

## ACȚIUNEA BACTERIOSTATICA A EXTRACTELOR OBTINUTE DIN HERBA AGRIMONIAE ASUPRA DIFERITELOR TULPINI DE MICOBACTERII

Mária Péter-Horváth, G. Rácz, M. Péter

Părțile aeriene ale plantei *Agrimonia eupatoria* L. (Rosaceae) sînt larg folosite în medicina populară din țara noastră, mai ales în tratamentul unor boli pulmonare (9).

Speciile genului *Agrimonia* sînt utilizate și în medicina empirică din alte țări; astfel *Drobotko* și colab. (2) le citează între plantele folosite pentru gargară, datorită presupusului efect dezinfectant. În aceeași lucrare, *Agrimonia eupatoria* figurează și în lista plantelor administrate de medicina populară în stări febrile și infecții enterale. În medicina empirică chineză, după *Ibraghimov* și colab. (4) părțile aeriene de *Agrimonia eupatoria* se întrebuințează în boli hepatobiliare, precum și în stomatite aftoase.

Toate aceste date empirice ne permit să presupunem, că extractele obținute din speciile de *Agrimonia* au o oarecare acțiune antibiotică. Într-adevăr, *Martinez* (5) efectuînd un studiu sistematic asupra proprietăților fitoncide ale plantelor vasculare din diferite regiuni ale R. S. Cehoslovace, a găsit că un extract alcoolic obținut din *Agrimonia eupatoria* inhibă dezvoltarea bacteriilor „*Micrococcus aureus*, *M. albus*, *Bacillus mesentericus*, *B. subtilis*”. Conform datelor cuprinse în lucrarea citată a lui *Drobotko* și colab. (2) acțiunea antimicrobiană a acestei plante a fost studiată față de „*Staphylococcus aureus*”, *Bacterium diphtheriae*, *Bacillus mesentericus* și *Bacterium pertussis*”: din această lucrare mai rezultă că nu s-a urmărit acțiunea față de micobacterii.

*Hasegawa* și colab. (3) urmărind efectul antibiotic al unui număr de 3.000 plante din Japonia, au fost primii care în anul 1958 au semnalat, alături de o serie de alte specii de plante cu efect similar, că extractele de *Agrimonia* inhibă dezvoltarea unor tulpini de *Mycobacterium*. Extractele au fost obținute din *A. pilosa* Ledeb. var. japonica Nakai, respectiv f. nipponica Ohari.

Datele experimentale referitoare la acțiunea antibiotică a extractelor de *Agrimonia* nu au fost obținute ca rezultat al unui studiu consacrat în mod special acestei probleme, ci au fost semnalate cercetînd acțiunea unui mare număr de diferite plante. În această situație am considerat că este necesar să stabilim in vitro presupusa acțiune antimicrobiană a extractelor obținute din *Herba Agrimoniae*.

### Partea experimentală

#### Material și metodă

Părțile aeriene ale plantei *A. eupatoria* L. au fost recoltate în vara anului 1962, din grădina botanică și din grădina de plante medicinale ale Institutului de medicină și farmacie din Tirgu-Mureș, precum și din flora spontană în stare înflorită.

Din planta uscată la temperatura camerei am preparat un extract fluid (1 ml extract = 1 gr produs brut), prin extracție apoasă, urmată de evaporare în vid (60° C).

O parte a extractului a fost debarasată de materii tanante cu ajutorul prafului de piele.

Extractul avind o reacție acidă, am ajustat pH-ul la 7,2—7,4 potențimetric. Extractul a fost sterilizat prin tindalizare.

În experiențele noastre am urmărit acțiunea extractelor asupra următoarelor micobacterii: *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*: H<sub>37</sub> Rv, Ratti, 1545, 3, 1659, 2741; var. *avium*; var. *bovis*; Vallée; *Mycobacterium smegmatis*, precum și 3 tulpini de tip uman rezistent față de 10 γ/ml streptomycină, 25 γ/ml PAS și 10γ/ml HIN. Tulpinile notate cu numere arabe au fost recent izolate, provenind din diferite materiale patologice (spută și urină).

Extractele au fost înglobate în mediul de cultură, în cantități diferite, obținând diluții finale de 1/5, 1/10 și 1/50. Am folosit mediul Löwenstein, mediul Dubos solid și bulion glicerinat. Din fiecare tulpină am însămânțat cu cite o ansă pe suprafața lor. Mediile au fost incubate la 37°C. Rezultatele au fost citite după 2—4—6 săptămâni, iar notarea intensității de creștere am făcut-o de la + (creștere slabă) pînă la + + + + (creștere abundentă). Concomitent am folosit ca martor aceleași medii fără extract.

Pentru studierea modificărilor metabolice am ales 4 tulpini, la care am efectuat reacția de catalază cu metoda *Middlebrook* (6) și cu metoda *Rist* (10), reacția citochimică cu roșu neutru după metoda lui *Dubos-Middlebrook* (8) și reacția de reducere a nitraților cu metoda descrisă de *Virtanen* și de *Boisvert* modificată de *László* (1).

Pe lângă examinările biochimice am înregistrat totodată și modificările microscopice efectuind de pe fiecare mediu, cite un frotiu colorat cu metoda lui *Ziehl-Neelsen*.

### Rezultate

Rezultatele referitoare la acțiunea bacteriostatică a extractului de *Herba Agrimoniae*, asupra tulpinilor de micobacterii pe mediu Löwenstein, sînt cuprinse în tabelul nr. 1.

Din datele tabelului nr. 1 se constată că acțiunea bacteriostatică a extractelor nu a fost uniformă, asupra diferitelor tulpini de micobacterii. Așa de ex. nu s-a putut constata nici un efect în cazul tulpinilor: *M. smegmatis*, *M. avium* și *M.*

Tabelul nr. 1.

Nr. crt.	Denumirea tulpinilor	Diluții			Martor
		1/50	1/10	1/5	
1.	<i>M. tuberculosis</i> var. <i>hominis</i> : H <sub>37</sub> R v	+++	++	+	+++
2.	<i>M. tuberculosis</i> var. <i>hominis</i> : Ratti	+++	+	--	++++
3.	<i>M. tuberculosis</i> var. <i>hominis</i> : 3	+++	++	+	++++
4.	<i>M. tuberculosis</i> var. <i>hominis</i> : 1545	+++	+	--	+++
5.	<i>M. tuberculosis</i> var. <i>hominis</i> : 1659	+++	+	--	+++
6.	<i>M. tuberculosis</i> var. <i>hominis</i> : 2741	+++	++	--	+++
7.	<i>M. tuberculosis</i> var. <i>bovis</i> : Vallée	+++	++	+	++++
8.	<i>M. tuberculosis</i> var. <i>avium</i> :	+++	+++	+++	+++
9.	<i>M. smegmatis</i>	+++	+++	+++	+++
10.	<i>M. tuberculosis</i> var. <i>hominis</i> :				
	- rezistent: la streptomycină (10γ/ml)	+++	+	--	+++
11.	- rezistent: la PAS (25γ/ml)	+++	+	--	+++
12.	- rezistent: la HIN (10γ/ml)	+++	+++	+++	+++

tuberculosa var. *hominis* rezistent față de HIN. În cazul tulpinilor *M. tuberculosis* var. *hominis* 3, Vallée, H<sub>37</sub> Rv și 2741 efectul inhibitor a fost moderat, iar la tulpinile 1545, Ratti, rezistente față de streptomycină și PAS a fost considerabil.

Pe mediul Dubos și cu bulion glicerinat am înregistrat aceleași rezultate. În cercetările efectuate cu extract lipsit de materii tanante, efectul inhibitor nu a dispărut ci a fost doar proporțional diminuat.

Un exemplu din rezultatele înregistrate în tabelul nr. 1. este redat în figura nr. 1.

Pe lângă studiul acțiunii bacteriostatice a extractelor am cercetat și modificările metabolice și enzimactice, cuprinse în tabelul nr. 2.

Tabelul nr. 2.

Nr. crt.	Denumirea tulpinilor	Diluția	Catalaze %	Catalaze	Dubos-Middlebrook	Reducerea nitraților
1.	M. tuberculosis var. hominis: H <sub>37</sub> RV	M	90	++	++	++
2.	M. tuberculosis var. hominis: H <sub>37</sub> RV	1/10	70	+	++	++
3.	M. tuberculosis var. hominis: H <sub>37</sub> RV	1/5	30	-	++	+
4.	M. tuberculosis var. hominis: Ratti	M	100	++	++	++
5.	M. tuberculosis var. hominis: Ratti	1/10	90	++	++	++
6.	M. tuberculosis var. hominis: Ratti	1/5	-	-	+	+
7.	M. tuberculosis var. hominis: 2741	M	80	-+	++	++
8.	M. tuberculosis var. hominis: 2741	1/10	50	++	++	++
9.	M. tuberculosis var. hominis: 2741	1/5	-	-	+	-
10.	M. tuberculosis var. bovis: Vallée	M	90	++	++	+
11.	M. tuberculosis var. bovis: Vallée	1/10	90	++	++	+
12.	M. tuberculosis var. bovis: Vallée	1/5	50	-	++	+

M = martor.

Din examinările noastre biochimice rezultă că tulpinile expuse acțiunii extractelor din Herba Agrimoniae suferă alterări metabolice considerabile. Modificarea cea mai pronunțată o constituie scăderea activității catalazice. Chiar și modificările mai puțin semnificative, observate la reacția de reducere a nitraților și la reacția citochimică Dubos-Middlebrook, pledează pentru faptul că extractul folosit produce modificări însemnate în metabolismul tulpinilor.

Transformările microscopice au fost studiate în frotiuri colorate cu Ziehl-Neelsen. Am putut observa chiar la diluția de 1/10 la un număr însemnat de bacili, scăderea colorabilității ajungând până la pierderea totală a acidorezistenței în fiecare câmp microscopic. Totodată am putut vedea bacili cu citoplasmă ramolită și cu granulațiile libere.

Este bine cunoscut faptul că în urma contactului dintre tuberculostatice și micobacterii se produc modificări profunde ale proprietăților morfologice, tinctoriale, de creștere, de metabolism, de virulență, de patogenitate etc. Nasta (7), Stavri (11) și alții au arătat că bacili hidrazidorezistenți sînt lipsiți în echipamentul lor enzimatic de catalaze sau pierd activitatea catalazică în raport cu gradul de rezistență. S-a observat deci o oarecare corelație între gradul de rezistență și activitatea catalazică. Observațiile noastre în privința diminuării sau pierderii totale a activității catalazice în diluția de 1/5 indică o analogie cu fenomenele observate în urma contactului cu hidrazidă a acidului izonicotic.

### Concluzii

1. Un efect inhibitor semnificativ am putut observa în cazul tulpinilor *Mycobacterium tuberculosis* var. hominis: 1545, 1659, 2741, Ratti precum și în cazul tulpinilor rezistente la streptomycină și PAS.

MĂRIA PÉTER-HORVÁTH ȘI COLAB.: ACȚIUNEA BĂCTERIOSTATICĂ  
A EXTRACTELOR OBȚINUTE DIN HERBA AGRIMONIAE...



Fig. nr. 1: Efectul bacteriostatic al extrac-tului de Agrimonia asupra Mycobacterium tuberculosis var. hominis: Ratti (c - mar-tor, 1/50, 1/10 și 1/5 = diluții).

2. Nu am observat nici o acțiune bacteriostatică în cazul tulpinilor *Mycobacterium tuberculosis avium*, *M. smegmatis*, *M. tbc. var. hominis* rezistente la HIN.

3. În urma efectului extractelor am observat modificări biochimice (reducerea activității catalazice) și morfologice (pierderea acidorezistenței).

*Sosit la redacție: 25 ianuarie 1964.*

#### Bibliografie

1. BOISVERT H.: *Annales de l'Inst. Pasteur* (1961), 100, 3, 352; 2. DROBOTKO V. G., AISENMAN B. E., SVAIGHER M. D., ZELEPUHA S. I., MANDRIK T. P.: *Antimicrobnie vescestva visșih rastenii*. Izd. Acad. Nauk. Ukr. RSSR, Kiev (1958); 3. HASEGAWA S., TANABE S., SHIOZAWA F., NAKAGAKI H.: *Japan J. Exp. Med.* (1958), 28, 139; 4. IBRAGHIMOV F. J., V. S. IBRAGHIMOVA: *Osnovnie lekarstvennie sredstva kitaiskoi medișini*. Medghiz. Moskva (1960); 5. MARTINEC T.: *Spisy vydavane prirodovedeckon facultaton Masarykovy university v Brne*. c 361 p. 17—34 (1955); 6. MIDDLEBROOK G.: *Amer. Rev. Tbc.* (1954), 69, 471; 7. NASTA M., ALGEORGE G., GEORGESCU P., CIOCLOV V., NEGULESCU V., PĂUNESCU E.: *Cercetări de fiziologie* (1957), 6, 393; 8. OPRESCU C. C.: *Infecția cu micobacterii*. Edit. Acad. R.P.R. (1963); 9. RÁCZ G.: *Farmacia* (1960), 8, 97; 10. RIST N., KREIS B.: *Bull. de l'Union Internationale contre la Tuberc.* (1956), 26, 3—4, 214; 11. STAVRI NATALIA, BUSUIOC ASPASIA, TIMOSCA SOFIA: *Revista Medico-Chirurgicală* (1962), LXVI, 1, 161.

