

## Evaluación de la Actividad Antibacteriana In Vitro de los Aceites de Cannabis Indica y Cannabis Híbrida Frente a Cepas de Microorganismos

*Evaluation Of The In Vitro Antibacterial Activity Of Cannabis Indica And Cannabis Hybrid Oils Against Strains Of Microorganisms*

Thiago Jacobi Pacheco  
Maria Helena Gauto Lesme  
Geovani Duarte Meireles

Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Central del Paraguay  
Pedro Juan Caballero, Amambay, Paraguay

### Resumen

Debido al gran aumento de los factores de resistencia a los medicamentos en relación con sus acciones terapéuticas, la etnofarmacología aborda una nueva perspectiva para un reposicionamiento de compuestos. El *Cannabis* tiene una rica composición con aproximadamente 560 compuestos, donde se destaca algunas subespecies como *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* y *Cannabis ruderalis* agregado al *Cannabis híbrido* lo que dio como resultado la mezcla genética de indica y sativa. La presente investigación es un estudio experimental descriptivo realizado *in vitro*, cuyos resultados han sido demostrados cuantitativamente. Los microorganismos utilizados en el estudio fueron los siguientes: *S. aureus* - ATCC 25923, *K.pneumoniae* - ATCC 700603, *E.coli* - ATCC 25922, *P.aeruginosa* - ATCC 27853. En base a los datos obtenidos, se puede concluir que los aceites de *Cannabis* utilizados han mostrado un potencial antimicrobiano en tres de las cuatro cepas de bacterias estudiadas en la investigación, mientras que *P. auriginosa* no presentó ninguna alteración en presencia de ambos aceites.

**Palabras claves:** *Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, *Cannabis híbrido*

### Abstract

Due to the great increase in drug resistance factors in relation to their therapeutic actions, ethnopharmacology addresses a new perspective for a repositioning of compounds. Cannabis has a rich composition with approximately 560 compounds, we can highlight some subspecies such as *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* and *Cannabis ruderalis*, adding to the hybrid Cannabis, which resulted in the genetic mixture of indica and sativa. The present investigation is a descriptive experimental study carried out *in vitro* and quantitatively demonstrated the results. The microorganisms used in the study were the following: *S. aureus* - ATCC 25923, *K.pneumoniae* - ATCC 700603, *E.coli* - ATCC 25922, *P.aeruginosa* - ATCC 27853. Based on the data obtained, we can conclude that the oils of Cannabis used in this study showed an antimicrobial potential in three of the four strains of bacteria studied in the investigation, while *P. auriginosa* did not present any alteration in the presence of both oils

**Keywords:** *Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, Hybrid Cannabis

## Introducción

Debido al creciente aumento de la resistencia a los medicamentos y la escasez de opciones terapéuticas efectivas, la etnofarmacología ha surgido como una nueva perspectiva para el reposicionamiento de compuestos en el tratamiento de diversas enfermedades, especialmente en el caso de los antimicrobianos (1)(2).

El cannabis, popularmente conocido como marihuana, se convierte en un tema controvertido debido a la falta de legislación sobre su consumo. La planta posee una composición rica, con aproximadamente 560 compuestos, de los cuales 144 son catalogados como cannabinoides, 200 son terpenoides y presenta una concentración significativa de flavonoides (3).

Entre los compuestos cannabinoides, destacan cuatro: el  $\Delta$ -9-tetrahidrocannabinol ( $\Delta$ 9-THC), el  $\Delta$ -8-tetrahidrocannabinol ( $\Delta$ 8-THC), el canabino (CBN) y el cannabidiol (CBD). La concentración de estos compuestos varía dependiendo de la parte de la planta estudiada, pero en general están compuestos por tres anillos: un ciclohexano, un tetrahidropirano y un benceno, generando una estructura de aproximadamente 21 átomos de carbono (4).

El aceite de cannabis, obtenido a través de la extracción de la resina, es rico en  $\Delta$ 9-THC, con una concentración superior al 50%, y posee una alta acción psicoactiva debido a su naturaleza lipofílica amorfa, lo que facilita su absorción en el organismo según la vía de administración. Por otro lado, el CBD, el segundo compuesto más abundante y conocido, no tiene efectos psicoactivos, pero se ha descrito ampliamente su acción neuroprotectora, así como su efecto anticonvulsivante, antiinflamatorio y su acción directa sobre el sistema inmunológico (4).

Los estudios sobre los efectos del cannabis en el organismo se iniciaron en la década de 1960 para comprender los mecanismos de acción de los cannabinoides. Se identificaron dos tipos de receptores, CB1 (localizados en el sistema nervioso central) y

CB2 (presentes en el sistema periférico), y se descubrieron cannabinoides endógenos similares al  $\Delta$ 9-THC, que interactúan con las células de manera similar a una "llave y cerradura". Uno de los cannabinoides endógenos de interés fue la anandamida. Estos descubrimientos fueron fundamentales para aceptar el uso de compuestos cannabinoides en la investigación de diferentes tratamientos según sus acciones (5).

El cannabis es actualmente la droga ilícita más consumida en el mundo y puede generar dependencia. Entre las especies de cannabis se destacan *Cannabis sativa*, *Cannabis indica* y *Cannabis ruderalis*, además de los híbridos resultantes de la mezcla genética de indica y sativa, lo que da como resultado una composición química indeterminada (4)(5).

Con el objetivo de realizar una investigación más profunda sobre la acción del cannabis, este estudio se centra en observar la acción antimicrobiana de los aceites de cannabis frente a cuatro cepas de bacterias, con el fin de describir su acción bactericida y bacteriostática.

## Fundamento Teórico

Según informan en sus estudios Appendino *et al* (2008), y Sionov & Steinberg (2022), el uso medicinal del *Cannabis* está registrado principalmente por el Emperador Chino Shen Nung considerado "El Padre de la Medicina China" quien lo utilizó para dolores reumáticos, estreñimiento, trastornos ginecológicos entre otros y los mismos investigadores encontraron acción *Cannabis Sativa* contra las siguientes cepas de microorganismos: *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*.(3)(8)

Ali y colaboradores presentan en su estudio la acción antimicrobiana de la *Cannabis Sativa* contra bacterias Gram positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus*

*aureus*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) además de un hongo filamentoso (*Aspergillus niger*) y una cepa de candida (*Candida albicans*), cuya mejor acción bactericida fue contra el *Bacillus subtilis* y una moderada acción contra el *Staphylococcus aureus*, ya contra los hongos no presentaron ninguna acción.(9)

Isahq et al (2015) demostraron en su investigación la acción del aceite de Cannabis Indica frente a las siguientes cepas: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis*, todos ellos sensibles a la presencia del aceite, demostrando una acción bactericida del Cannabis Indica (8).

En un estudio realizado en 2020 se verificó la acción antimicrobiana del CBD frente a cepas clínicamente importantes de bacterias Gram positivas y Gram negativas, siendo observado una acción totalmente eficaz contra *S. aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, presentando una teoría de correlación de la pared celular a una acción de compuesta visto que las Gram negativas *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* tienen una camada delgada de peptidoglicano frente a las Gram positivas. (10)

### Metodología

La presente investigación es un estudio experimental descriptivo realizado *in vitro*, cuyos resultados han sido demostrados cuantitativamente. La misma fue realizada en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Central del Paraguay.

Los aceites fueron probados contra los microorganismos utilizados en el estudio *S. aureus* - ATCC 25923, *K.pneumoniae* - ATCC 700603, *E.coli* - ATCC 25922, *P.aeruginosa* - ATCC 27853, todos del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Central del Paraguay.

Los aceites de *Cannabis Indica* y *Cannabis Hibrida* han sido obtenidos por donación de un médico paraguayo para los fines de este estudio, no aportando

información sobre la forma de extracción del aceite. La concentración contiene los siguientes compuestos: Aceite de *Cannabis Indica* THC 90.7% y CBD 0.28% y, aceite de *Cannabis Hibrida* THC 90.8% y CBD 0.29%.

La técnica utilizada es denominada Concentración Inhibitoria Mínima (MIC, por sus siglas en inglés) mediante una dilución seriada según lo establece el protocolo CLSI M100-s26 2012, las diluciones han sido desde una relación de 1:1 hasta una relación de 1:2048 (11).

Además, se empleó la técnica de Disco de Difusión utilizando 10 µL de cada aceite esencial, que se colocaron en discos de papel filtro, dejándolos en reposo por 24 horas en un frasco estéril. Posteriormente, los discos fueron aplicados siguiendo la técnica de difusión de disco y realizándose la interpretación a las 24 horas de la inoculación. Durante todo este período, se mantuvo la muestra en una estufa a 35°C ±2.

### Resultados

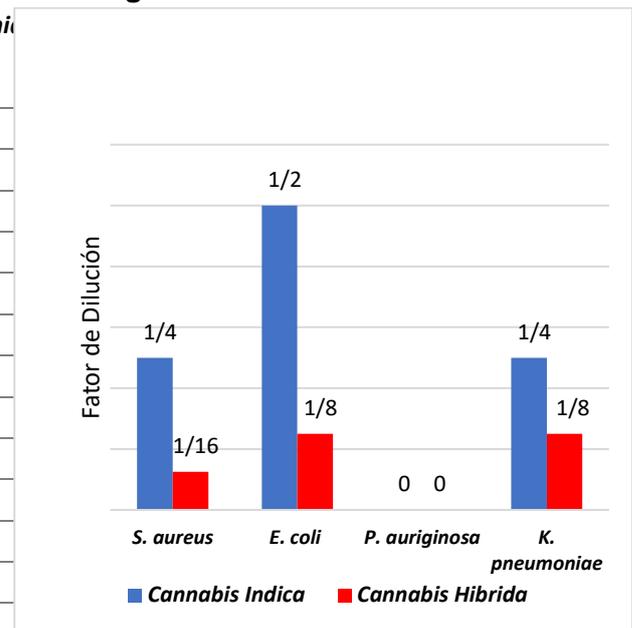
Entre los microorganismos estudiados en esta investigación, todos presentaron resistencia a tres clases de antibióticos, como se muestra en la tabla 1. Los Betalactámicos, Lincosamidas y Péptidos actúan como inhibidores de la síntesis de la pared celular y de la síntesis proteica. Por otro lado, el *S. aureus* y la *P. aeruginosa* también mostraron resistencia a la Rifampicina, la cual tiene como mecanismo de acción inhibir la síntesis de ácidos nucleicos. Además, la *K. pneumoniae* presentó resistencia a las Quinolonas, además de las mencionadas anteriormente, también actúan como inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos. (12)

**Tabla 01 Relación de microorganismos frente a los antibióticos.**

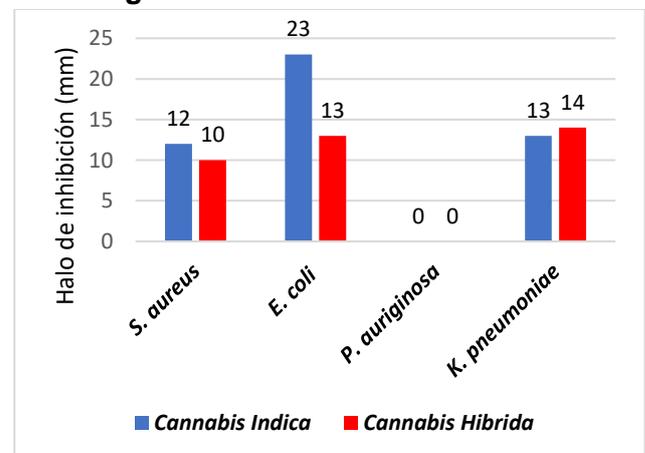
Antibiótico	<i>S.aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>
SBA	R	S	R	S
RIF	R	S	R	S
VAN	R	S	R	R
CLI	R	R	R	R
PEN	R	R	R	R
GEN	S	S	S	S
AMP	R	S	R	R
OXA	R	R	R	R
ERI	S	S	S	S
CFE	R	S	R	R
AZI	S	S	S	S
AMC	R	S	R	S
BAC	R	R	R	R
CIP	S	S	S	R
CFL	R	S	R	R
CLO	S	S	S	S

Leyenda: SBA(Sulbactam+Ampicilina), RIF(Rifampicina), VAN(Vancomicina), CLI(Clindamicina), PEN(Penicilina G), GEN(Gentamicina), AMP(Ampicilina), OXA(Oxacilina), ERI(Eritromicina), CFE(Cefalexina), AZI(Azitromicina), AMC(Ácido Clavulánico+Amoxicilina), BAC(Bacitracina), CIP(Ciprofloxacina), CFL(Cefalotina), CLO(Cloranfenicol).

Como se mencionó anteriormente, se pueden observar los mecanismos de acción de los antibióticos de cinco formas diferentes, abarcando todas las clases de antibióticos, lo que permite elucidar todas las acciones probadas en este estudio de acuerdo con su sensibilidad y resistencia. (12)

**Gráfico 1: Comparativo de las concentraciones frente a los microorganismos.**

Fuente: Autoría propia.

**Gráfico 2: Comparativo del halo de inhibición de crecimiento de los microorganismos.**

Fuente: Autoría propia.

El *S. aureus* mostró resistencia a seis tipos de antibióticos, incluyendo penicilinas, cefalosporinas de primera generación, rifampicina, lincosamidas, glucopeptídicos y polipéptidos. Sin embargo, presentó una alta sensibilidad a los aceites de cannabis probados. Se observó que con la presencia del aceite de cannabis indica, se obtuvo un halo de sensibilidad de 12 mm en la técnica de difusión en disco, y se observó un patrón de

dilución en la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de 1/4, lo que indica una importante acción bactericida y bacteriostática contra este patógeno. Por otro lado, con el aceite de cannabis híbrida, se obtuvo un halo de 10 mm y una CIM de 1/16, lo que demuestra que, entre los dos aceites de cannabis, el de cannabis indica presenta una mejor acción antimicrobiana frente a este patógeno en comparación con el de cannabis híbrida.

La *E. coli* mostró resistencia a tres tipos de antibióticos, incluyendo penicilinas, lincosamidas y polipéptidos. En cuanto a su respuesta in vivo frente a la acción de los aceites de cannabis, se observó que es más sensible a la Cannabis Indica que a Cannabis Híbrida. Esto se evidencia en los resultados de la CIM y la difusión en disco, donde el Cannabis Indica mostró una dilución de 1/2 y un halo de 23 mm, mientras que el Cannabis Híbrida presentó una dilución de 1/8 y un halo de 13 mm.

La *P. aeruginosa* mostró resistencia a seis tipos de antibióticos, incluyendo penicilinas, cefalosporinas de primera generación, rifampicina, lincosamidas, glucopeptídicos y polipéptidos. No mostró sensibilidad alguna a los aceites de cannabis, ya sea indica o híbrida, lo que indica un patrón de resistencia a todos los compuestos de los aceites probados, caracterizando a esta cepa como resistente, tanto a la Cannabis Indica como a Cannabis Híbrida.

La *K. pneumoniae* mostró resistencia a seis tipos de antibióticos, incluyendo penicilinas, cefalosporinas de primera generación, quinolonas, lincosamidas, glucopeptídicos y polipéptidos. Sin embargo, presentó una sensibilidad considerable a los aceites de cannabis probados en este estudio. Al interpretar las técnicas utilizadas, se observó que el Cannabis Indica mostró un patrón de dilución de 1/4 en la CIM, mientras que el Cannabis Híbrida mostró una dilución de 1/8. En la técnica de difusión en disco, el Cannabis Híbrida mostró un halo de 14 mm, mientras que el Cannabis Indica mostró uno de 13 mm. En general, el Cannabis Indica

presentó una mejor respuesta in vivo frente a la *K. pneumoniae*.

Después de realizar una comparación de los resultados, se puede concluir que los aceites de cannabis demuestran una acción antimicrobiana positiva, como se muestra en la tabla 2, que realiza una comparación de las técnicas utilizadas en el estudio.

**Tabla 02: Relación de los Aceites de Cannabis con la concentración inhibitoria mínima (CIM), el halo y de la Unidad formadora de colonia (UFC), frente a los microorganismos.**

Aceite de Cannabis	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	
Cannabis Indica	CIM	1/4	1/8	1/4
	Halo	12mm	23mm	13mm
	UFC	2,7x10 <sup>-2</sup> UFC/ml	4,12x10 <sup>-5</sup> UFC/ml	2,65x10 <sup>-7</sup> UFC/ml
Cannabis Híbrida	CIM	1/16	1/2	1/8
	Halo	10mm	13mm	14mm
	UFC	2,5x10 <sup>-2</sup> UFC/ml	1,7x10 <sup>-4</sup> UFC/ml	2,82x10 <sup>-7</sup> UFC/ml

Fuente: Autoría propia.

## Conclusión

A partir de los datos obtenidos, se puede concluir que el aceite de cáñamo utilizado en este estudio posee potencial antibacteriano contra tres de las cuatro cepas bacterianas probadas, sin embargo, la *Pseudomonas aeruginosa* no mostró cambios en presencia de ninguno de los dos aceites, lo cual indica que no fue eficaz para controlar esta cepa en particular.

Estos hallazgos apuntan a la necesidad de realizar más investigaciones sobre la eficacia y la utilidad de los efectos antimicrobianos de los aceites y extractos de cáñamo. Existe una gran demanda de investigación sobre el uso del cannabis en el tratamiento de trastornos neurológicos, por lo que se necesita más investigación para comprender mejor el potencial terapéutico de estos productos en microbiología y su aplicación clínica.

## Referencias

- 1-Silva, GCD (2015). Estrategias de reposicionamiento de fármacos. <http://hdl.handle.net/10183/183767>
- 2-Albuquerque, UPD y Hanazaki, N. (2006). Investigación etnodirigida sobre el descubrimiento de nuevos fármacos de interés médico y farmacéutico: debilidades y perspectivas. *Revista Brasileña de Farmacognosia*, 16, 678-689. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000500015>
- 3- Feldman, M., Gati, I., Sionov, R. V., Sahar-Helft, S., Friedman, M., & Steinberg, D. (2022). Potential Combinatory Effect of Cannabidiol and Triclosan Incorporated into Sustained Release Delivery System against Oral Candidiasis. *Pharmaceutics*, 14(8), 1624. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14081624>
- 4- Piedra, C. N., Arenas, G. M., García, I. M., Garduño, B. F., & de León, I. D. L. P. (2009). La marihuana y el sistema endocanabinoide: De sus efectos recreativos a la terapéutica. *Revista Biomédica*, 20(2), 128-153. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2009/bio092f.pdf>
- 5- Zuurman, L., Ippel, A. E., Moin, E., & Van Gerven, J. M. (2009). Biomarkers for the effects of cannabis and THC in healthy volunteers. *British journal of clinical pharmacology*, 67(1), 5-21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2008.03329.x>
- 6- Isahq, MS, Afridi, MS, Ali, J., Hussain, MM, Ahmad, S. y Kanwal, F. (2015). Composición proximal, cribado fitoquímico, estudios GC-MS de cannabinoides biológicamente activos y actividades antimicrobianas de Cannabis indica. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(11), 897-902. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(15\)60953-7](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(15)60953-7)
- 7- de Abreu, M., Oliveira, T., Freitas, A., Stefenon, VM, & Doliveira, CB (2016). Análisis de relaciones filogenéticas entre cultivares de Cannabis sativa L. *Anales de la Exposición Internacional de Enseñanza, Investigación y Extensión*, 8(2). <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/90671>
- 8-Appendino, G., Gibbons, S., Giana, A., Pagani, A., Grassi, G., Stavri, M., ... & Rahman, MM (2008). Cannabinoides antibacterianos de Cannabis sativa: un estudio de estructura y actividad. *Revista de productos naturales*, 71(8), 1427-1430. <https://doi.org/10.1021/np8002673>
- 9- Ali, E. M., Almagboul, A. Z., Khogali, S. M., & Gergeir, U. M. (2012). Antimicrobial activity of Cannabis sativa L. <http://dx.doi.org/10.4236/cm.2012.31010>
- 10- Martinenghi, L. D., Jønsson, R., Lund, T., & Jenssen, H. (2020). Isolation, purification, and antimicrobial characterization of cannabidiolic acid and cannabidiol from Cannabis sativa L. *Biomolecules*, 10(6), 900. <https://doi.org/10.3390/biom10060900>
- 11- Pinto, TDJA, Kaneko, TM y Pinto, AF (2015). Control de calidad biológico de productos farmacéuticos, afines y cosméticos. <https://repositorio.usp.br/item/002687209>
- 12- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). (2007). Antimicrobianos: bases teóricas e uso clínico. [https://www.anvisa.gov.br/servicos/contr/ole/rede\\_rm/cursos/rm\\_controle/opas\\_web/modulo1/conceitos.htm](https://www.anvisa.gov.br/servicos/contr/ole/rede_rm/cursos/rm_controle/opas_web/modulo1/conceitos.htm)

- ⊙ El trabajo no recibió financiamiento.
- ⊙ Los autores declaran no tener conflictos de interés.
- ⊙ Correspondencias pueden encaminarse al correo electrónico del autor o del equipo editorial.