

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR



ARTICULO DE INVESTIGACION

Utilización del extracto Arrabidaea chica (Mashashte) para el diagnóstico de laboratorio clínico de estructuras morfológicas de microorganismos en Microbiología Médica. Mayo 2004-2006.

Dr. Antonio Vásquez Hidalgo¹

R esumen

Objetivos del estudio: Encontrar propiedades de la Planta Natural Arrabidaea chica para el diagnóstico de laboratorio de estructuras morfológicas de microorganismos en Microbiología Médica.

Metodología: Se procedió en varias fases, **la primera fase:** preparación de microorganismos, como: Parásitos, Hongos y Bacterias, entre ellos: 1. Protozoos Intestinales: Quistes y Trofozoitos de *Amebas*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli*, *Trichuris trichiura*; *Strongyloides stercoralis*². Micosis: *M. canis*, *M. gypseum*, , 3. Bacterias: *Escherichia coli*, *S. aureus*, *S. Epidermidis*. **La segunda**

¹ La Investigación ha sido financiada con fondos de la Universidad de El Salvador. Centro América.

fase: preparación del colorante y **la tercera fase:** hacer las preparaciones microscópicas con método de control como: Lugol en parásitos, Lactonefol azul algodón en micosis y Gram en bacterias . Se prepararon 150 muestras de cada genero y especie y 150 laminas de control. (total 300 láminas). Relación 1:1.

Resultados: Pruebas in Vitro de la planta natural en parásitos sensibilidad de 98, en hongos sensibilidad 0.06 y en bacterias sensibilidad 0.10.

Conclusión: La Planta Natural puede ser utilizada como tinción de estructuras morfológicas de parásitos. Al gram puede utilizarse como coloración simple.

Palabras clave: *Arrabidaea chica*, microorganismos, tinción.

INTRODUCCION

Durante la colonia la planta natural conocida como Mashashte era utilizada por los indígenas para colorear fibras y objetos artesanales de color rojo a negro.

La familia Bignoniaceae está constituida por 113 géneros y 800 especies de plantas arbustivas, entre ellas *chica*.

En la actualidad esta planta no es considerada como un rubro nacional, así como la de encontrar grandes plantaciones fue desapareciendo gradualmente, a excepción de la zona norte del país se cultiva parcialmente. Sin embargo en Panamá es muy utilizada con grandes extensiones de plantación por los indígenas del país como colorante.

Objetivos de la investigación.

GENERAL:

Determinar las propiedades naturales de la Planta Natural ***Arrabidae chica* (Mashashte)** como método de tinción para estructuras morfológicas de microorganismos en microbiología médica. **Objetivos ESPECIFICOS:**

1. Realizar Pruebas in Vitro para demostrar coloración de las estructuras.
2. Determinar la acción de la Planta Natural en los microorganismos
3. Determinar la concentración optima para tinción.

Hipótesis.

Hipótesis Nula: No existe eficacia de la Planta natural como tinción natural para estructuras morfológicas en *Pruebas in Vitro*. **Hipótesis alternativa:** Existe eficacia de la Planta natural como tinción natural para estructuras morfológicas en *Pruebas in Vitro*

Diseño Metodológico.

Tipo de estudio. Se utilizo un diseño experimental, con un nivel de confianza del 95 % y un error de estimación del 0.05%. Valor alfa de 0.05. Muestra de 300 láminas.

Población de estudio.

En el estudio se utilizó una muestra no aleatoria de cepas puras , entre ellas: 1.

Protozoos Intestinales: Quistes y Trofozoitos de *Amebas*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli*, *Trichuris trichiura*; *Strongyloides stercoralis* 2. *Micosis: M. canis*, *M. gypseum*, 3. *Bacterias: Escherichia coli* , *S. aureus*, *S. Epidermidis*, de los cuales son teñidos con el colorante natural .

Variables de estudio.

1. Plantas natural: *Arrabidae chica*
2. Cepas de microorganismos en microbiología médica.

Área de estudio.

Las pruebas se realizaron en CENSALUD (Centro de Investigaciones en Salud) y laboratorios de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de El Salvador.

Selección de la muestra.

Se utilizó un muestreo no aleatorio, para determinar la muestra de estudio, así por ejemplo entre los **criterios de inclusión**, se tienen: 1. cepas puras de microorganismos, 2. Planta natural sea *Arrabidae chica* 3. no contaminación de las muestras y 5. exista método de comparación entre la muestra y grupo testigo.

Entre los **criterios de exclusión**, están: 1. contaminación de otros géneros de micosis, 2. Planta Natural sea otra, 3. mal utilización de la técnica de laboratorio y 4.

testigo sea diferente al control. 5. mal control de calidad.

Análisis de la Información.

Se utilizó Método Inferencial, Tablas de contingencia 2x2. Se utilizó procesador de texto en los software de Office 2000, Epidat 2, Excel entre otros.

Control de sesgos

Entre los principales sesgos a considerar fueron: 1. Selección inadecuada de la planta natural, su control será por estudio fitoquímico y bromatológico; 2. preparación técnica inadecuada, su control se hará por método estandarizado de laboratorio o por grupo testigo; 3. Inadecuada selección de cepas puras, su control será por clasificación taxonómica; 4. concentración inadecuada del extracto, su control se hará por dosis respuesta letal. 5. Sesgo de información, su control se hará por validez y confiabilidad. 6. Sesgo del instrumentista al usar un diseño de modelo mal elaborado, su control se hará por análisis de resultados verificando de nuevo la técnica 7. Error de análisis, su control se hará por verificación de un experto.

Consideraciones éticas.

No se utilizaron a sujetos de investigación, debido a que se utilizaron *pruebas in Vitro*. El proceso y manipulación de las muestras se hizo de acuerdo a las normas estandarizadas de bioseguridad de laboratorio.

Procedimiento metodológico.

En el estudio se procedió en tres fases: **PRIMERA FASE:** Análisis fitoquímico de la planta natural, así como estudio bromatológico. preparación del colorante, según pH. **SEGUNDA FASE:** Preparación muestras de cepas en los laboratorios de microbiología de la Facultad de Medicina sobre los microorganismos a utilizar. **TERCERA FASE:** preparaciones microscópicas con el método de control que fue para el caso de protozoos Lugol, en el caso de hongos Lactofenol azul algodón, en el caso de bacterias coloración de gram. Se usaron 300 láminas, de las cuales la relación con el control fue 1:1 De estas 50 laminas para parásitos, 50 laminas para bacterias y 50 lamina para hongos. más 150 laminas de control con los reactivos estandarizados según especie.

Resultados

Tabla No 1
Pruebas in Vitro de la planta natural en Parásitos. 2005

	+	-
+	49	1
-	1	99

Sensibilidad 98, Especificidad 0.99

Tabla No 2
Pruebas in Vitro de la planta natural en Hongos. 2005

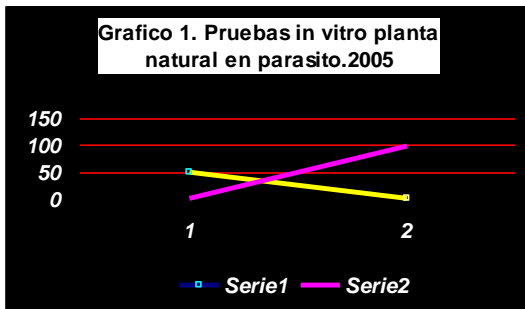
	+	-
+	3	1
-	47	99

Sensibilidad 0.06, Especificidad 0.99.

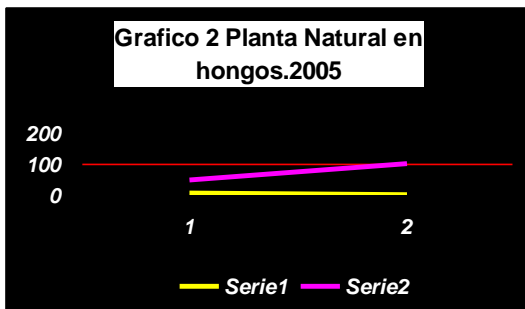
Tabla No 3
Pruebas in Vitro de la planta natural en Bacterias. 2005

	+	-
+	5	1
-	45	99

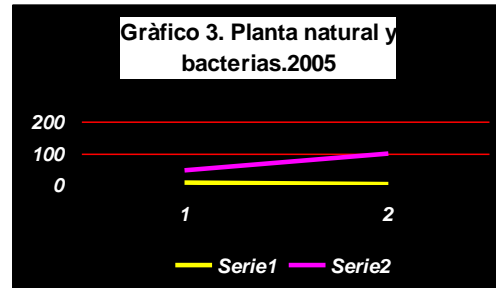
Sensibilidad 0.10, Especificidad 0.99



En el **gráfico 1**. Hay interacción entre las parásitos y los controles en pruebas in Vitro



En el **gráfico 2**. No existe interacción entre hongos y los controles en pruebas in Vitro.



En el **gráfico 3** no hay interacción entre las bacterias y los controles en las pruebas in Vitro

Al hacer otras pruebas la planta natural combinada con **B. orellana** potencia y hace sinergia fijando el colorante y resaltando su color.

Discusión

La planta por su naturaleza posee un color rojo marrón, por lo que al momento de su preparación y a diferente concentración del extracto puede alterar su color variando de un color marrón o rojo tenue a café. Es importante en el momento de la recolección las hojas en su estado seco, si son de color chocolate no se extraerá ningún colorante inactivando su principio activo.

La planta contiene 3-desoxyanthocyanidins 6, 7, 3'-trihydroxy-5,4'- dimethoxy-flavylium y 6,7,3',4'-

tetrahydroxy-5-methoxy-flavylium el de y conocido 6,7-dihydroxy-5,4'-dimethoxy-flavylium. **Constituyentes químicos:** triterpenos., bixina, alcalóides, carajurina, carajurone, pigmentos flavónicos, cianocobalamina, cumarinas, 3-deoxiantociianidina, saponinas, ferro asimilável, flavonóides, ácido anísico, genipina, pseudoindicanas, quinonas, taninos.

Las pruebas in Vitro muestran que la planta al ser utilizada en parásitos, los resultados dan una sensibilidad de 98.0. Se observa además que el reactivo X07 destruye la materia orgánica aislando al parásito en la preparación, por lo que la búsqueda en la lámina del parásito resulta una ventaja para su identificación.

Es necesario denotar que en algunos parásitos como la *H. nana* e *H. diminuta* la preparación hace edematizar o "hinchar" las estructuras internas, por lo que el parásito se ve mas grande de lo normal, el resto de parásitos no se observa tal fenómeno. En el caso de trofozoitos se dificulta su identificación porque son muy labiles es posible el pH esta influyendo en particular, no así en los quistes que son mas resistentes al reactivo.



Fig.1 Hoja *Arrabidaea chica*.



Fig.2 *Hymenolepis nana*

Además se puede inferir en el estudio que los protozoos intestinales, como: *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Entamoeba coli*, *Trichuris trichuria*, *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta*, pueden identificarse sus estructuras morfológicas a plenitud. No se hicieron pruebas en protozoos sanguíneos por la dificultad de recolección de la muestra.

En el caso de pruebas en Hongos su sensibilidad fue de 0.06, la coloración fue muy baja, por lo que se sugiere se aumente la concentración de la tinción para un mejor resultado.

En el caso de pruebas en bacterias su sensibilidad fue de 0.10, las bacterias cultivada en agar *a perse* no tienen color, en el estudio se observan colonias incoloras y la tinción resulta tenue, pero a medida que se aumenta la concentración del colorante se obtienen resultados experimentales como método de coloración simple.

Las bacterias gram + y gram – no se fijan a totalidad el colorante, por lo que los resultados como clasificación taxonómica hay diferencias significativas.

Conclusión

Las estructuras morfológicas de parásitos se pueden observar mejor con la preparación del extracto, en bacterias los resultados pueden ser utilizados como colorante simple, en hongos puede aumentarse la concentración para obtener mejores resultados.

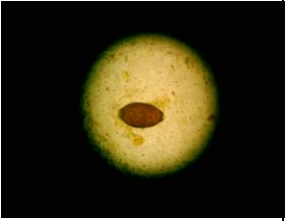
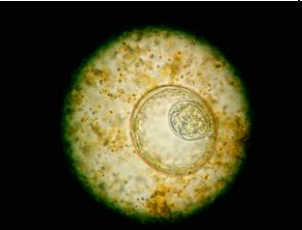
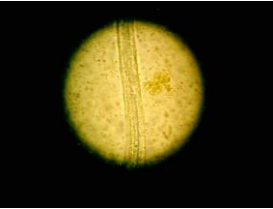
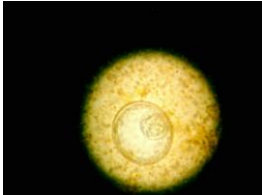
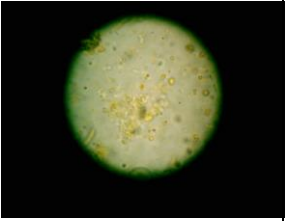
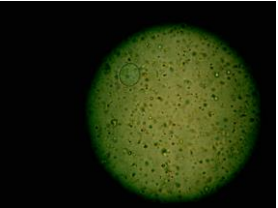
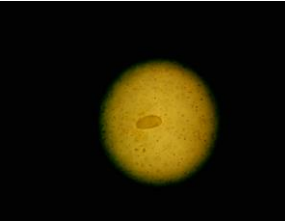
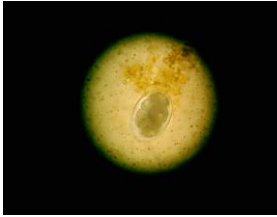
Agradecimiento.

Al consejo de investigaciones científicas por financiar y apoyar la investigación.

Bibliografía.

1. Guerrero.M. Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la Flora Salvadoreña: Edit. Universitaria: 1994:
2. Koneman, A. Et all. Diagnostico microbiológico.:edit.Panamericano:1988:
3. Prescott, Lansing. et all. Microbiology. 2a edition. Edit. Brown. 1993.
4. Baron, Ellen et all. Diagnostic Microbiology. 9a edition, Edit. Mosby. 1994.
5. Talaro, Kathleen. et all. Microbiology. 2a edition. Edit. Brown.1996.
6. Murray, Patrick. y otros. Microbiologia Medica. 2a edición. edit. Harcourt Brace. 1997.
7. Tsieh Sun. Diagnostic Parasitology. Color Atlas and textbook. Igaku-Shain Medical Publishers INc. 1a edition. 1988.

Láminas 1
Tinción morfológica de la planta natural en
Parásitos. N=300. 2005

			
<u><i>Trichuris trichiura</i></u>	<u><i>Hymenolepis nana</i></u>	<u><i>Strenqilodes stercolaris</i></u>	<u><i>Hymenolepis diminuta</i></u>
			
<u><i>Entameba histolytica</i></u>	<u><i>Entamoeba coli</i></u>	<u><i>Giardia lamblia</i></u>	<u><i>Necator sp</i></u>
<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>			