiente, mayor en los cultivos de *Staphylococcus aureus* ($R^2=0,614$; $p<0,001$) que en los cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* ($R^2=0,483$; $p<0,001$). **Conclusión.** Se encontró efecto antibacteriano en todas las concentraciones de alumbre napolitano (alumbre de potasio), con los mejores efectos en la concentración al 100% contra las cepas de *Staphylococcus aureus* y 75% en el caso de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Palabras clave: Compuestos de Alumbre; Antibacterianos /análisis; Medicina Tradicional; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*. (Fuente: DeCS BIREME).

In vitro anti-bacterial effect of napolitan alum on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* cultures

Abstract

Objective. To evaluate antibacterial effect in vitro of napolitan alum commercially acquired in an herbal store in Trujillo, on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Materials and Methods.** Commercial napolitan alum was pulverized and diluted in sterile water to obtain solutions at 25%, 50%, 75% and 100%. These solutions were added to *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* cultures on Petri dishes. The dilution of Piperacilina/Tazobactam 4/0.5 mg on saline solution at 0.9% was used as positive control. The zone of inhibition was measured in mm after 48 h. **Results.** The highest zones of inhibition were founded at 100% concentration (18.7±3.2 mm) on *Staphylococcus aureus* cultures; and at 75% (15.0±1.8 mm) on *Pseudomonas aeruginosa* cultures. However, these results were lower than zones of inhibition founded in positive control (68.2±3.7mm and 65.6±4.0 mm, respectively). A dose-dependent relationship was observed in both cases, higher on *Staphylococcus aureus* cultures ($R^2=0.614$; $p<0.001$) than *Pseudomonas aeruginosa* cultures ($R^2=0.483$; $p<0.001$). **Conclusion.** Antibacterial effect was founded in all concentrations of napolitan alum, but solutions at 100% and 75% showed the best results in *Staphylococcus aureus* cultures and *Pseudomonas aeruginosa* cultures, respectively.

Keywords: Alum Compounds; Anti-bacterial agents/analysis; Medicine, Traditional; *Staphylococcus aureus*; *Pseudomonas aeruginosa*. (Source: MeSH NLM).

¹ Facultad de Medicina. Universidad Peruana Antenor Orrego (UPAO)

Introducción

Las enfermedades infecciosas constituyen una de las primeras causas de morbilidad a nivel mundial, especialmente en países de bajos ingresos, donde la transición epidemiológica hacia las enfermedades crónicas no transmisibles no se ha desarrollado de una manera clásica ⁽¹⁾. En Perú, durante el año 2015, las enfermedades infecciosas representaron una importante proporción de las 20 primeras causas de morbilidad en consulta externa en los establecimientos de salud ⁽²⁾.

Uno de los problemas que se desprenden de este contexto, es la aparición de cepas resistentes al tratamiento antibiótico ⁽³⁾. Por ejemplo, desde mediados de los 90 ya se conocía que en hospitales de Lima había altas probabilidades de encontrar cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente (MRSA) ⁽⁴⁾. En el caso de los Gram negativos, estudios más recientes, también realizados en esta ciudad, han encontrado que más del 70% de cepas aisladas de *Escherichia coli* son productoras de β -lactamasas de espectro extendido y son resistentes a la mayoría de antibióticos, especialmente las quinolonas ⁽⁵⁾. De forma similar, en Trujillo, se describió la existencia de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* con una resistencia elevada a medicamentos como ceftazidima (71%), aztreonam (62%) e imipenem (47%) ⁽⁶⁾.

Por otro lado, la población peruana suele usar frecuentemente prácticas médicas que son transmitidas de generación en generación, en forma de tradición oral, incluso antes de acudir a un establecimiento de salud convencional ^(7,8). Dentro de estas prácticas se encuentra el uso de alumbre napolitano, también denominado, alumbre de potasio. Este compuesto es una sal doble de aluminio y potasio hidratada cuya fórmula es $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ ⁽⁹⁾, la cual es usada en la medicina tradicional asiática, como un agente antibacteriano cuando es diluida en agua ⁽¹⁰⁾. Estudios previos, han corroborado el potencial antimicrobiano de este agente ante algunos serotipos de *Vibrio cholerae* ⁽¹¹⁾, *Shigella dysenteriae* ⁽¹²⁾ o *Escherichia coli* ^(13,14).

En nuestro país, Mejía Gálvez *et al.* ⁽¹⁵⁾ observaron que el uso del alumbre es más frecuente de lo que se cree, ya que por lo menos un 29% de la población reconoce su uso y un 27% lo acepta como una terapia alternativa o complementaria. Adicionalmente, un estudio piloto ⁽¹⁶⁾ determinó que existía una alta probabilidad de que el efecto antimicrobiano ante cepas de *Staphylococcus aureus* o *Pseudomonas aeruginosa* pueda ser dosis-dependiente.

Sin embargo, el control en los insumos usados en los mencionados estudios no permite determinar si lo proporcionado al público en espacios como las herbolarias o los mercados, realmente muestra los efectos experimentalmente hallados. Por ende, el objetivo de este estudio es evaluar la eficacia antibacteriana *in vitro* del alumbre napolitano, adquirido en una herbolaria de la ciudad de Trujillo, sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Materiales y métodos

Obtención del alumbre de potasio (alumbre napolitano)

El alumbre de potasio se consiguió en una herbolaria comercial de productos naturales, en la ciudad de Trujillo (agosto 2017), como venta libre, solicitándose la variedad de "alumbre natural". Posteriormente a ello, se procedió a su verificación en el Laboratorio de Farmacología de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT) por parte de un profesional químico-farmacéutico experto en farmacognosia.

Obtención de las concentraciones del alumbre napolitano

El alumbre napolitano sólido se trituroó en un mortero hasta obtener un polvo. Posteriormente, este polvo se pesó en una balanza analítica (Ohaus Mold Adventurer) y se dividieron grupos de 2,5 mg, 5,0 mg, 7,5 mg y 10,0 mg para conformar cuatro concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%, respectivamente). Los volúmenes de los vehículos fueron calculados utilizando una espátula de laboratorio.

Los grupos de alumbre en polvo fueron colocados en vasos de precipitado a los que se les adicionó 10 mL de agua estéril (medida en jeringa descartable de 10 mL), para lograr una dilución líquida sin cristales visibles. A continuación, el contenido fue vertido en frascos ámbar de 30 mL, en los cuales se titularon las concentraciones correspondientes y se pusieron a refrigerar para no variar la dilución.

La decisión de tomar estas concentraciones se basó en el estudio piloto realizado previamente ⁽¹⁶⁾, donde se determinó que los halos de inhibición se formaban a partir de concentraciones de 25% en adelante.

Medición de la actividad antimicrobiana

Las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* fueron cultivadas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo, lugar en donde se llevó a cabo la obtención de las cepas silvestres con caldo de cultivo Mueller – Hinton; posteriormente, se introdujo

en la estufa a 37 °C para el crecimiento de cada especie. Los cultivos se hicieron en placas Petri y, al mismo tiempo, se procedió a la administración de las cuatro concentraciones de alumbre napolitano en discos de papel filtro (10 mL). El control positivo fue el fármaco piperacilina/tazobactam 4/0,5 mg (Pharmagen® Lote 102122), el cual fue diluido en 20 mL de cloruro de sodio al 0,9% y también impregnado en papel filtro. Estos discos se colocaron en 10 repeticiones por cada concentración y en cada cepa de las bacterias mencionadas; luego todas las placas se incubaron a 37 °C en la estufa durante 48 h.

Se observó el crecimiento de las cepas en los medios de cultivo, junto con la aparición de halos de inhibición alrededor de cada disco colocado por cada placa Petri. Posteriormente, con la ayuda de una regla, se procedió a marcar y medir el diámetro del área inhibitoria (en mm) por cada placa, haciendo la anotación correspondiente.

Consideraciones éticas

Para la realización del presente estudio se obtuvo la aprobación del proyecto por parte de la Comisión de Investigación de la Escuela de Medicina Humana de la Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO), así como el permiso del coordinador del área de Microbiología de la UNT. Finalmente, se obtuvo la exoneración de revisión del estudio por parte del Comité de Investigación de la Universidad Privada Antenor Orrego (UPAO), debido a que los métodos no involucran el uso de material biológico proveniente de seres humanos o animales de experimentación.

Análisis estadístico

Los resultados de los halos de inhibición en los diferentes grupos se mostraron en medias y desviaciones estándar, debido a que cumplieron criterios de normalidad (prueba de Shapiro Wilks con un $p > 0,05$). Para determinar la diferencia del efecto antibacteriano entre los grupos, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis, con prueba *post hoc* de Tukey. Se consideró estadísticamente significativo un $p < 0,05$, con un nivel de confianza del 95%. Se contó con el apoyo de una hoja de cálculo de Microsoft Excel 2016® y el programa STATA v 12.0® para el análisis estadístico respectivo.

Tabla 1. Promedios de halos de inhibición en grupo control y por concentraciones de alumbre de potasio, de acuerdo con la cepa estudiada

| Cepa en estudio | Piperacilina /tazobactam 4/0,5 mg | Alumbre de potasio | | | |
|------------------------------|--------------------------------------|--------------------|----------|----------|----------|
| | | 25% | 50% | 75% | 100% |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 68,2±3,7 | 10,0±1,1 | 14,0±2,9 | 14,9±1,8 | 18,7±3,2 |
| <i>Pseudomona aeruginosa</i> | 65,6±4,0 | 9,8±1,2 | 12,1±2,0 | 15,0±1,8 | 14,7±2,4 |

Resultados

El grupo control positivo con piperacilina /tazobactam 4/0,5 mg fue el que produjo halos de inhibición con mayor diámetro en los cultivos de todos los microorganismos estudiados. En el caso del alumbre napolitano, los mayores promedios de diámetros en halos de inhibición se encontraron en la concentración de 100% (*Staphylococcus aureus*) y 75% (*Pseudomona aeruginosa*), (Tabla 1).

Se encontraron diferencias significativas en la comparación de los halos de inhibición entre todos los grupos ($p < 0,001$) en ambas cepas. Al ejecutar la prueba *post hoc* (Tukey) se encontró que, en el análisis de cultivos de *Staphylococcus aureus*, los grupos de alumbre al 50% y alumbre al 75% tuvieron desempeños similares ($p = 0,998$). A diferencia de los cultivos de *Pseudomona aeruginosa*, en donde, el grupo de alumbre al 50% tuvo resultados similares a los grupos que recibieron alumbre al 25% ($p = 0,509$), al 75% ($p = 0,194$) y al 100% ($p = 0,332$) (Gráfico 1).

Se observó una relación dosis-dependiente en el efecto antibacteriano, mayor en los cultivos de *Staphylococcus aureus* ($R^2 = 0,614$; $p < 0,001$) que en los cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* ($R^2 = 0,483$; $p < 0,001$)

Discusión

En el presente estudio se pudo encontrar que existe eficacia antibacteriana por parte del alumbre de potasio (alumbre napolitano) desde concentraciones del 25%, tanto para Gram positivos como *Staphylococcus aureus* y Gram negativos como *Pseudomona aeruginosa*.

Abass Bnyan *et al.*⁽¹⁴⁾, realizaron un experimento similar donde encontraron halos de inhibición de 20 mm con el uso de alumbre al 20%, y de 35 mm en el caso del alumbre al 50%. Asimismo, Faraj⁽¹⁷⁾ evaluó el desempeño de una solución de alumbre de 1 mg/mL, en cepas de *Staphylococcus aureus* encontrándose un halo de 27 mm. Estas cifras están por

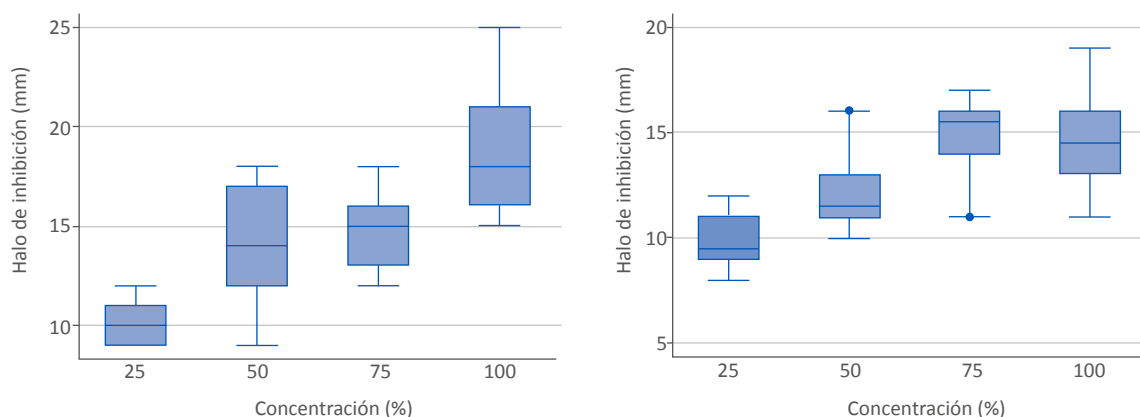


Gráfico 1. Promedios de halos de inhibición por concentraciones de alumbre napolitano en cultivos de *Staphylococcus aureus* (A) y *Pseudomona aeruginosa* (B).

encima de lo encontrado en este estudio; $10,0 \pm 1,1$ mm en el alumbre al 25% y $14,9 \pm 1,8$ mm en el grupo con alumbre al 50%.

En el caso de la evaluación de la eficacia antibacteriana del alumbre en cepas de *Pseudomona aeruginosa*, la situación fue similar a lo descrito con las cepas de *Staphylococcus aureus*; donde estudios previos encontraron halos de inhibición de 25 mm⁽¹⁴⁾, 35 mm⁽¹⁸⁾ o 29 mm⁽¹⁹⁾ en preparaciones con concentraciones entre 50 y 60% de alumbre. Todos estos resultados fueron superiores a lo hallado en el presente estudio, donde los halos de inhibición tuvieron diámetros desde los 9,8 mm hasta 15 mm (en la solución con concentración al 75%).

Este estudio tuvo algunas limitaciones que podrían explicar parcialmente los resultados encontrados, en primer lugar, este experimento se realizó con un insumo obtenido comercialmente, a pesar de que fue correctamente caracterizado por una experta, no se realizó una identificación química objetiva con procedimientos estandarizados, por lo que no se descarta que el alumbre pueda haber estado contaminado con otros materiales que hagan que no se muestre la eficacia antibacteriana mostrada en estudios anteriores. Un estudio previo realizado

en plantas medicinales⁽²⁰⁾ obtenidas comercialmente ya ha probado que no existe uniformidad en los insumos ofrecidos ni en las dosis o modos de uso sugeridos, por lo que se sugiere que se debería realizar un nuevo estudio que confronte los resultados obtenidos por el alumbre obtenido en herbolarias y el elaborado en condiciones de laboratorio.

En segundo lugar, se sugiere que futuros estudios realicen una mejor caracterización del efecto antibacteriano, por ejemplo, evaluando las concentraciones mínimas inhibitorias, en donde las preparaciones de alumbre han mostrado buen desempeño⁽²¹⁾. De forma similar, también se propone que futuras investigaciones incluyan un mayor espectro de especies, similares a lo encontrado en el biofilm dental, donde también el alumbre ha mostrado tener un efecto antibacteriano, incluso superior a algunos antibióticos de uso rutinario^(19,22).

Se concluye que se observó efecto antibacteriano en todas las concentraciones de alumbre napolitano (alumbre de potasio), adquirido en una herbolaria en la ciudad de Trujillo, con los mejores efectos en la concentración al 100% contra las cepas de *Staphylococcus aureus* y 75% en el caso de las cepas de *Pseudomona aeruginosa*. Estos efectos fueron menores a los encontrados en experiencias previas.

Referencias bibliográficas

1. Dye C. After 2015: infectious diseases in a new era of health and development. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2014;369(1645):20130426.
2. Ministerio de Salud, Oficina General de Tecnologías de Información. Principales causas de morbilidad en consulta externa de establecimientos MINSA y Gobiernos Regionales Perú-Año 2015. [Internet]. 2016 [citado 2 de febrero de 2018]. Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/morbilidad/cemacros.asp?00>
3. Laboratorio de infecciones intrahospitalarias, Instituto Nacional de Salud (Perú). Informe de la resistencia anti-

- microbiana en bacterias de origen hospitalario-2012 [Internet]. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2012. 9 p. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/cnsp_resanti_informesdevigilancia/INFORME_RESISTENCIA_ANTIMICROBIANA_2012.pdf
4. Echevarria Zarate J, Iglesias Quilca D. Estafilococo Metilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Rev Medica Hered.* octubre de 2003;14(4):195–203.
 5. García C, Horna G, Linares E, Ramírez R, Tapia E, Velásquez J, *et al.* Antimicrobial Drug Resistance in Peru. *Emerg Infect Dis.* marzo de 2012;18(3):520–1.
 6. Luján-Roca DA, Ibarra-Trujillo JO, Mamani-Huamán E. Resistencia a los antibióticos en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en un hospital universitario en Lima, Perú. *Rev Bioméd.* 2008;19(3):156–60.
 7. Borja A. Medical Pluralism in Peru--Traditional Medicine in Peruvian Society [Internet] [Tesis Magistral]. [Peru]: Brandeis University, Graduate School of Arts and Sciences; 2010 [citado 14 de marzo de 2017]. Disponible en: <http://bir.brandeis.edu/handle/10192/23882>
 8. Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). Perú: Percepción sobre la medicina tradicional de hogares urbanos. [Internet]. Instituto Nacional de Estadística e Informática; 1997. Disponible en: <http://proyectos.inei.gob.pe/web/biblioineipub/bancopub/Est/Lib0030/cap07.htm>
 9. Salama EM. A Novel Use for Potassium Alum as Controlling Agent Against *Periplaneta americana* (Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol.* diciembre de 2015;108(6):2620–9.
 10. Tang Z-Y, Lin Y, Yang X-L, Wei W, Tang Z-Y. Inhibitory effect of potassium alum on smooth muscle contraction of rabbit and its mechanism. *Chin J Integr Med.* 10 de julio de 2014;
 11. Chowdhury MA, Huq A, Xu B, Madeira FJ, Colwell RR. Effect of alum on free-living and copepod-associated *Vibrio cholerae* O1 and O139. *Appl Environ Microbiol.* agosto de 1997;63(8):3323–6.
 12. Dutta S, De SP, Bhattacharya SK. In vitro antimicrobial activity of potash alum. *Indian J Med Res.* julio de 1996;104:157–9.
 13. Shahriari R, Salari S, Shahriari S. In vitro study of concentration-effect and time-course pattern of white alum on *Escherichia coli* O157:H7 GROWTH. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 13 de enero de 2017;14(2):311–8.
 14. Bryan IA, Alta'ee AH, Kadhum NH. Antibacterial Activity of Aluminum Potassium Sulfate and Syzygium Aromaticum Extract Against Pathogenic Microorganisms. *J Nat Sci Res.* 2014;4(15):11–4.
 15. Gálvez JAM, R EC, R JLM, S SAF. Conocimiento, aceptación y uso de medicina tradicional peruana y de medicina alternativa/complementaria en usuarios de consulta externa en Lima Metropolitana. *Rev Peru Med Integrativa.* 18 de julio de 2017;2(1):47.
 16. Páucar Caro J. Eficacia antibacteriana *in vitro* del alumbre napolitano sobre *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* para establecer concentración efectiva. 2016; Universidad Privada Antenor Orrego.
 17. Faraj BM. Evidence for feasibility of aluminum potassium sulfate (alum) solution as a root canal irrigant. *J Baghdad Coll Dent.* 2012;24(Special Is):1–5.
 18. Al Ani MN. Evaluation of some prepared solutions from some medical plants and chemicals on *Pseudomonas aeruginosa*. [Tesis para obtener Diploma Postgraduación]. [Baghdad]: Institute of Genetic Engineering and Biotechnology for Postgraduate Studies, Baghdad University.; 2004.
 19. Huda Hadi M. In vitro Antibacterial Activity of Propolis, Alum, Miswak, Green and Black Tea, Cloves Extracts Against *Porphyromonas Gingivalis* Isolated from Periodontitis Patients in Hilla City, Iraq. *Am J Phytomedicine Clin Ther.* 2013;1(2):140–8.
 20. Bussmann RW, Paniagua-Zambrana N, Chamorro MR, Moreira NM, del Rosario Cuadros Negri ML, Olivera J. Peril in the market-classification and dosage of species used as anti-diabetics in Lima, Peru. *J Ethnobiol Ethnomedicine.* 2013;9:37.
 21. Taj A, Baqai R. Antimicrobial effects of Alum and Sulphur on bacteria isolated from Mineral and Hospital water. *Infect Dis J Pak.* 2007;15(1):10–3.
 22. Jiménez DC, Rambo B. Efecto del alumbre de potasio sobre el crecimiento de bacterias Gram positivas del biofilm dental (estudio *in vitro*). Huánuco 2014. Univ Nac Hermilio Valdizán [Internet]. 2014 [citado 14 de febrero de 2018]; Disponible en: <http://repositorio.unheval.edu.pe/handle/UNHEVAL/706>