

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



“DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO DE LA
PULPA DE EL FRUTO *Crescentia alata* (MORRO) EN BACTERIAS DE ORIGEN
GASTROINTESTINAL”

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
ERLA YANIRA CAMPOS GARCIA
SONIA RAQUEL VELASQUEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIATURA EN QUÍMICA Y FARMACIA

JULIO DEL 2004

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.



©2004, **DERECHOS RESERVADOS**

Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador

<http://virtual.ues.edu.sv/>

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA

Dra. María Isabel Rodríguez

SECRETARIA GENERAL

Licda. Alicia Margarita Rivas de Recinos

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

Lic. Salvador Castillo Arévalo

SECRETARIA

MSc. Miriam del Carmen Ramos de Aguilar

COMITE DE TRABAJOS DE GRADUACION

Coordinadora General

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

Coordinador de Area Aprovechamiento de Recursos Naturales

MSc. Armando Nelson Genovez Leonor

Coordinadora de Area Aprovechamiento de Recursos Naturales

MSc. Sonia Maricela Lemus

Docente Director

Licda. Verónica Sagastume Henríquez

Docente Director

Licda. María Evelyn Sánchez de Ramos

AGRADECIMIENTOS

A nuestros Docentes Directores:

Licda. Verónica Sagastume y Licda. Evelyn de Ramos, por su tiempo, apoyo, comprensión, paciencia y por habernos guiado en el desarrollo de nuestro trabajo de graduación.

Coordinadora General y Coordinadores de Area:

Licda. Odette Rauda, MSc. Maricela Lemus y MSc. Armando Nelson Genovez, por su valiosa colaboración y tiempo brindado en cada evaluación con el fin de mejorar nuestro trabajo.

A todas las personas que de una u otra manera colaboraron en esta investigación.

Erla Yanira y Sonia Raquel

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO, por ser mi fiel amigo y darme vida, sabiduría y por permitirme culminar uno de mis principales sueños, al Espíritu Santo por iluminarme y a la Virgen María por acompañarme y protegerme.

A SAN JUDAS TADEO, por interceder siempre en mis mejores y peores momentos de mi vida.

A MI TIA FRANCISCA, por ser más que una madre para mí, porque siempre me deseaste lo mejor, por sus enseñanzas por su amor e impulsarme a alcanzar este éxito. Gracias por cuidarme desde el cielo porque nunca me dejas sola. TE EXTRAÑO Y SIEMPRE TE RECORDARE.

A MIS ABUELITOS, MAMA CARMEN, por su esfuerzo y sacrificio por todo sus enseñanzas y sabios consejos, por todo su amor, ALEJANDRO, por su especial aprecio. Por que sé que espiritualmente me acompañan desde el cielo.

A MI MADRE, gracias por traerme a este mundo, por su especial cariño y aprecio.

A MI PADRE, por su sacrificio y desearme lo mejor, por su aprecio y apoyo.

A MIS HERMANOS, por su especial cariño, ayuda y amor brindado.

A MI EXCEPCIONAL AMIGA Grisel Marilyn por regalarme una amistad sincera, por tu apoyo cariño y aprecio. Que Dios te bendiga por todo lo que haces por mí. A sus padres y hermanas un agradecimiento muy especial por su apoyo, aprecio y ser como una familia para mí.

A MIS TIAS Dilma, Casta y Belia por su ayuda incondicional por que siempre me apoyaron a su manera y me impulsaron a ser una profesional.

A MI PRIMA, Ana Yancy, esposo e hijas por ser partícipe de mis triunfos y su especial afecto.

A MIS PRIMOS, Carlos Roberto, William, Manuel, Hugo, Gracias por su cariño y apoyo.

A CLAROS, gracias por tu amor, comprensión , por animarme siempre y soportarme.

A SONIA RAQUEL, por ser una excelente amiga y compañera, te agradezco especialmente por tu comprensión y que gracias a ti logramos vencer esta meta y a tu mamá y hermanos por su cariño.

A MI FAMILIA por su cariño y amistad durante la mayor parte de mi vida.

Erla Yanira

DEDICATORIA

A DIOS, por iluminarme y guiarme a lo largo de mi vida.

A MI ABUELA, por sus consejos, cariño y por acompañarme siempre.

A MI MADRE, por ser la fuente de inspiración en lo que hago y por todo el apoyo y amor que siempre me ha brindado.

A MIS HERMANOS, José y Johanna por el cariño que a diario me brindan.

A MIS TIOS, por todo su apoyo y cariño brindado en cada momento.

A ERLA YANIRA, gracias por su paciencia y apoyo incondicional en la realización de nuestro trabajo de graduación.

Raquel Velásquez

INDICE

	Página
Capitulo I	
1.0 Introducción	xiv
Capitulo II	
2.0 Objetivos	17
Capitulo III	
3.0 Marco Teórico	
3.1 Monografía de <i>Crescentia alata</i> (morro)	19
3.2 Aspectos generales de las bacterias a ensayar	23
3.3 Generalidades de los compuestos químicos	28
Capitulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	
4.1 Investigación Bibliográfica	34
4.2 Metodología de Campo	35
4.3 Metodología de Laboratorio	35
4.3.1 Obtención del Extracto etanólico	35
4.3.2 Obtención de la Preparación Popular.....	37
4.3.3 Características organolépticas	37
4.3.4 Análisis Fitoquímico Preliminar.....	37
4.3.5 Ensayos Microbiológicos	38
4.3.5.1 Pruebas de Identificación de las bacterias	38
4.3.5.2 Ensayos de Susceptibilidad Microbiológica	38

Capitulo V	
5.0 Resultados	43
Capitulo VI	
6.0 Discusión de Resultados	58
Capitulo VII	
7.0 Conclusiones	64
Capitulo VIII	
8.0 Recomendaciones	67
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

Anexos

- 1 : Incidencia de las principales enfermedades en Vigilancia Epidemiológica
- 2 : Partes de árbol de ***Crescentia alata*** (morro)
- 3 : Fotografía del árbol de ***Crescentia alata*** (morro)
- 4 : Constancia de Identificación de La Planta ***Crescentia alata*** (morro)
- 5 : Método de Reflujo
- 6 : Método de Maceración de la Preparación Popular
- 7 : Procedimiento de las Pruebas Fitoquímicas Preliminares
- 8 : Morfología macroscópica de ***Escherichia coli, Salmonella sp y Shigella sp***
- 9 : Morfología microscópica: Método de Tinción al Gram
- 10: Procedimiento de las Pruebas Bioquímicas
- 11: Preparación del Estándar de MacFarland
- 12: Esquema del Método de Kirby Bauer
- 13: Resultados del Método de Kirby Bauer en ***Escherichia coli, Salmonella sp y Shigella sp*** en las diferentes concentraciones de los extractos
- 14: Resultados del Método de Kirby Bauer en ***Escherichia coli, Salmonella sp y Shigella sp*** al 11.5%
- 15: Material y Equipo

INDICE DE FIGURAS

Figura

- 1: Fruto de ***Crescentia alata*** (morro)
- 2: ***Escherichia coli*** en agar Mac Conkey
- 3: ***Escherichia coli*** en agar EMB
- 4: ***Shigella sp*** en agar ***Salmonella-Shigella***
- 5: ***Salmonella sp*** en agar ***Salmonella-Shigella***
- 6: Aparato de Reflujo
- 7: Flash Evaporator (Rotavapor)
- 8: Porcentaje de inhibición de las bacterias en el extracto etanólico al 9.77 %
- 9: Comparación del efecto inhibitorio del extracto etanólico y preparación popular de la pulpa de ***Crescentia alata***

INDICE DE TABLAS

Tabla

- 1: Características Organolépticas del Extracto de la pulpa de ***Crescentia alata*** (morro)
- 2: Resultados de las Pruebas Fitoquímicas Preliminares realizadas en el Extracto etanólico y Preparación Popular de la pulpa de ***Crescentia alata*** (morro)
- 3: Morfología Macroscópica y Microscópica de la bacterias
- 4: Resultados de las Pruebas Bioquímicas
- 5: Concentraciones de las diluciones de los extractos de la pulpa de ***Crescentia alata*** (morro)
- 6: Resultados de la evaluación microbiológica de ***Escherichia coli***
- 7: Resultados de la evaluación microbiológica de ***Salmonella sp***
- 8: Resultados de la evaluación microbiológica de ***Shigella sp***
- 9: Resultados obtenidos del extracto etanólico al 9.77%
- 10: Porcentaje de inhibición del extracto etanólico al 9.77%
- 11: Resultados del extracto etanólico y preparación popular al 11.5%

CAPITULO I
INTRODUCCIÓN

1.0 INTRODUCCION

En la actualidad, el estudio de la medicina abarca dos vertientes principales: una dirigida hacia la descripción y comprensión de sus conceptos y prácticas, y la otra interesada en los recursos, en especial de las plantas medicinales. Esta última se analiza desde diferentes áreas del conocimiento entre los que se incluyen estudios etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos.

El resurgimiento de las plantas medicinales se debe en gran parte a la necesidad de buscar nuevos fármacos que posean el efecto terapéutico deseado y que al mismo tiempo no posean efectos secundarios significativos.

Para realizar esta investigación, se decidió hacer el estudio orientado a la utilización de la pulpa de morro (*Crescentia alata*), obteniendo dos extractos por diferentes formas, uno en caliente por método de reflujo usando como solvente etanol al 90% y el otro por maceración para elaborar una preparación popular utilizando vino blanco que tiene 11.5% de alcohol etílico a los cuales se les realizó pruebas fitoquímicas con el propósito de lograr una apropiada identificación de los principios activos, que podrían utilizarse con eficacia en la terapéutica de enfermedades, consideradas de gran incidencia en la población y posteriormente el análisis microbiológico por el Método de Kirby Bauer Modificado.

La presente investigación se realizó con el objetivo de comprobar la actividad antimicrobiana atribuida a la pulpa de *Crescentia alata*, mediante el análisis

fitoquímico y microbiológico. El primero permitió determinar la presencia de compuestos químicos responsables de las diversas actividades terapéuticas que se le atribuyen como anticancerígenas, antiinflamatorias, expectorante, antimicrobiano, entre otras ⁽²⁰⁾ y con el segundo se determinó el efecto inhibitorio sobre las bacterias analizadas.

Entre los compuestos químicos que se determinaron por reacciones de precipitación y de coloración se encuentran las sesquiterpenlactonas, alcaloides, glicósidos cardiotónicos, taninos, glicósidos flavonoides y triterpenos, para lo cual se realizaron diferentes pruebas específicas para cada uno de estos.

Con el análisis microbiológico se determinó si el extracto obtenido de la pulpa de *Crescentia alata* ejerce un efecto inhibitorio sobre bacterias *Escherichia coli*, *salmonella sp* y *shigella sp*, causantes de enfermedades gastrointestinales ya que el 30.83% de las consultas recibidas en el Sistema Nacional de Salud Pública corresponden a dichos padecimientos. ⁽²¹⁾

Con este trabajo se pretende contribuir en el área de Salud Pública a la búsqueda de nuevos fármacos para el tratamiento de las diversas enfermedades gastrointestinales.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad antimicrobiana del extracto de la pulpa de el fruto de ***Crescentia alata*** (morro) en bacterias de origen gastrointestinal.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1 Recolectar e identificar la especie vegetal ***Crescentia alata*** (morro) a utilizar en la investigación.
- 2.2.2 Obtener el extracto etanólico de la pulpa de ***Crescentia alata*** utilizando el método de reflujo.
- 2.2.3 Obtener el extracto de preparación popular de ***Crescentia alata***.
- 2.2.4 Caracterizar organoléptica y fitoquímicamente los extractos obtenidos.
- 2.2.5 Evaluar la efectividad de los extractos a diferentes concentraciones de estos sobre ***Escherichia coli***, ***Salmonella sp*** y ***Shigella sp***, utilizando el Método de Kirby Bauer Modificado.
- 2.2.6 Comparar el efecto inhibitorio del extracto etanólico y de la preparación Popular elaborada a base de la pulpa de morro, por medio del método de Kirby Bauer Modificado.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 MONOGRAFIA DEL MORRO ⁽³⁴⁾

Nombre común	Morro, Morrito, Cutuco
Nombre científico (género y especie)	<i>Crescentia alata Kunth</i>
Familia	Bignoniáceae
Orden	Bignoniales
Clase	Dicotiledóneas
Subdivisión	Angiospermas
División	Embriophitas
Reino	Vegetal



Árbol o arbusto caducifolio de 4 a 8 m (hasta 18 m) de altura con un diámetro a la altura del pecho de hasta 30 cm; algunos ejemplares llegan a los 60 cm. Es de tronco corto, grisáceo con ramificación abierta, la cual comienza a más o menos 2 m del suelo; ramas delgadas y nudosas.

Copa / Hoja: Copa deprimida o abierta (no existe propiamente una copa). Se distingue de otras especies del mismo género por sus hojas en forma de cruz.⁽¹³⁾

Hojas compuestas en cada fascículo, se encuentran en grupos cuyo número varía de dos a siete por nudo; las hojas compuestas 3-foliadas (raramente 5-foliadas), folíolos de 1 a 4.5 cm de largo.

Tronco / Rama: Tronco con ramas torcidas o ramas gruesas alargadas, casi horizontales, de crecimiento indefinido. Los frutos a menudo se originan del tronco o de las ramas gruesas.

Corteza: Externa fisurada con grietas o hendiduras cortas, longitudinales, de bordes muy rectos, muy conspicuos, de color café claro a oscuro. Se desprende en tiras largas y muy delgadas, es más o menos compacta y con olor aromático. Grosor total: 3 mm.

Flor: Inflorescencia cauliflora con una o dos flores nacidas en ramas más largas o en el tronco; flores con un olor a almizcle; cáliz dividido en dos lóbulos; corola de color canela, tubular campanulada, carnosa, de 4 a 6.5 cm de largo. Estando el ovario ya fecundado la flor se abre al anochecer y cae la corola.⁽¹⁷⁾

Fruto: Pepo o calabaza más o menos esférico, de 7 a 10 cm (hasta 15 cm) de diámetro. Nacen directamente del tronco y ramas cuando se encuentran maduros son de color amarillo verdoso, en su interior contiene una pulpa de olor característico agradable y sabor dulce, con una cáscara impermeable. (Ver anexo 1)

Semilla: Pequeñas, delgadas y acorazonadas de color castaño, 6 a 7 mm de largo por 7 a 9 mm de ancho, repartidas en la pulpa del fruto.

Raíz: Sistema radical profundo.

Sexualidad: Hermafrodita. Sexual (por semilla), Asexual (por estaca).

Origen / Extensión:

Originaria de México. Se extiende desde México hasta Colombia, Perú y Brasil. Cultivado en el sur de la Florida y en California (Estados Unidos) e introducido en Bermudas. Ha sido cultivado en los trópicos del Viejo Mundo.

Estatus

Cultivada y Silvestre. Se le cultiva en tierra caliente. Aunque se le encuentra silvestre, ocurre más comúnmente cultivado o escapado de cultivo.

Hábitat

Prospera en áreas abiertas tipo sabana, propio de tierras planas bajas, cañadas, en las selvas bajas subcaducifolias que bordean los lechos secos de arroyos y en las selvas bajas caducifolias que cubren las serranías. Suelos: pedregoso, pardo somero.

Usos

Artesanal (fruto, madera). La cáscara dura del fruto con frecuencia se decora tallándola (grabados), puliéndola o pintándola en su exterior de manera artística. Se elaboran maracas y otros instrumentos musicales.⁽¹³⁾

Combustible (madera). Leña.

Comestible (semillas). Las semilla secadas al sol y molidas se utilizan para elaborar frescos de sabor dulce y agradable o se comen cocidas como complemento alimenticio. La semilla contiene 2.64 % de azúcar, 36.9 % de un aceite vegetal parecido al de cacahuate y de olivo.

Construcción (madera). Usos múltiples en la construcción.

Forrajero (hoja, semilla). Alimento para el ganado vacuno. Las hojas presentan un bajo contenido de nitrógeno y alto contenido de fibra.

Implementos de trabajo (madera). Implementos agrícolas (yugos) y mangos para herramientas.

Maderables (madera). Mazas, cerchas de ruedas de vehículos y fustes de sillas de montar.

Tutor (toda la planta, corteza, madera). Se han usado pedazos de la corteza y de la madera, así como el individuo completo para sostén de plantas de orquídea.

Uso doméstico (fruto). El fruto, una vez seco y vaciado de semillas, sirve como utensilio casero (vasos, cucharas, tazas).

Medicinal (fruto, hoja, raíz, flor) Disentería, mal de orín, dolor de cabeza, problemas de la dentición. La infusión de la raíz se usa para el tratamiento de la diabetes y la infusión de las hojas como astringente para la diarrea y favorece el crecimiento del cabello e impide que se caiga.⁽⁴⁾ Flor: se usa para retardar el parto. La pulpa del fruto cruda es emética, purgante y febrífuga, hervida se usa contra asma, bronquitis, expectorante, fortalece pulmones, para golpes internos, emoliente para curar heridas. También es antimicrobiana y antiinflamatoria. La pulpa del fruto es un alimento no es venenosa para el ganado y los pájaros.

Esta especie ocupa el sexto lugar por su diversidad e intensidad de usos y el décimo lugar entre las especies de mayor uso tradicional en la selva baja caducifolia.

Recetas y Forma de Administración.

Para diferentes afecciones respiratorias, la pulpa del fruto se raspa y se endulza con miel, para elaborar un jarabe. Otra forma es hacerle un orificio al fruto, remover la pulpa y agregarle alcohol de caña, dejar reposar 7 días, colar y guardar en un recipiente oscuro y finalmente tomar una cucharada en ayunas.

La flor que se usa para problemas del oído, se asa y del jugo que sale, se ponen 3 gotas en cada oído.⁽⁴⁾

Composición Química

La semilla contiene un aceite formado de ácido oléico, linoléico y ácidos saturados.

La pulpa presenta ácido cítrico, crescéntico, tartárico, tánico y cianhídrico ^(7,13)

El análisis fitoquímico preliminar indica que la raíz y hojas contienen alcaloides y la corteza presenta glicósidos flavonoides, alcaloides y taninos.⁽¹⁾

3.2 Aspectos Generales de las Bacterias a Ensayar

3.2.1 *Escherichia coli*

La ***Escherichia coli*** es la bacteria más constantemente encontrada en las materias fecales del hombre y de muchas especies animales, su nicho ecológico natural es el intestino delgado y grueso, forma parte de la flora nativa intestinal.

Escherichia coli es un bacilo gramnegativo, aerobio y aerobio facultativo, peritrítico, la mayoría forma fimbrias y pilis, muchas cepas forman una pequeña micro cápsula, muy pocas forman una macro cápsula y no forman esporas.

Patología

Escherichia coli colonizando tejidos extraintestinales producen procesos inflamatorios pirógenos similares a otras bacterias y en ocasiones de mayor intensidad por los factores propios de estas bacterias. Se ha mencionado que es la bacteria que produce mas infecciones en heridas en los hospitales, pueden estar infectando las vías respiratorias, las meninges como consecuencia de una invasión en la circulación sanguínea, cuando hay perforación intestinal, son los responsables de la peritonitis consecutiva a esta perforación. Las infecciones urinarias son producidas en más del 70% según algunas estadísticas por ***Escherichia coli*** y

puede ser el agente etiológico de enteritis. ⁽²²⁾ En todos los casos, el cuadro clínico se manifiesta por diarrea acuosa, ruidos hidroaéreos, cólico y en algunas ocasiones febrícula. El diagnóstico etiológico, se hace por la identificación de la cepa en el cultivo y por los antígenos de superficie que forman los grupos L, A y B. Se conocen actualmente 150 antígenos O, 50 antígenos H y 90 antígenos K.

El tratamiento de estas diarreas solo se hace sintomático y en infección extraintestinal, se debe indicar aminoglucósidos, cloranfenicol, tetraciclinas o sulfametoxazol-trimetoprim. ⁽²²⁾



Figura N° 2. *Escherichia coli* en Agar MacConkey. ⁽²⁸⁾



Figura N° 3. *Escherichia coli* en Agar EMB. ^(25, 27)

3.2.2 *Shigella*

Las infecciones por ***Shigella*** se limitan casi siempre al tubo gastrointestinal; es muy rara la invasión de la sangre. La infección por ***Shigella*** es muy transmisible. La dosis infecciosa es menor de 10^3 microorganismos.

El proceso patológico esencial consiste en invasión del epitelio mucoso la formación de microabscesos en la pared del intestino grueso y el ileon terminal produce necrosis de la mucosa, ulceración superficial de la misma, hemorragia y formación de una pseudomembrana en la zona ulcerada. Conforme se desarrolla el proceso, las úlceras se llenan de tejido de granulación y se produce en ellas tejido cicatrizal.

Toxinas que produce:

Endotoxina: Tras el auto lisis todas las ***shigellas*** liberan su lipopolisacárido tóxico. Esta endotoxina contribuye probablemente a la irritación de la pared intestinal.

Exotoxina: ***Shigella dysenteriae*** del tipo 1 produce una exotoxina que inhibe también la absorción de azúcares y aminoácidos en el intestino delgado.

Después de un período breve de incubación (uno a dos días) aparecen de manera súbita dolor abdominal, fiebre y diarrea acuosa. Aproximadamente un día después, al afectar la infección ileon y colon, se incrementa el número de evacuaciones, estas son menos líquidas pero contienen a menudo moco y sangre. Cada evacuación intestinal se acompaña de espasmos rectales, con dolor abdominal bajo resultante. En más de la mitad de los casos de adultos desaparecen espontáneamente fiebre y diarrea en dos a cinco días. Sin embargo en niños y ancianos la pérdida de agua y electrolitos puede producir deshidratación, acidosis e incluso muerte.

Para recuperarse de la infección, la mayor parte de las personas desarrollan anticuerpos circulantes contra *Shigella*, pero estos no protegen contra la reinfección.

El tratamiento etiológico se hace con ampicilina, tetraciclinas o sulfametoxazol-trimetoprim.⁽²²⁾

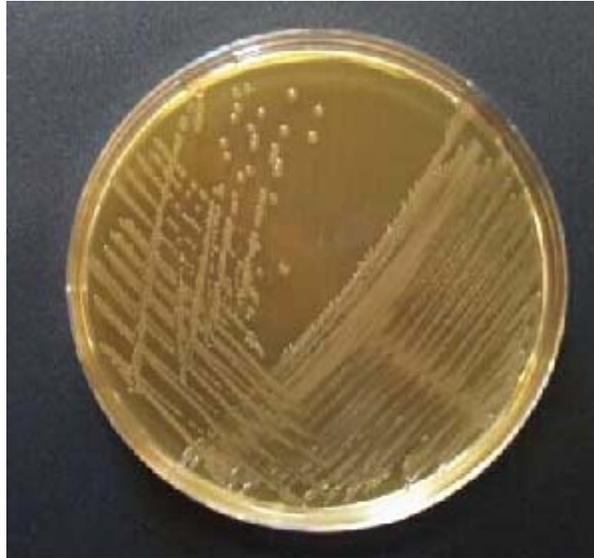


Figura N° 4. *Shigella* en Agar *Salmonella-Shigella*⁽²⁶⁾

3.2.3 *Salmonella*

Se trata de bastoncillos motiles que fermentan de manera característica la glucosa y la manosa sin producir gas, pero no fermentan la lactosa ni la sacarosa. La mayor parte de las salmonellas producen H₂S. A menudo son patógenos para el hombre y los animales cuando se ingieren.

La exposición a las salmonellas es frecuente pero requiere una alta dosis de 1×10^9 para tener altas probabilidades. La enfermedad es debido al crecimiento microbiano en tejido del cuerpo y no por la ingestión de los alimentos contaminados con las toxinas como resultado de crecimiento microbiano.

Hay dos tipos principales de enfermedad gastrointestinal que se atribuyen a **Salmonella**: Fiebre intestinal y Gastroenteritis. Las fiebres intestinales se caracterizan por una bacteremia inicial, fiebre mas o menos continua y síntomas de tipo general la gastroenteritis es aguda, con vómito y diarrea, solo ocasionalmente con bacteremia.

La enteritis son los cuadros más benignos, se manifiesta por diarrea severa que generalmente se auto limita en menos de una semana. La fiebre tifoidea es un padecimiento que puede manifestarse en forma benigna o en forma grave sobre todo cuando se presentan complicaciones como son: a) Perforación intestinal, b) Hemorragia, c) Colicistitis, d) Abscesos en diferentes órganos.

En el tratamiento, el antibiótico de elección sigue siendo el cloranfenicol, pero se puede utilizar con magníficos resultados la ampicilina y el sulfametoxazol-trimetoprim. ⁽²²⁾



Figura N° 5. **Salmonella** en Agar **Salmonella-shigella** ⁽²⁸⁾

3.3. Generalidades de Compuestos Químicos a Identificar

3.3.1 Sesquiterpenlactonas.

Las sesquiterpenlactonas poseen un esqueleto fundamental con 15 átomos de carbono, que teóricamente deriva de la unión de tres fragmentos de isopreno (2-metilbutadieno-1,3), cabeza, cola y algunos productos de transposición; parte del esqueleto es un anillo de metilbutenólido.

Las sesquiterpenlactonas se han encontrado principalmente en extractos de flores o partes aéreas de las compuestas, siendo lo suficientemente típicos para tener cierto valor quimiotaxonómico. También se han encontrado en algunas umbelíferas.

Algunas sesquiterpenlactonas poseen acción citotóxica, otras son analgésicas y amebicidas.

Son sustancias amargas, de farmacología poco estudiada, pero provenientes de plantas usualmente reportadas como medicinales, por lo que es probable que sean los agentes medicinales. Se ha sugerido que la actividad citotóxica está relacionada con el grupo exometilenbutenólido y también que este grupo modifica el crecimiento de vegetales.

También se han reportado germacrólidos del género Mikania, con propiedades de inhibición al crecimiento de algunos microorganismos. ⁽⁹⁾

3.3.2 Glicósidos Flavonoides.

Los flavonoides son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado $C_6 - C_3 - C_6$ como se encuentra en la flavonona, aurona, chalcona, flavona, flavonanol, flavandiol, antocionadina, calequina, isoflavona y neoflavona.

Se conocen unos 5000 ⁽³⁰⁾ flavonoides naturales, se encuentran extensamente distribuidos entre las plantas, tanto libres como glicósido; estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas. Las agliconas son más frecuentes en tejidos leñosos.

Los diferentes tipos de flavonoides se pueden identificar mediante reacciones de coloración y propiedades de solubilidad.

En términos generales, los flavonoides provienen de una larga gama de compuestos naturales llamados poli fenoles, esto constituyen un grupo de metabolitos secundarios extenso y estructuralmente diverso el reino vegetal.

Algunos pigmentos flavónicos, desprovistos de toxicidad para el hombre, tienen propiedades diuréticas, antiespasmódicas, antihemorrágicas o hemostáticas, antiarrítmicas cardiacas, antiinflamatorio, antirradicales libres, antihepatotóxicos y antiinfecciosos.

En la última década, se ha incrementado en el interés por el conocimiento acerca de la actividad biológica de los flavonoides. Se ha encontrado que estos poseen un amplio espectro de actividad biológica. ⁽⁹⁾

3.3.3 Alcaloides

Los alcaloides constituyen un grupo muy heterogéneo de bases vegetales nitrogenadas, con acción fisiológica más o menos intensa sobre los animales.

La mayoría de alcaloides se hallan en los vegetales como sales de ácidos orgánicos. En ciertas plantas puede haber un ácido especial asociado a los alcaloides; otros se hallan en forma de ésteres de ácidos orgánicos de complejidad variable.

Estos suelen clasificarse de acuerdo a la estructura del anillo o núcleo del alcaloide principal presente así tenemos: Grupo derivado de la Piridina y la Piperidina, Grupo del Tropano, de la Quinolina, de la Isoquinolina, del Indol, del Imidazol, Esteroideo, del Lupinano, de las Aminas Alcaloides y de las Purinas.

Los alcaloides son sustancias mas o menos tóxicas que actúan primeramente sobre el sistema nervioso central. Son considerados metabolitos secundarios, contienen átomos de nitrógeno, secundario y terciario o cuaternario en su estructura. Ellos tienen la característica de ser básicos y son sintetizados en plantas por medio de aminoácidos o de sus inmediatos derivados. En muchos casos son de limitada distribución en el reino vegetal y juegan un rol importante en la fisiología de plantas u organismos. ⁽¹¹⁾

3.3.4 Taninos.

El término tanino se empleó por primera vez en 1976 para denominar ciertas sustancias presentes en extractos vegetales que son capaces de combinarse con proteínas de la piel animal evitando su putrefacción y convirtiéndolas en cuero.

Son compuestos químicos no cristalizables que forman soluciones coloidales de reacción ácida y sabor muy acre. Se presentan como polifenoles en mezclas, las cuales son difíciles de separar porque no cristalizan.

Los taninos comprenden un gran grupo de sustancias complejas que están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, casi en todas las familias vegetales existen especies que los contienen cuando se presentan en cantidades considerables, los taninos suelen localizarse en determinadas partes de la planta,

como las hojas frutos, corteza o tallo. De acuerdo a los colores obtenidos con las sales de hierro, los taninos se clasifican en: Taninos Catecólicos y Pirogalotaninos.

Los taninos precipitan las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolítico. Aplicada a los tejidos vivos, esta acción se conoce como acción astringente y constituye la base para la acción terapéutica de los taninos. Se emplean en medicina como astringentes del tracto gastrointestinal y de las escoriaciones de la piel. ⁽⁹⁾

3.3.5 Glicósidos Saponínicos.

Los saponínicos son glicósidos con genina esteroidal o triterpénico, ambos presentan un enlace heterosidico en el C₃ y tienen un origen biogenético común vía ácido mevalónico formadas por unidades isoprenoides. Caracterizados principalmente por sus propiedades tensoactivos: se disuelven en agua formando soluciones espumantes, aumentan la permeabilidad de las paredes celulares y destruyen los hematíes por hemólisis.

Las geninas esteroidales son de gran importancia por su relación con compuestos como: hormonas sexuales, esteroides diuréticos. Muchos saponósidos tienen propiedades antimicrobianas y antifúngicas. Las propiedades farmacológicas se deben sobre todo a los saponósidos triterpénicos. ⁽⁹⁾

3.3.6 Glicósidos Cardiotónicos.

Los glicósidos cardiotónicos son sustancias amargas, derivadas de los esteroides, que actúan sobre el corazón. La porción del azúcar contiene 3-5 moléculas de

monosacáridos, por lo general, metilpentosas y desoxiazúcares muy especiales. La aglicona esteroideal, aunque tóxica, no afecta el corazón, en ella hay varios hidroxilos, uno de ellos en el C₁₄ y otro en el C₃ al cual siempre va unida la porción de azúcar. La cadena unida al carbono 17, por lo general, corresponde a una γ lactona α - β insaturada; pero hay algunos en que es una δ -lactona α - β insaturada.

Son solubles en agua o alcoholes de bajo peso molecular y son insolubles en éter de petróleo, cloroformo y otros disolventes de lípidos.

Los glicósidos cardiotónicos se han encontrado en plantas de familias muy diversas como apocináceas, asclepiadáceas, liliáceas, moráceas, escrofulariáceas, ranunculaceas.

La acción excitante de los cardiotónicos, no es solo del tipo muscular sino de origen nervioso.⁽⁹⁾

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4. DISEÑO METODOLOGICO

Tipo de Estudio:

Retrospectivo, Prospectivo y Experimental:

Debido a que dicha investigación se basa en estudios realizados anteriormente a la vez que propone una nueva alternativa mediante datos obtenidos experimentalmente.

El diseño metodológico comprende 3 etapas:

4.1 Investigación Bibliográfica.

- Se realizaron consultas de libros, trabajos de graduación, revistas en:
 - a) Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador.
 - Biblioteca de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.
 - Biblioteca de la Facultad de Medicina, Universidad de El Salvador.
 - Biblioteca de la Facultad de Ingeniería Química, Universidad de El Salvador.
 - Biblioteca de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer.
- Investigación en Internet.
- Consultas a docentes directores y otros docentes entendidos en el área de investigación.
- Visita al Centro de Documentación de la Asociación de Promotores Comunales Salvadoreños (APROCSAL).
- Visita al Jardín Botánico Plan de La Laguna.
- Visita al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG).

4.2 Investigación de Campo.

Primero se procedió a recolectar el fruto, hojas y flor directamente del árbol de morro localizados en el Municipio San José Villanueva, Departamento de la Libertad.

Las muestras recolectadas fueron llevadas al Jardín Botánico en el Plan de la Laguna para su identificación. (Ver Anexo N° 4)

4.3 Metodología de Laboratorio

4.3.1 Obtención del extracto etanólico de la pulpa de *Crescentia alata*.

PROCEDIMIENTO

Preparación del extracto etanólico. Método de Reflujo⁽¹⁹⁾

1. Extraer la pulpa de cuatro frutos y triturarlos en un mortero.
2. Pesar 500 g de la pulpa de morro y colocarla en un balón de 1000 mL.
3. Adicionarle 800 mL de etanol 90%.
4. Reflujar durante 16 horas a Temperatura de 80 °C. (Fig. 6)
5. Medir el porcentaje de alcohol en el extracto utilizando un Alcoholímetro (resultado 90% de alcohol).
6. Filtrar en caliente y concentrar el filtrado en el Rotavapor. (Fig. 7)
7. Envasar el extracto etanólico en un frasco de vidrio ámbar. (Ver Anexo N° 5)

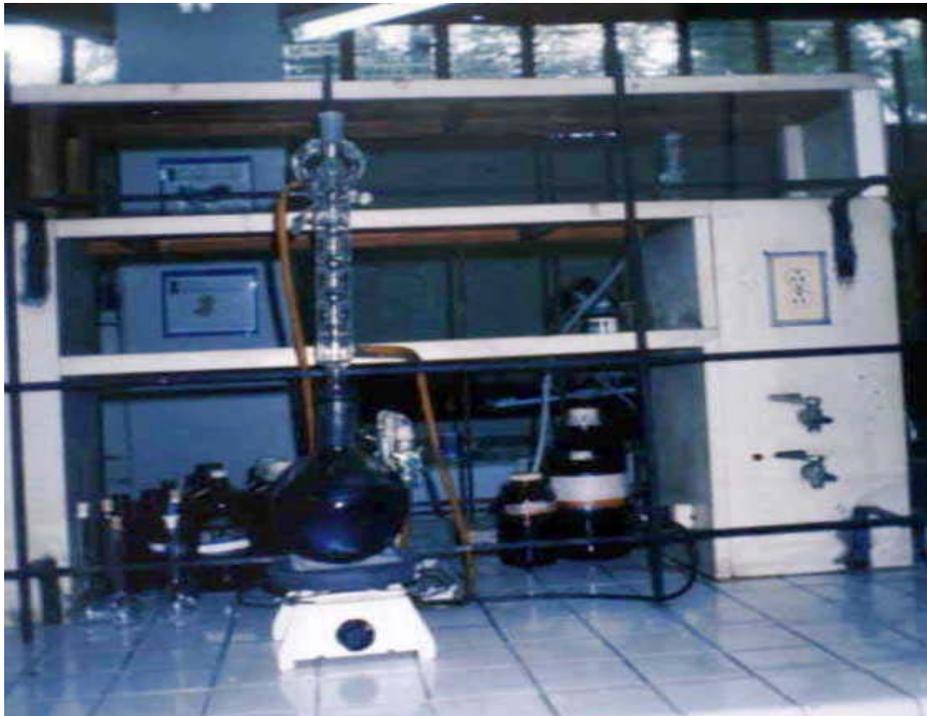


Figura N° 6. Aparato de Reflujo.



Figura N° 7. Aparato de Rotavapor.

4.3.2 Obtención de la Preparación Popular de la pulpa de *Crescentia alata*

PROCEDIMIENTO

Preparación popular. Método de Maceración en frío*

- a) Triturar la pulpa de tres frutos de morro (495 g).
- b) Colocar la pulpa triturada en un frasco de vidrio ámbar de boca ancha.
- c) Agregar 1000 ml de vino blanco (contenido de alcohol 11.5 %).
- d) Cerrar bien el frasco, enterrar en un lugar expuesto al sol durante ocho días.
- e) Filtrar el extracto y envasar en un frasco de vidrio ámbar. (Ver Anexo N° 6)

4.3.3 Caracterización Organoléptica

Se determinaron las características organolépticas de los extractos obtenidos como: color, olor, sabor y consistencia.

4.3.4 Análisis Fitoquímico Preliminar Cualitativo (Ver Anexo N° 7)

Se realizaron pruebas fitoquímicas cualitativas de los extractos para identificar la presencia de los siguientes principios activos como:

- Glicósidos saponínicos: Liebermann-Burchard, Salkowski, Método de la espuma.
- Glicósidos cardiotónicos: Legal, Keller Killiani, Kedde, Liebermann-Burchard.
- Glicósidos flavonoides: Shinoda.
- Glicósidos Antraquinónicos: Borntrager.
- Taninos: Pruebas con los siguientes reactivos: cloruro férrico, solución de gelatina, solución de cafeína, subacetato de plomo, dicromato de potasio y clorhidrato de quinina.

* Ventura, MC. 2003. Naturópata. San José Villanueva, La Libertad, (entrevista)

- Alcaloides: Reacciones de precipitación con los reactivos de Dragendorff, Mayer, Wagner.
- Sesquiterpenlactonas: Legal y Baljet.

4.3.5. Ensayos Microbiológicos.

4.3.5.1 Pruebas de Identificación de los microorganismos de ensayo.

las cepas de ***Escherichia coli***, ***Salmonella sp*** y ***Shigella sp*** fueron proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Química y Farmacia a las cuales se les practicaron tres clases de pruebas:

- a) Morfología Macroscópica, utilizando Agar Mac Conkey y Agar ***Salmonella Shigella***. (Ver Anexo N° 8)
- b) Características Microscópicas, utilizando el método de tinción diferencial Gram. (Ver Anexo N° 9)
- c) Pruebas Bioquímicas: Agar triple azúcar y hierro (TSI), Citrato, Indol, Rojo de Metilo, Movilidad y Voges-Proskauer. (Ver Anexo N° 10)

4.3.5.2 Ensayos de Susceptibilidad Microbiológica.

Método de Kirby Bauer Modificado.

El fundamento de este método es la difusión de la sustancia en investigación, colocada en un cilindro vertical sobre una capa de agar (Müller Hinton) solidificado, que contiene en la superficie el microorganismo de prueba, de tal forma que si es susceptible, se forma un halo de inhibición alrededor del cilindro.⁽⁶⁾ (Ver Anexo N° 12)

a) Preparación de las suspensiones de microorganismos comparada con un Patrón de Mac Farland.

- Patrón Mac Farland: 9.8 mL de H₂SO₄ 1% + 0.2 mL de BaCl₂ 1%.
 - Densidad celular aproximada: 6×10^8 microorganismos/mL.
 - Suspensión: 10 mL de agua estéril + Cantidad necesaria de microorganismos.
- (Ver Anexo N° 11)

Este procedimiento se realizará tanto para preparar la suspensión de ***Escherichia coli*, *Salmonella sp* y *Shigella sp***.

b) Inoculación de microorganismos.

Usando el método de extendido en placa con hisopos impregnados con la suspensión patrón del microorganismo (***Escherichia coli*, *Salmonella sp* y *Shigella sp***) equivalente a 9×10^8 bacterias / mL.

Se inoculara la superficie del medio (Agar Müller Hinton) dejando secar los extendidos.⁽⁶⁾

c) Aplicación de los extractos.

Usando técnica estéril y presionando suavemente. Se colocan los cilindros de acero inoxidable para asegurar su implantación en la superficie del medio. Se colocaron cuatro cilindros a intervalos de 90° y se llenan con el extracto a probar. Incubar las placas a 37 °C por 24 horas, medir los diámetros de los halos de inhibición por la parte posterior de la placa.

Además del ensayo con el extracto se realizarán otros análisis haciendo diluciones de este a diferentes concentraciones porcentuales: 0.57, 1.15, 1.72, 2.3, 2.87, 5.75, 8.62 y 9.77 % utilizando como blanco etanol.

4.3.5.3. Preparación de diluciones de los extractos de la pulpa de *Crescentia alata*.

Apartir del extracto etanólico y de la preparación popular de *Crescentia alata* ambas al 11.5% de alcohol se prepararon las diluciones siguientes: 0.57, 1.15, 1.72, 2.3, 2.87, 5.75, 8.62, 9.77 %

Preparación de Dilución al 0.57% del Extracto Etanólico y Preparación Popular.

- Medir 5 mL del extracto al 11.5% con pipeta volumétrica
- Adicionar el extracto en un balón de 100 mL.
- Aforar con alcohol etílico y homogenizar la solución.

Cálculos para la preparación del extracto etanólico al 11.5%

Volumen a preparar 500 mL

Concentración inicial del extracto etanólico: 90 %

Concentración final de extracto etanólico: 11.5 %

Fórmula: $C_1 V_1 = C_2 V_2$ $V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$

$$V_1 = \frac{(500 \text{ mL}) (11.5 \%)}{(90 \%)} = 63.88 \text{ mL del extracto etanólico al } 90 \%$$

63.88 mL del extracto al 90 % son requeridos para preparar el extracto etanólico al 11.5 %

Obtención de las diferentes concentraciones a ensayar.

$$\text{Fórmula: } C_1 V_1 = C_2 V_2 \quad C_2 = \frac{C_1 V_1}{V_2}$$

Concentración N° 1:

$$C_1 = 11.5 \% \quad V_1 = 5 \text{ mL} \quad V_2 = 100 \text{ mL}$$

$$C_2 = \frac{(11.5 \%) (5 \text{ mL})}{(100 \text{ mL})} = 0.57 \%$$

0.57 % es la concentración presente en la dilución preparada a partir de la alícuota de 5 mL del extracto al 11.5 %

CAPITULO V
RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 Caracterización organoléptica los extractos de la pulpa de *Crescentia alata*.

Una vez obtenidos los extractos por el método de reflujo y maceración se determinaron las características organolépticas de estos como son: color, olor, sabor y consistencia.

Tabla N° 1 Características organolépticas de extracto de la pulpa de *Crescentia alata*.

Características Físicas	Extracto etanólico	Preparación popular
Color	Negro	Negro
Olor	Característico agradable	Característico agradable
Sabor	Dulce	Dulce
Consistencia	Blando (siruposo)	Firme

5.2 Resultados del Análisis Fitoquímico Cualitativo de los extractos de la pulpa de ***Crescentia alata*** (morro).

Tabla N° 2 Pruebas Fitoquímicas Preliminares realizadas en el extracto etanólico y preparación popular de la pulpa de ***Crescentia alata***.

SUSTANCIA	PRUEBA	RESULTADOS	
		EXTRACTO ETANOLICO	PREPARACIÓN POPULAR
Glicósidos saponínicos	Liebermann-Burchard	-	-
	Salkowski	-	-
	Prueba de la Espuma	+	+
Glicósidos Flavonoides	Prueba de Shinoda	+	+
Glicósidos antraquinónicos	Borntrager	-	-
Glicósidos cardiotónicos	Keller Killiani	-	-
	Liebermann-Burchard	-	-
	Kedde	-	-
	Legal	-	-
Sesquiterpenlactonas	Baljet	-	-
	Legal	-	-
Taninos	Gelatina 1%	-	-
	Tricloruro de hierro 1%	+	+
	Subacetato de plomo 5%	+	+
	Agua de bromo	+	+
	Dicromato de potasio	+	+
	Cafeína 1%	-	-
	Clorhidrato de quinina 1%	-	-
Alcaloides	Dragendorff	+	+
	Wagner	+	+
	Mayer	-	-

(+) Prueba positiva (-) Prueba negativa

5.3 Resultados de la Evaluación Microbiológica.

5.3.1 Pruebas de Identificación de *Escherichia coli*, *Salmonella sp* y *Shigella sp*.

Tabla N° 3 Morfología Macroscópica y Microscópica.

PRUEBA	RESULTADO
Morfología macroscópica	<p><i>Escherichia coli</i>: en agar Mac Conkey: colonias grandes, rojas con halo turbio.</p> <p><i>Shigella sp</i> en agar Salmonella-Shigella: colonias pequeñas, incoloras y transparentes.</p> <p><i>Salmonella sp</i> en agar Salmonella-Shigella: colonias pequeñas, amarillas con puntos negros y alteración en el color del medio de cultivo</p> <p>Prueba (+)</p>
Características microscópicas	<p><u>Tinción al Gram:</u></p> <p><i>Escherichia coli</i>: microorganismos gram negativos, bacilos cortos de color rosa.</p> <p><i>Salmonella sp</i>: bacilos gram negativos cortos se encuentran solos o en cadenas.</p> <p><i>Shigella sp</i>: bacilos gram negativos cortos</p> <p>Prueba (+).</p>

Los resultados concuerdan con las características esperadas para cada bacteria por lo que es una prueba positiva de su identificación.

Tabla N° 4 Pruebas bioquímicas.

PRUEBAS	RESULTADOS		
	<i>Salmonella sp</i>	<i>Shigella sp</i>	<i>Escherichia coli</i>
TSI	K/A*	K/A*	A/A*
Citrato	+	-	-
Indol	-	+	+
Rojo de Metilo	+	+	+
Voges Proskauer	-	-	-
Movilidad	+	-	+

* K/A: Bisel alcalino, fondo ácido

A/A: Producción ácido en bisel y fondo

(+) Prueba positiva

(-) Prueba negativa

5.4 Resultados de la preparación de las diluciones de los extractos de la pulpa de ***Crescentia alata*** (morro)

Tabla N° 5 Concentraciones de las diluciones de los extractos de la pulpa de ***Crescentia alata***.

C ₁ (%)	V ₁ (mL)	C ₂ (%)	V ₂ (mL)
11.5	5	0.57	100
11.5	10	1.15	100
11.5	15	1.72	100
11.5	20	2.3	100
11.5	25	2.87	100
11.5	50	5.75	100
11.5	75	8.62	100
11.5	85	9.77	100

C₁ = Concentración inicial

C₂ = Concentración final

V₁ = Volumen inicial

V₂ = Volumen final

5.5 Resultados de la Evaluación Microbiológica Método de Kirby Bauer.

El parámetro de los halos de inhibición considerados son: Halos menores de 12 mm resistentes, halos mayores de 12 mm se consideran sensibles. ⁽³⁶⁾

Tabla N° 6 Evaluación Microbiológica: Método de Kirby Bauer Modificado.
en *Escherichia coli* en las diluciones de los extractos etanólico y
preparación popular.

Concentración del extracto %	RESULTADOS	
	EXTRACTOS ETANÓLICOS	PREPARACIÓN POPULAR
0.57 %	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
1.15 %	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
1.72 %	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
2.3 %	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
2.87 %	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.

Continuación Tabla N° 6

Concentración del extracto	RESULTADOS	
	EXTRACTOS ETANÓLICOS	PREPARACIÓN POPULAR
5.75%	No Formación de halos : MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
8.62 %	No Formación de halos de: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
9.77 %	Formación de halos : 8 mm de diámetro MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
Blanco: Alcohol etílico y Vino blanco	Formación de halos de 9 mm de diámetro: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.

MO: Microorganismo

Tabla N° 7 Evaluación Microbiológica: Método de Kirby Bauer.

Modificado en *Salmonella sp* en las diluciones de los extractos etanólico y preparación popular.

Concentración del extracto %	RESULTADOS	
	EXTRACTOS ETANOLICOS	PREPARACION POPULAR
0.57 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente
1.15 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente
1.72 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente
2.3 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente

MO: Microorganismo

Continuación Tabla N° 7

Concentración del extracto %	RESULTADOS	
	EXTRACTOS ETANOLICOS	PREPARACION POPULAR
2.87 %	No formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
5.75 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
8.62 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
9.77 %	Formación de halos de 8 mm de diámetro: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
Blanco: Alcohol etílico y Vino blanco	Formación de halos de 9 mm de diámetro: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.

MO: Microorganismo

Tabla N° 8 Evaluación Microbiológica: Método de Kirby Bauer en *Shigella sp* en las diluciones de los extractos etanólico y preparación popular.

Concentración del extracto %	RESULTADOS	
	EXTRACTOS ETANOLICOS	PREPARACION POPULAR
0.57 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
1.15 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
1.72 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
2.3 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
2.87 %	No Formación de halos: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
5.75 %	Formación de halos de 8 mm de diámetro: MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.

MO: Microorganismo

Continuación Tabla N° 8

Concentración del extracto %	RESULTADOS	
	EXTRACTOS ETANOLICOS	PREPARACION POPULAR
8.62 %	Formación de halos de 8 mm de diámetro MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
9.77 %	Formación de halos de 10 mm de diámetro MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.
Blanco: Alcohol etílico y Vino blanco	Formación de halos de 9 mm de diámetro MO resistente.	No hay formación de halos, crecimiento en toda la placa: MO resistente.

MO: Microorganismo

(Ver Anexo N° 13)

Tabla N° 9 Resultados de la inhibición de las bacterias en el extracto etanólico al 9.77 %

CONCENTRACION	RESULTADOS		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella sp</i>	<i>Shigella sp</i>
9.77 %	Formación de halos de 8 mm de diámetro: MO resistente.	Formación de halos de 8 mm de diámetro: MO resistente.	Formación de halos de 10 mm de diámetro MO resistente.

MO: Microorganismo

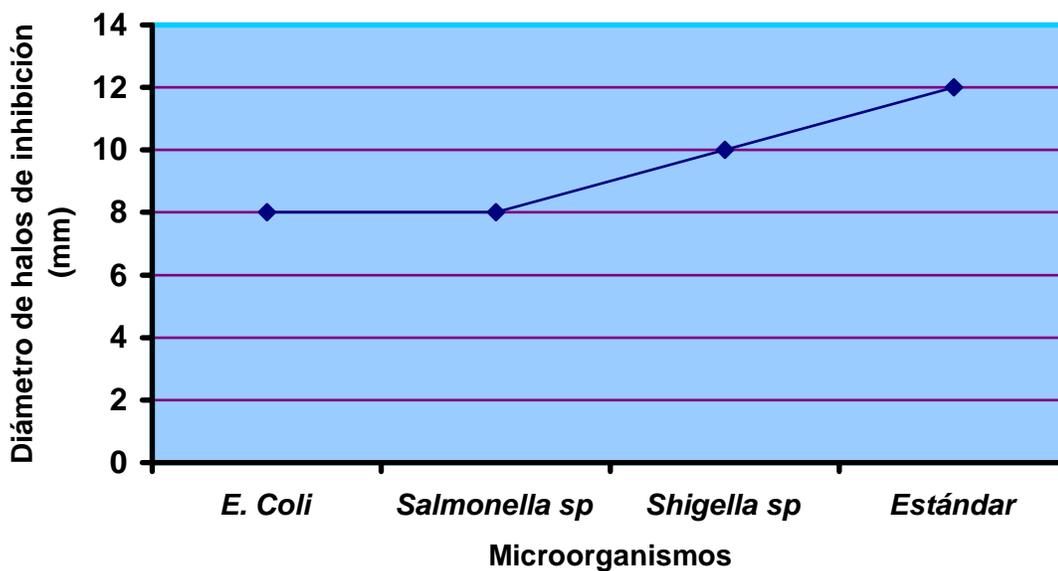
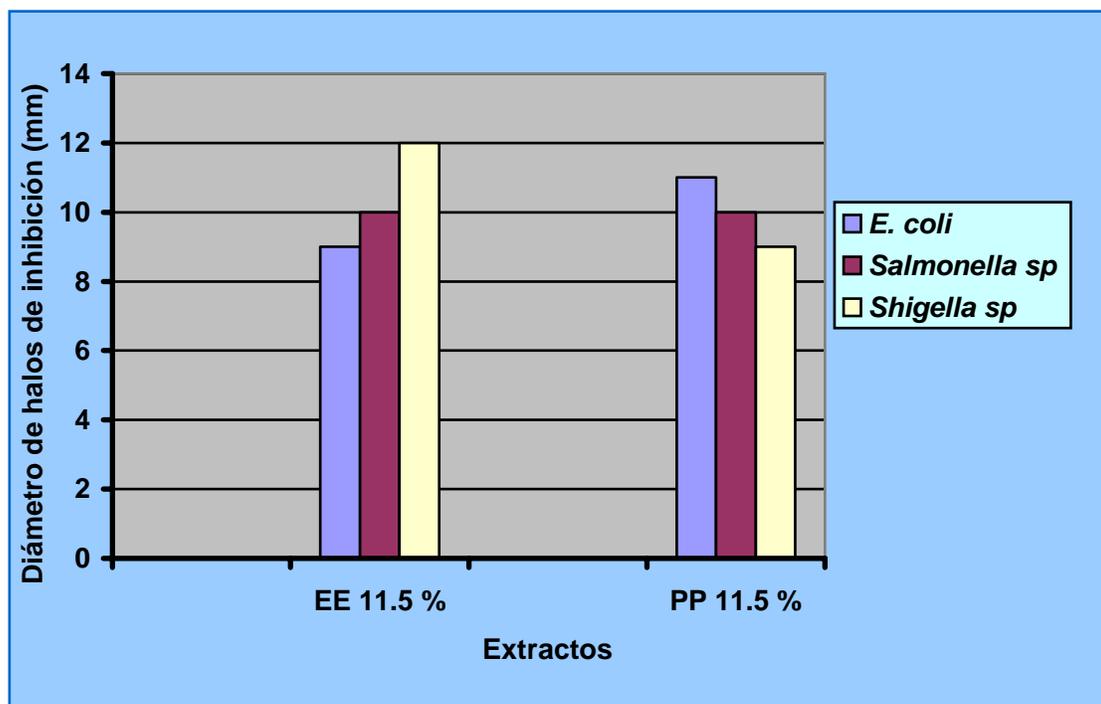


Figura N° 8. Comparación de la inhibición del extracto etanólico de la pulpa de *Crescentia alata* al 9.77%

Tabla N° 10 Resultados de la inhibición de las bacterias en Extracto Etanólico y Preparación Popular al 11.5%

Bacteria	Resultados	
	Extracto Etanólico 11.5%	Preparación Popular 11.5%
<i>Escherichia coli</i>	Formación de halos de 9 mm de diámetro: MO resistente	Formación de halos de 11 mm de diámetro MO resistente
<i>Salmonella sp</i>	Formación de halos de 10 mm de diámetro: MO resistente	Formación de halos de 10 mm de diámetro MO resistente
<i>Shigella sp</i>	Formación de halos de 12 mm de diámetro: MO sensible	Formación de halos de 9 mm de diámetro MO resistente

MO: Microorganismo



EE: Extracto Etanólico

PP: Preparación Popular

Figura N° 9. Comparación del Efecto Inhibitorio del Extracto Etanólico y Preparación Popular de *Crescentia alata*

CAPITULO VI
DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6. DISCUSION DE RESULTADOS

Resultados del Análisis Fitoquímico Preliminar.

Al extracto etanólico y preparación popular de la pulpa de *Crescentia alata* (morro) se les realizaron el análisis fitoquímico, mediante pruebas cualitativas de coloración y precipitación para la identificación de sustancias activas como:

Glicósidos saponínicos: Las pruebas de Salkowski y Liebermann-Burchard dieron resultado negativo, ambas pruebas identifican la porción esteroidal que poseen las saponinas, otra prueba realizada fue la de la espuma la cual dió resultado positivo, pero debido a que existen otras sustancias que pueden formar espuma, se debe asumir este ensayo como una prueba presuntiva de la presencia de saponinas esteroidales.

Para Glicósidos cardiotónicos, antraquinónicos y sesquiterpenlactonas todas las pruebas realizadas dieron resultados negativos, lo que indica que no hay presencia de estos compuestos en los extracto de la pulpa de morro o que se encuentran en una concentración tan baja que en un análisis cualitativo como el realizado no se pueden detectar.

Para Alcaloides se realizaron la pruebas con los reactivos de Dragendorff y Wagner las cuales dieron resultado positivo con la formación de precipitados de color marrón y anaranjado respectivamente, indican la presencia de alcaloides.

Para Flavonoides se realizo la prueba de Shinoda que es la prueba característica más usual obteniendo una coloración anaranjada, por lo que el grupo presente en los extractos podría corresponder a flavonas o flavonoles.

En la determinación de taninos en todas las pruebas se obtuvo los resultados positivos ya sea de precipitación o coloración, a excepción de las pruebas de cafeína, clorhidrato de quinina y gelatina en las cuales no se observó lo esperado, lo cual puede estar relacionado con la cantidad de taninos presentes en los extractos, pero debido a que no son pruebas confirmativas, con estos resultados se demuestra la presencia de taninos en los extractos de la pulpa de morro.

Resultados de las pruebas de identificación de las bacterias.

Identificación de la ***Escherichia coli***:

Morfología macroscópica: La bacteria después de sembrarse en agar Mac Conkey mostró colonias grandes y rojas.

Morfología microscópica: Al observar una preparación de la bacteria al microscopio se observó que esta presenta forma de bacilos de color rosado lo que indica que es gramnegativa.

En las pruebas bioquímicas las pruebas de indol, TSI con fermentación de glucosa, rojo de metilo, aseguran la identificación positiva de la ***Escherichia coli***.

Identificación de ***Salmonella sp***:

Características macroscópicas: Las colonias de la cepa sembrada en agar Salmonella-Shigella eran pequeñas y amarillas, además se observó una alteración en el color del medio de cultivo.

Características microscópicas: Esta bacteria presento forma de bastoncillos cortos de color rosado es decir que son gramnegativos, estos se encontraban solos o formando cadenas.

Pruebas bioquímicas:

Las pruebas de citrato, TSI con producción de sulfuro de hidrógeno, rojo de metilo y movilidad confirman que la bacteria analizada se encuentra en óptimas condiciones y sin contaminación de otro microorganismo.

Identificación de ***Shigella sp***:

Características macroscópica: Las colonias observadas fueron pequeñas e incoloras

Características microscópicas: La bacteria se puede observar en forma de bacilos cortos y gramnegativos

Pruebas bioquímicas: Los resultados en la prueba de indol, rojo de metilo confirman la identidad de la bacteria.

Resultados de la evaluación microbiológica para ***Escherichia coli***:

Según el cuadro de resultados de la evaluación microbiológica por Kirby Bauer Modificado para ***Escherichia coli*** muestran que esta bacteria es resistente en todas las diluciones preparadas tanto en el extracto etanólico como en la preparación popular, ya que no hay formación de halos de medidas considerables de una inhibición.

Resultados de la evaluación microbiológica de ***Salmonella sp***:

En la evaluación microbiológica se observó que la bacteria es resistente en todas las diluciones preparadas del extracto etanólico y preparación popular ya que existe un crecimiento de la bacteria en toda la placa sin que exista formación de halos de tamaño necesario para considerarse que la bacteria es sensible a los extractos.

Resultados de la Evaluación microbiológica de ***Shigella sp***:

La evaluación microbiológica de la ***Shigella sp*** muestra que la resistencia de esta ante los diferentes diluciones preparadas del extracto etanólico y preparación popular aunque en la dilución del 6.9, 8.62, y 9.77 % se observó la formación de halos definidos pero sin el tamaño requerido para afirmar que la bacteria es sensible a estas concentraciones.

Otro aspecto a considerar es que para cada bacteria se lleva al mismo tiempo un blanco, alcohol etílico al 90 % y vino blanco al 11.5 % de alcohol y las tres bacterias mostraron ser resistentes frente a ambos blancos, en el caso del vino blanco hubo crecimiento abundante de las bacterias en toda la superficie de la placa.

En cambio con el etanol se observó la formación de halos de 9 mm que a pesar de indicar que la bacteria es resistente, este dato brinda un parámetro de comparación que permite determinar que el efecto inhibitorio presente en ***Shigella sp*** obedece al etanol presente en la dilución y no solo a los componentes del extracto de la pulpa de morro.

Resultados de la comparación del efecto inhibitorio del extracto etanólico y preparación popular ambos al 11.5%:

En este análisis se observó la formación de halos en las tres bacterias con ambos extractos, aunque las medidas de estos halos no alcanzaron las medidas necesarias para considerar que los microorganismos eran sensibles, solamente en el caso de la ***Shigella sp*** que se obtuvo un halo de 12 mm de diámetro en el extracto etanólico, por lo cual la bacteria es sensible a dicho extracto a la concentración de 11.5%

Este resultado demuestra que el efecto inhibitorio del extracto se debió a los componentes presentes en este y no solo al alcohol ya que este solo produce halos de 9 mm en ***Shigella sp***.

CAPITULO VII
CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

1. Según el análisis fitoquímico realizado en los extractos de la pulpa de ***Crescentia alata*** (morro) se encuentran presentes los siguientes principios activos: Glicósidos flavonoides, Alcaloides y Taninos.
2. ***Escherichia coli*, *Salmonella sp* y *Shigella sp*** mostraron ser resistentes en las diferentes diluciones preparadas del extracto etanólico y preparación popular del extracto de la pulpa de ***Crescentia alata*** (morro).
3. En la evaluación microbiológica del extracto etanólico y popular de la pulpa de morro en un porcentaje alcohólico de 11.5 % con ***Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Shigella sp.*** se pudo determinar que solamente ***Shigella sp*** es sensible frente al extracto etanólico.
4. El vino blanco y el etanol, utilizados como blanco no inhibieron significativamente a ninguna de las bacterias analizadas.
5. El efecto antimicrobiano que posee el extracto de la pulpa de morro al 11.5 % es debido a que contiene taninos que poseen actividad antiséptica la cual sumada a la astringencia por vía interna ejercen efecto antidiarreico, además de la mezcla de las otras sustancias activas que contiene dicho extracto y que son sinérgicas unas con otras.

6. Debido a los resultados obtenidos del extracto etanólico de la pulpa de ***Crescentia alata*** al 11.5 %, este se puede utilizar en infecciones gastrointestinales producidas por ***Shigella sp.***

7. Los resultados demuestran que el extracto etanólico y la preparación popular de la pulpa de morro obtenidos por el método de reflujo y maceración respectivamente, carecen de ningún tipo de inhibición frente a las bacterias analizadas a las concentraciones de 0.57, 1.15, 1.72, 2.3, 2.87 %.

8. Los resultados obtenidos en la investigación permiten hacer una contribución a los problemas de salud causados por ***Shigella sp.***, ya que una preparación con la pulpa de morro puede servir a la población como una alternativa de bajo costo en el tratamiento de shigellosis.

CAPITULO VIII
RECOMENDACIONES

8. RECOMENDACIONES

1. Con la finalidad de que la población obtenga beneficio de la pulpa de morro, se debe normalizar la concentración y poder así formular un producto farmacéutico efectivo realizando otros estudios cualitativos y cuantitativos que defina sus componentes y concentraciones en las que están presentes.
2. Fomentar el cultivo de esta planta por el potencial agroindustrial y fuente de compuestos químicos en la industria farmacéutica para futuras investigaciones.
3. Para la obtención de materia prima con alto contenido de principios activos de alta calidad se deben considerar factores como la recolección, conservación y almacenamiento de la planta medicinal.
4. Se sugiere investigar el efecto del extracto de la pulpa de morro sobre otros microorganismos de interés clínico, logrando así ampliar su utilización para otras afecciones tales como las de vías respiratorias.
5. Se recomienda la investigación de nuevas propiedades y aplicaciones del extracto de la pulpa de morro, ya que se encontraron importantes sustancias químicas como lo son Glicósidos flavonoides, Taninos y Alcaloides.

6. Es recomendable separar y purificar los componentes del extracto que proporcionan actividad antimicrobiana, además de caracterizar la estructura de dichos compuestos mediante técnicas espectroscópicas.

7. Se recomienda limitar el uso de estas preparaciones de la pulpa de morro solamente a adultos, debido al alto contenido alcohólico que estas poseen.

BIBLIOGRAFIA

1. Alvarez, R.P. 1979. "Estudio Etnobotánico y Farmacológico de quince plantas medicinales de El Salvador (zona central). Tesis, Lic. Qca y Farm. San Salvador, El Salvador. UES p. 87
2. Beatty, W.K. 1993. "Diccionario de Ciencias Médicas" 25ª ed. Buenos Aires. Editorial Médica Panamericana. p. 37, 69, 163, 165, 438, 475, 629, 1050.
3. Brady Lynn y otros. 1979. Farmacognosia, 2ª Edición. El Ateneo Editorial. Buenos Aires, Argentina. p. 65, 89, 114,116
4. Cáceres, A. 1996. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala, 1ª Edición. Editorial Universitaria. Guatemala. p. 273-275
5. Castro, V.E. 1978. Estudio Etnobotánico del Morro (Crescentia alata). Agrociencia. El Salvador. p. 43-55
6. Collins, C.H. 1989. Métodos Microbiológicos, Editorial Acribia, S. A. Zaragoza, España. p 203-204
7. Cruz López, A. 1996. "Uso de diferentes niveles de pulpa de morro (Crescentia alata) en la alimentación de conejos durante la fase de engorde. Tesis, Ing. Agr. San Salvador, El Salvador. UES p. 23-28

8. Del Cid Ayala, J. 1980. "Características Químicas y Nutricionales del Aceite de semilla de Morro (*Crescentia alata*) obtenido por Prensa". Centro de Estudios Superiores en Nutrición y Ciencias de Alimentos (CESNA), Curso de Postgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Guatemala. p. 1-5
9. Domínguez, X.A. 1973. "Métodos de Investigación Fitoquímica". 1ª Edición. Editorial Limusa. México DF. p. 84-100
10. Fernández Santamaría, R. 1975 "Aprovechamiento Industrial del Morro". Tesis, Ing. Qco. San Salvador, El Salvador. p. 8,14,72
11. FESC-UNAM. Universidad Nacional Autónoma de México. Manual Introductorio a los Productos Naturales, Proyecto PAPIME 192089. p. 69-70, 199
12. Font Quer, P. 1993. "Diccionario Botánico" 9ª reimpresión. Barcelona. Editorial Labor S.A. Tomo 1, 326, 365 p.
13. Gupta, M. 1995. 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas, 1ª Edición. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología CYTED, Santa Fe de Bogotá, Colombia. p. 180-183
14. House, P.R. y otros. 1995. Plantas Medicinales Comunes de Honduras, 1ª Edición. M. D. C. Tegucigalpa, Honduras. p. 145

15. Jawetz y otros. 1999. Microbiología Médica. 16^a Edición. Editorial El Manual Moderno, SA de CV. México DF. p. 268
16. Lagos, J. 1987. Compendio de Botánica Sistemática. Ministerio de Cultura y Comunicaciones, Dirección de Publicaciones e Impresiones. San Salvador, El Salvador. p. 186
17. MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería ES). 1983. Posibilidades de Incremento de la Producción e Industrialización del Morro en El Salvador . Dirección General de Economía Agropecuaria. p. 3-7.
18. Nester, E.W. 1995. Microbiology a Human Perspective. Iowa. United States. Wn.C. Brown Publishers. p. 425,658.
19. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. Manual de Laboratorio de Farmacognosia. 2001.
20. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. Manual de Laboratorio de Microbiología y Parasitología. 2000.
21. Merck. Manual de Medios de Cultivo. 1990. p. 87, 121, 146.
22. Romero Cabello, R. 1993. Microbiología y Parasitología Humana, 1^a Edición. Editorial Médica Panamericana. México DF. p. 252 -264

23. Villatoro Vera, RA. 2001. Compuestos Activos de *Crescentia alata Kunth* (Bignoniaceae) Posgrado en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de México. p.3-4.
24. www.acguanacaste.ac.cr
25. www.academic.mwsc.edu/imagenes/ecoli
26. www.ama-assn.org/sci-pubs/journal
27. www.cat.cc.md.us/embecoliresult.
28. www.gold.aecom.yu.edu/micro/enteric.
29. www.hama/med.ac.ip/w1a/microbio/micro/pract.feles.
30. www.hiutoto.udea.edu.co/~farmacong.
31. www.mspas.gov.sv
32. www.medicinanaturista.com
33. www.panalimentos.org/manual
34. www.redescolar.ilce.edu.mx
35. www.tropicaldesigns.com
36. www.upm.edu/biology/cursos/micro/pruebas

GLOSARIO ^(2,12)

1. Absceso: Cavidad que contiene pus y está rodeada de tejido inflamado formado como consecuencia de la supuración en una infección localizada.
2. Aerobio: Microorganismo que vive y crece en presencia de oxígeno.
3. Anaerobio: Microorganismo que sólo puede vivir y crecer en ausencia de oxígeno.
4. Antígeno: Cualquier célula o partícula química que induce a una respuesta inmune específica y que puede estimular resistencia a una infección o toxina.
5. Asepsia: Una condición libre de microorganismos patógenos viables.
6. Bacteremia: Presencia de bacterias viables en la sangre circulante en el organismo.
7. Bacteriostático: Cualquier proceso o agente que inhiba el crecimiento bacteriano.
8. Caducifolio: Así se llaman los árboles y arbustos que no se conservan verdes todos el año, porque se les cae la hoja al empezar la estación desfavorable (estación fría o seca).
9. Citotóxica: Nocivo o destructivo para las células.
10. Cauliflora: Dícese de los árboles y arbustos en los que las flores se originan en el tronco y en las ramas leñosas.
11. Edema: Acumulación de cantidades excesivas de líquido acuoso en células, tejidos o cavidades serosas.

12. Endotoxina: Toxina intracelular bacteriana que no es ordinariamente liberada como la exotoxina, pueden causar shock y fiebre.
13. Enteritis: Inflamación del intestino, específicamente el delgado.
14. Exotoxina: Una toxina que es secretada y actúa sobre objetivos celulares específicos.
15. Febrífugo: Agente que tiende a reducir la fiebre.
16. Fimbria: Apéndice filamentoso fino, bastante análogo a un flagelo, existe en algunas bacterias.
17. Gastroenteritis: Inflamación de la mucosa del estómago y el intestino.
18. Inoculación: Implantación de microorganismos dentro o sobre un medio de cultivo.
19. Lisis: Es la ruptura física o deterioro de una célula.
20. Necrosis: Muerte de una porción de tejido a consecuencia de una enfermedad o lesión.
21. Patógenos: Cualquier agente, usualmente un virus, bacteria, hongo, protozoo o helminto que causan enfermedades.
22. Pili: Pequeños apéndices filamentosos en las bacterias gramnegativas que funcionan en el intercambio de DNA durante la conjugación bacteriana.
23. Septicemia: Infección sistémica caracterizada por la aparición de patógenos en sangre circulante procedentes de una infección localizada en cualquier parte del organismo.

ANEXOS



DATOS PRELIMINARES
Incidencia de las Principales Enfermedades en Vigilancia Epidemiológica Especial
Consolidado Nacional de Reporte Epidemiológico Diario
Consolidado Nacional del día: del 4 de Enero de 2004 al 1 de Marzo de 2004
Sistema Básico Integral de Salud (SIBASI)



Parte No.1 2

No.	DIAGNOSTICO	AHUA CHA PAN	STA ANA	CHAL CHUA PA	META PAN	SONSO NATE	CHALA TENAN GO	NVA CONCEP CION	LA LIBER TAD	CEN TRO	SUR	NOR TE	SOYA PAN GO	ILO PAN GO	COJU TEPE QUE	SUCHI TOTO	SUB TOTAL
1	PARALISIS FLACIDA AGUDA	0	1	1	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	8
2	SOSPECHA DE SARAMPION	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	4
3	MENINGITIS MENINGOCOCCICA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS	10932	22918	4971	6351	21324	7388	7240	27016	31403	16842	18206	9610	15234	9900	2897	212232
5	NEUMONÍAS	710	752	105	165	199	224	51	550	613	360	293	82	227	525	181	5037
6	DIARREA Y GASTROENTERITIS	1493	3538	763	540	3361	871	583	4315	8119	1847	2239	2805	1634	1135	284	33527
7	SOSPECHOSOS DE COLERA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	INTOXICACION ALIMENTARIA	0	0	0	1	17	0	0	25	127	10	1	2	11	0	0	194
9	INTOXIC P/SAXITOXINAS(MAREA ROJA)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	HEPATITIS A	0	12	0	0	19	2	3	31	66	13	7	10	5	14	5	187
11	MORDIDOS P/ANIMALES T. DE RABIA	241	417	82	39	395	64	38	587	954	389	498	593	297	211	43	4848
12	SOSPECHOSO DE RABIA HUMANA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	SOSPECHOSO DE LEPTOSPIROSIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
14	SOSPECHA DENGUE HEMORRAGICO	0	4	0	0	2	1	0	2	15	0	0	1	1	0	0	26
15	SOSPECHA DE DENGUE CLASICO	16	97	14	8	87	14	15	124	258	57	23	74	90	7	4	888
16	SOSPECHA DE PALUDISMO	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2
17	CONJUNTIVITIS HEMORRAGICA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	CONJUNTIVITIS BACTERIANA	296	677	117	113	351	177	137	744	815	408	46	318	209	269	104	4781
19	SOSPECHA INTOXICACION POR METANOL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	MUERTE *	35	231	13	2	68	2	2	34	615	23	1	17	31	16	5	1095

ANEXO I

Parte 2/2

Fuente: SIBASI - Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social



DATOS PRELIMINARES
Incidencia de las Principales Enfermedades en Vigilancia Epidemiológica Especial
Consolidado Nacional de Reporte Epidemiológico Diario
Consolidado Nacional del día: del 4 de Enero de 2004 al 1 de Marzo de 2004
Sistema Básico Integral de Salud (SIBASI)
 Parte No.1 2



ANEXO I Continuación

No.	DIAGNOSTICO	LA PAZ	SENSUN TEPE QUE	ILO BASCO	SAN VICENTE	USU LUTAN	JIQUI LISCO	STGO DE MARIA	SAN MIGUEL	NUEVA GUADA LUPE	CIUDAD BARRIOS	MORA ZAN	LA UNION	STA ROSA DE LIMA	SUB TOTAL	TOTAL
1	PARALISIS FLACIDA AGUDA	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	10
2	SOSPECHA DE SARAMPION	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
3	MENINGITIS MENINGOCOCCICA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS	15684	5006	2316	12675	10709	2948	4958	17095	6049	2895	5245	8036	6908	100524	312756
5	NEUMONÍAS	354	31	65	440	1034	111	111	271	66	33	154	171	43	2884	7921
6	DIARREA Y GASTROENTERITIS	2059	541	307	1043	831	326	440	1800	544	225	522	688	719	10045	43572
7	SOSPECHOSOS DE COLERA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	INTOXICACION ALIMENTARIA	14	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	6	0	28	222
9	INTOXIC P/SAXITOXINAS(MAREA ROJA)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	HEPATITIS A	28	12	0	7	7	1	1	2	6	0	4	2	5	75	262
11	MORDIDOS P/ANIMALES T. DE RABIA	347	57	28	130	138	36	63	245	49	20	25	60	42	1240	6088
12	SOSPECHOSO DE RABIA HUMANA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	SOSPECHOSO DE LEPTOSPIROSIS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
14	SOSPECHA DENGUE HEMORRAGICO	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	4	30
15	SOSPECHA DE DENGUE CLASICO	67	3	4	28	2	2	0	29	6	4	6	7	2	160	1048
16	SOSPECHA DE PALUDISMO	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
17	CONJUNTIVITIS HEMORRAGICA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	CONJUNTIVITIS BACTERIANA	343	144	50	181	173	40	97	413	131	69	113	94	85	1933	6714
19	SOSPECHA INTOXICACION POR METANOL	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	MUERTE *	48	0	0	2	25	7	2	124	2	8	14	9	7	248	1343
Nota: 28 de 28 SIBASIS informarán hoy, haciendo un 100%.																
Total de Consultas Médicas (Todas las Causas) :																1,538,744

Fuente: SIBASI - Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

ANEXO 2

Parte de la planta de *Crescentia alata*²⁴ (morro)



Hoja



Flor



Fruto



ANEXO 3

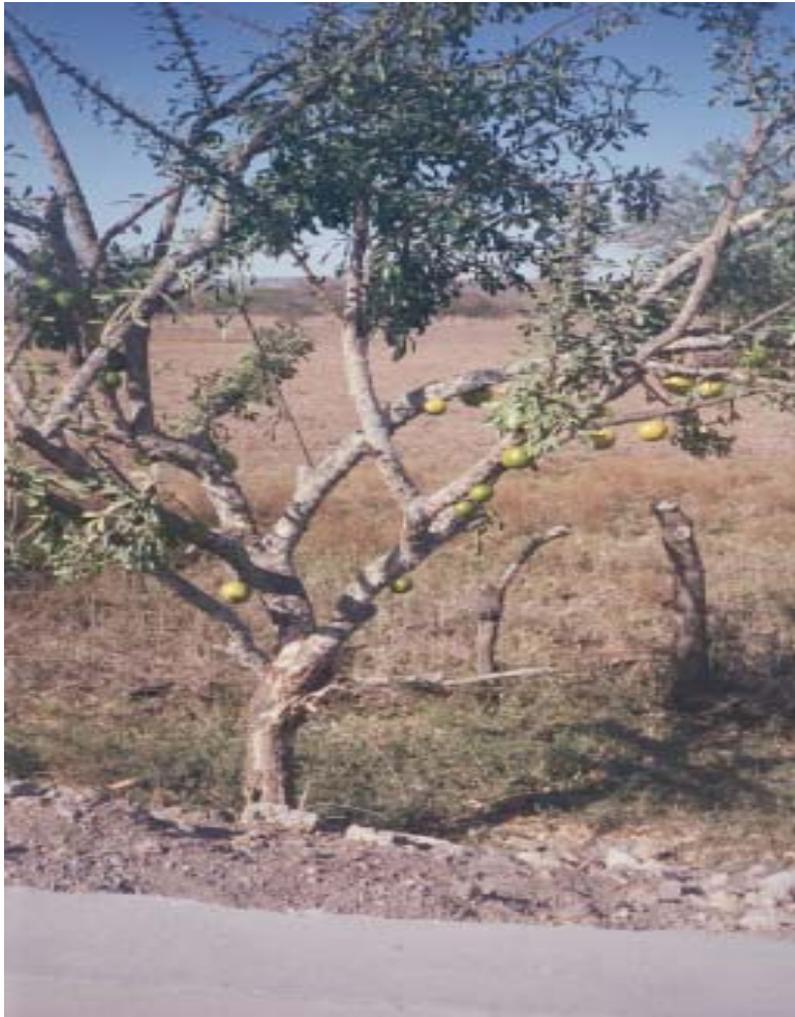


Figura N° 1. Arbol de *Crescentia alata* (morro), San José Villanueva, La Libertad.

ANEXO 4



ASOCIACION JARDIN BOTANICO LA LAGUNA

Antiguo Cuscatlán, Martes 28 de Octubre de 2003

Por este medio hago constar que a los bachilleres: Erla Yanira Campos y Sonia Raquel Velázquez se les identificó una muestra de *Crescentia alata* Kunth in Humb., utilizada para el trabajo de graduación de dichas personas.

Y para los usos que el interesado estime conveniente, firmo:



Lic. Jorge Alberto Monterrosa Salomón
Herbario Jardín Botánico La Laguna



ANEXO 5

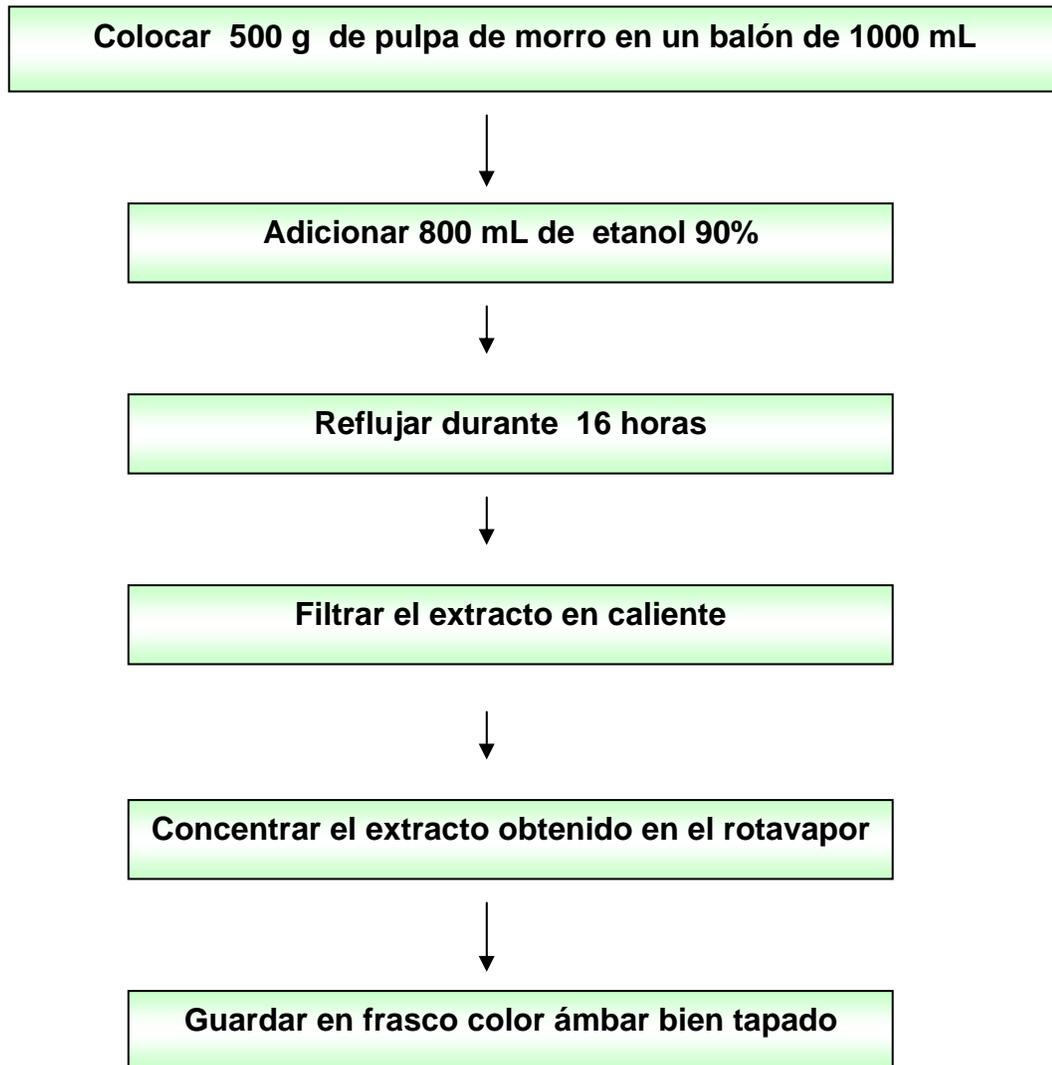


Figura N° 2. Esquema del Método de Reflujo. Extracto Etanólico. ⁽¹⁹⁾

ANEXO 6

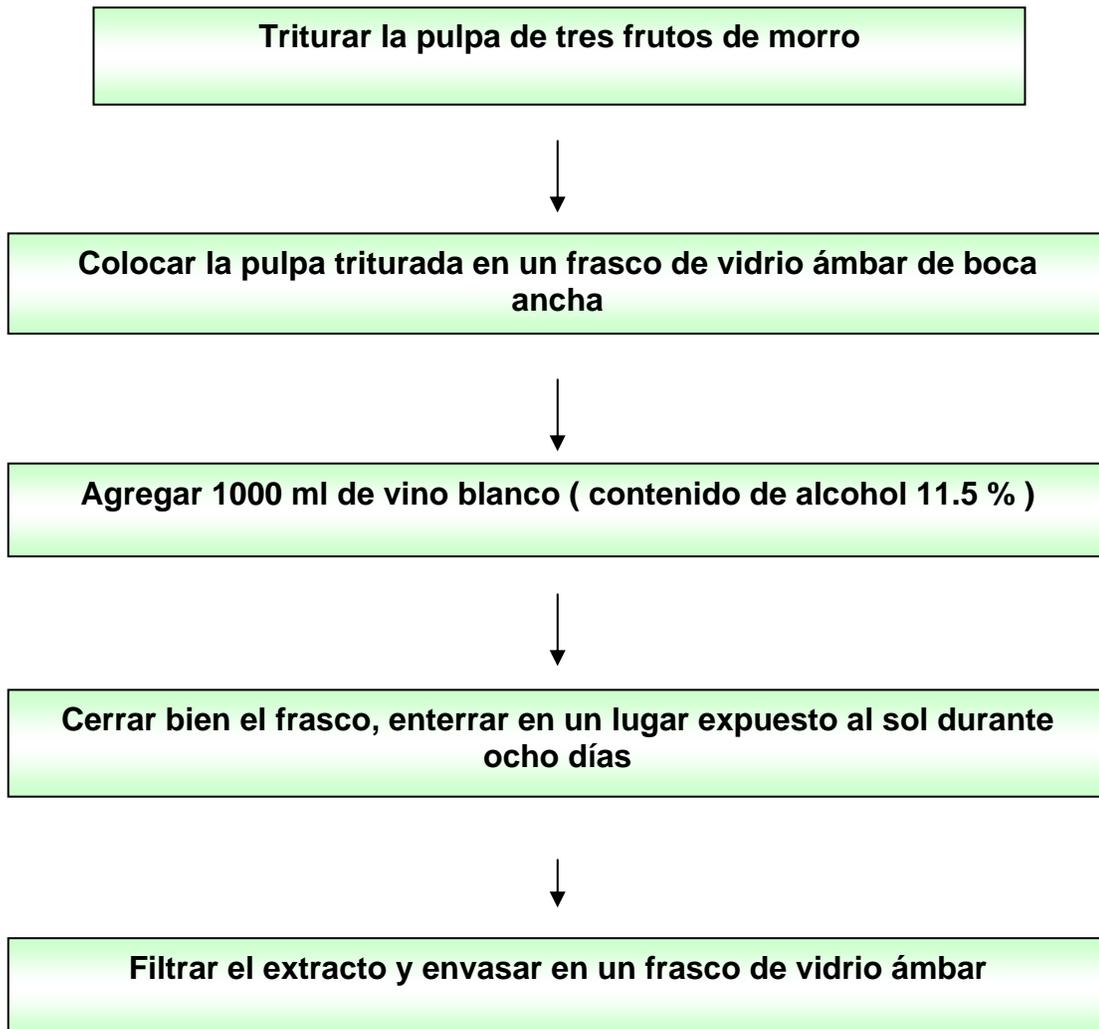


Figura N° 3. Esquema de la Preparación Popular. Método de Maceración en Frío.

Pruebas Fitoquímicas Preliminares ^(9, 19)

SUSTANCIA	PRUEBA	PROCEDIMIENTO	RESULTADO
Glicósidos Saponínicos	Prueba de Liebermann-Burchard	10 mL de extracto + 5 mL H ₂ SO ₄ 10 %. Hervir 10' y enfriar. Agregar 20 mL CHCl ₃ y agitar. Concentrar hasta 2 mL el extracto clorofórmico y agregar 1 mL de anhídrido acético + 3 gotas H ₂ SO ₄ []	Saponinas esteroidales: coloración violeta Saponinas triterpenoides: coloración verdosa
	Prueba de Salkowski	3 mL de extracto + 5 gotas de H ₂ SO ₄ [] gota a gota por las paredes	Cambio de color inmediato o gradual. Formación de un anillo de color rojo
	Método de la espuma	1 gramo de muestra + 5 mL H ₂ O destilada. Agitar por 30'' y dejar reposar.	Formación de espuma de 3 cm arriba de la superficie del líquido que persiste por más de 15'
Glicósidos Cardiotónicos	Prueba de Legal	Llevar a sequedad 1-2 mL de extracto. Agregar 3 gotas de piridina, 2 gotas de nitroprusiato de sodio al 0.5% y 3 gotas de NaOH 2 N	Color rojo intenso
	Prueba de Keller-Killiani	Evaporar a sequedad 2 mL de extracto. Agregar 2 mL de reactivo de Keller y con cuidado gotas del reactivo de Killiani	Coloración roja
	Prueba de Kedde	Evaporar en baño de María 2 mL del extracto. Agregar 2 mL de alcohol, 1 mL de sln. Alcohólica de NaOH 1N y 2 mL de sln de ácido 3,5 Dinitrobenzóico	Coloración púrpura
	Prueba de Liebermann-Burchard	A 2 mL del extracto agregar 1 mL de cloroformo, agitar suavemente y añadir 1 mL de anhídrido acético y 3 gotas de H ₂ SO ₄ []	Formación de anillo violeta

Pruebas Fitoquímicas Preliminares ^(9, 19)

SUSTANCIA	PRUEBA	PROCEDIMIENTO	RESULTADO
Glicósidos Flavonoides	Prueba de Shinoda	5 mL extracto + cinta de Mg + 1 mL HCL []	Coloración naranja, roja, azul o violeta
Glicósidos Antraquinónicos	Prueba de Borntrager	Evaporar a sequedad 15 mL de extracto agregar 30 mL de agua destilada y Filtrar. Adicionar 10 mL de Benceno, agitar. Tomar capa bencénica y agregar 5 mL de amoníaco	Coloración roja, rosa o violeta
Sesquiterpenlactonas	Prueba de Legal	2 mL de extracto + 3 gotas de piridina + 5 gotas de nitroprusiato de sodio 0.5% + 5 gotas de NaOH 2N	Coloración rosa
	Prueba de Baljet	2 mL de extracto + 4 gotas de reactivo formado por volúmenes iguales de solución A (ácido pícrico en sln etanólica) y solución B (hidróxido de sodio en sln acuosa)	Coloración naranja o rojo oscuro
Alcaloides	Reactivo de Dragendorff	Agregar gotas del reactivo de Dragendorff a 2 mL del extracto	Precipitado naranja fuerte
	Reactivo de Mayer	Agregar gotas del reactivo de Mayer a 2 mL del extracto	Precipitado amarillento
	Reactivo de Wagner	Agregar gotas del reactivo de Wagner a 2 mL del extracto	Precipitado marrón

ANEXO 7 Continuación

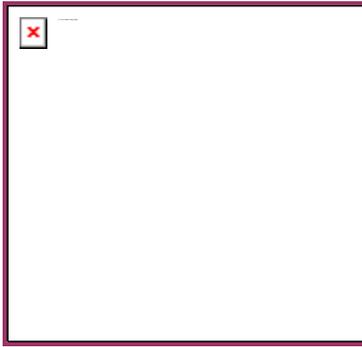
Pruebas Fitoquímicas Preliminares ^(9, 19)

SUSTANCIA	PRUEBA	PROCEDIMIENTO	RESULTADO
Taninos	Cloruro Férrico	2 mL extracto + 3 gotas de Cloruro férrico	Coloración azul-negro o verde
	Solución de Gelatina	2 mL de extracto + 2 mL solución de gelatina	Precipitado beige
	Solución de Cafeína	2 mL de extracto + 2 mL de solución de cafeína	Turbidez
	Subacetato de plomo	2 mL de extracto + 2 mL de subacetato de plomo	Precipitado coloidal beige
	Dicromato de potasio	2 mL de extracto + 2 mL de Dicromato de potasio	Precipitado café pardo
	Clorhidrato de quinina	2 mL de extracto + 2 mL de Clorhidrato de quinina	Precipitado beige

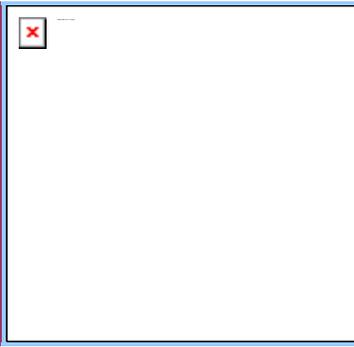
ANEXO 7 Continuación

ANEXO 8

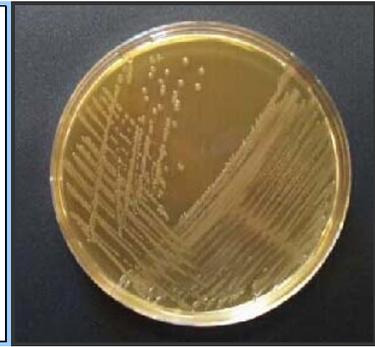
Morfología Macroscópica



Escherichia coli
Agar Mac Conkey



Salmonella sp
Agar *Salmonella-Shigella*



Shigella sp

PRUEBA	RESULTADO
Morfología macroscópica	<p><i>Escherichia coli</i> en agar Mac Conkey: colonias grandes, rojas con halo turbio.</p> <p><i>Salmonella sp</i> en agar <i>Salmonella-Shigella</i>: colonias pequeñas, amarillas con puntos negros y alteración en el color del medio de cultivo.</p> <p><i>Shigella sp</i> en agar <i>Salmonella-Shigella</i>: colonias pequeñas, incoloras y transparentes.</p>

ANEXO 9

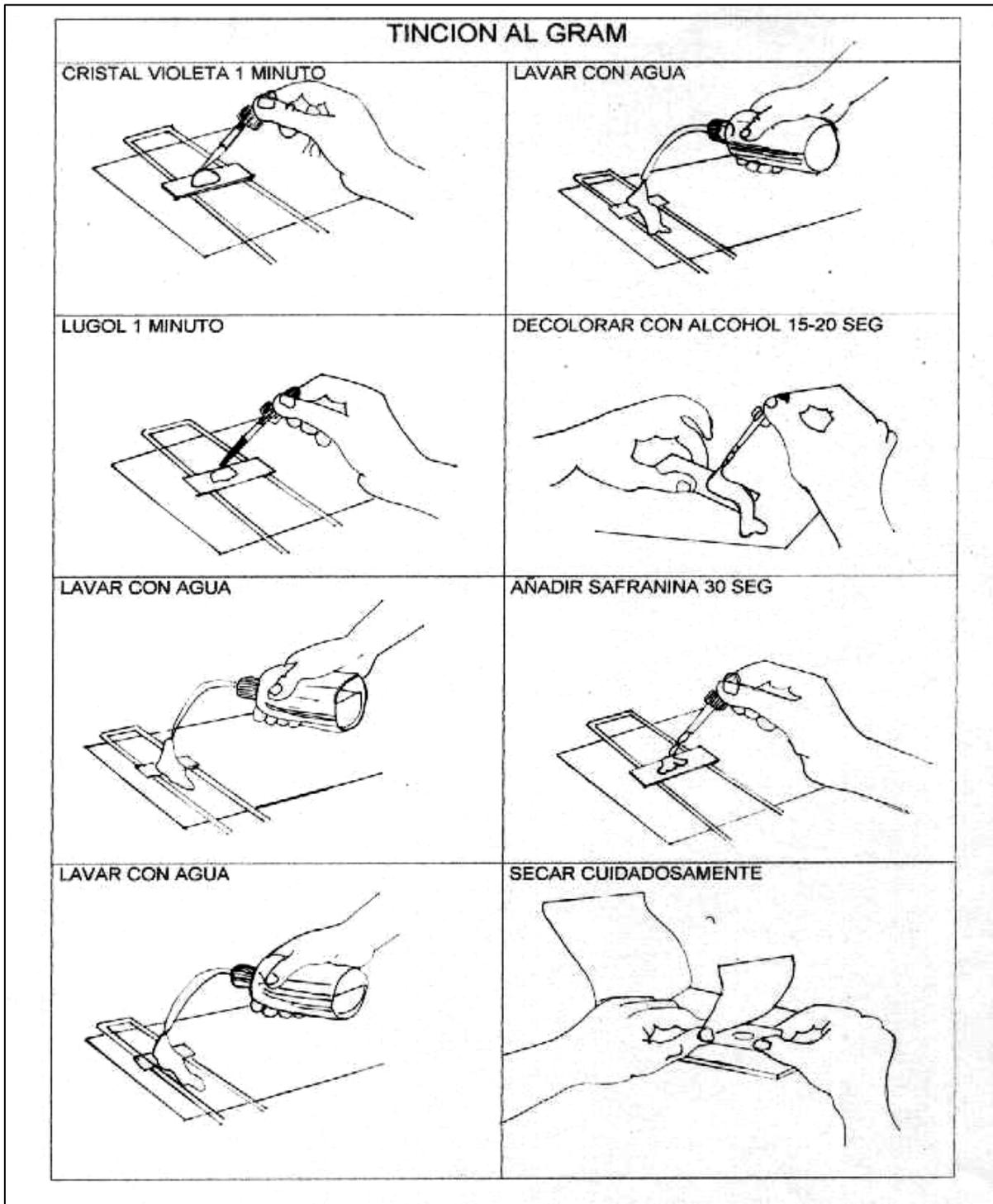


Figura N° 4. Morfología Microscópica. Método de Tinción al Gram ⁽²⁰⁾

ANEXO 10

Pruebas Bioquímicas de Identificación de Microorganismos ⁽²⁰⁾

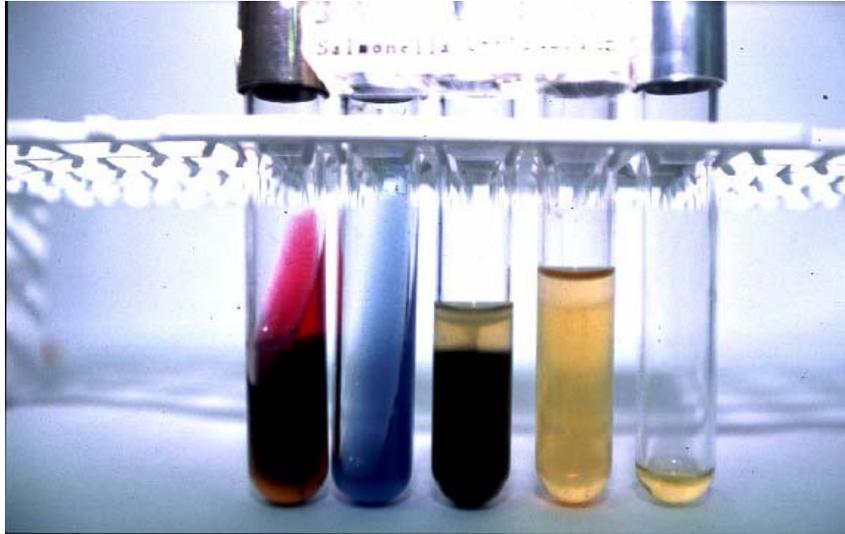
PRUEBA	PRINCIPIO	RESULTADOS		
		E. coli	Salmonella	Shigella
Agar triple azúcar y hierro (TSI)	Es una prueba diferencial para la producción primaria de patógenos entéricos gram negativos, con ella se determina la formación de ácido y gas de la fermentación de dextrosa, lactosa y sacarosa.	A / A*	K / A*	K / A*
CITRATO	Prueba basada en la utilización del citrato como fuente de carbono por la bacteria, una reacción positiva cambia el medio de su color verde original a azul intenso	-	+	-
INDOL	Prueba para determinar la presencia o ausencia de indol como subproducto del metabolismo de la bacteria. La producción de indol depende de la presencia del grupo triptófano en el medio, la enzima triptofanasa es responsable de la formación de indol observándose un anillo rojo brillante en la interfase del medio y solvente	+	-	+
ROJO DE METILO	Prueba para demostrar si la bacteria ha seguido la fermentación ácido mixta o fórmica	+	+	+
VOGES PROSKAUER	Prueba útil para determinar si la bacteria produce acetilmetil carbinol ó acetoína a partir de ácido pirúvico, en una reacción positiva se determina por la coloración rosada o roja	-	-	-
MOVILIDAD	Es una prueba para determinar la movilidad de la bacteria, una reacción positiva se manifiesta por una zona difusa del desarrollo que se extiende desde la línea de inoculación	+	+	-

* A / A: producción de ácido en bisel y fondo
(+) : resultado positivo

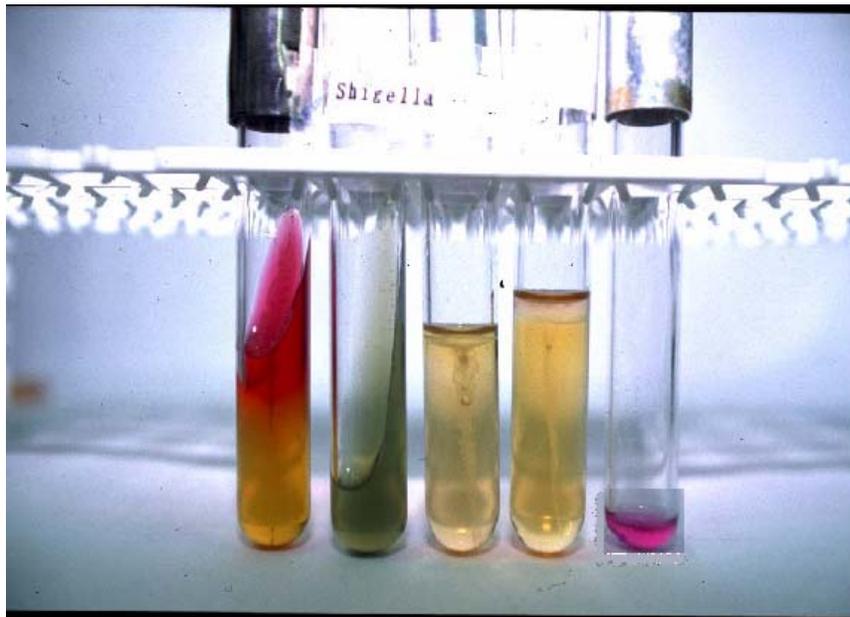
K / A: bisel alcalino, fondo ácido
(-) : resultado negativo

ANEXO 10 Continuación

Resultado de Pruebas Bioquímicas



Pruebas Bioquímicas de ***Salmonella sp***: TSI, Citrato, Movilidad, Voges Proskauer e Indol



Pruebas Bioquímicas de ***Shigella sp***: TSI, Citrato, Movilidad, Voges Proskauer e Indol

ANEXO 10 Continuación

Resultado de Pruebas Bioquímicas



Pruebas Bioquímicas para *Escherichia coli*: TSI, Citrato, Movilidad, Voges Proskauer, Indol

ANEXO 11

PREPARACION DEL ESTANDAR MAC FARLAND ⁽²⁰⁾

9.8 mL de H₂SO₄ 1% + 0.2 mL BaCl₂ 1%

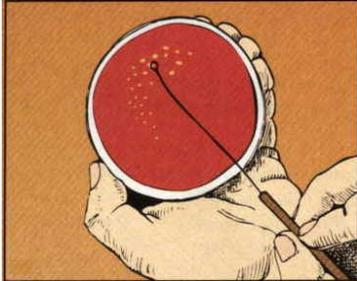


- Densidad aproximada: 6×10^8 microorganismos/mL
- Preparación de las suspensiones de ***Escherichia coli***, ***Salmonella sp*** y ***Shigella sp***: 10 mL de agua estéril + cantidad necesaria de microorganismos

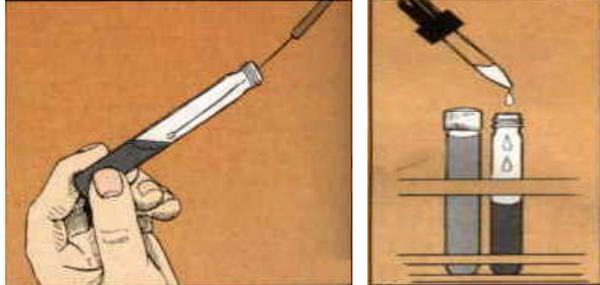
ANEXO 12

METODO DE KIRBY BAUER MODIFICADO ⁽¹⁸⁾

1. Remover la colonia mediante un asa bacteriológica



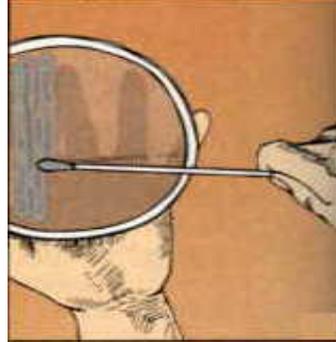
2. Suspensión de la bacteria
Turbidez comparada con estándar McFarland



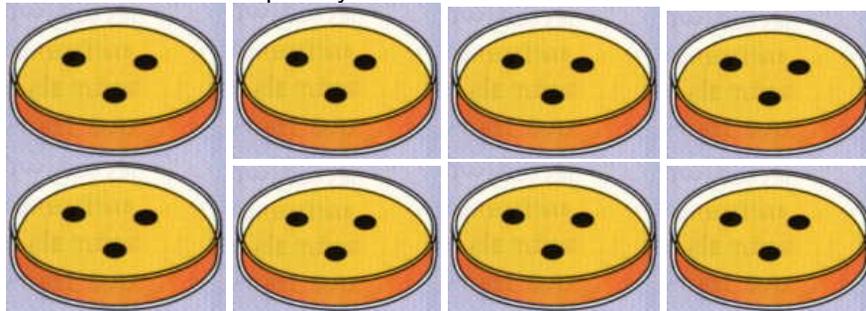
2. Impregnar el hisopo con la suspensión del microorganismo



3. Sembrar por hisopado en la superficie de agar Muller Hinton



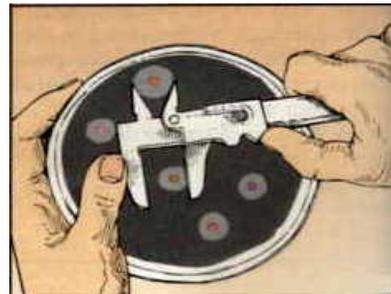
4. Colocar los cilindros en cada placa y llenarlos con el extracto a evaluar con micropipeta



5. Incubación a 37 °C temperatura
Por 24 – 48 h

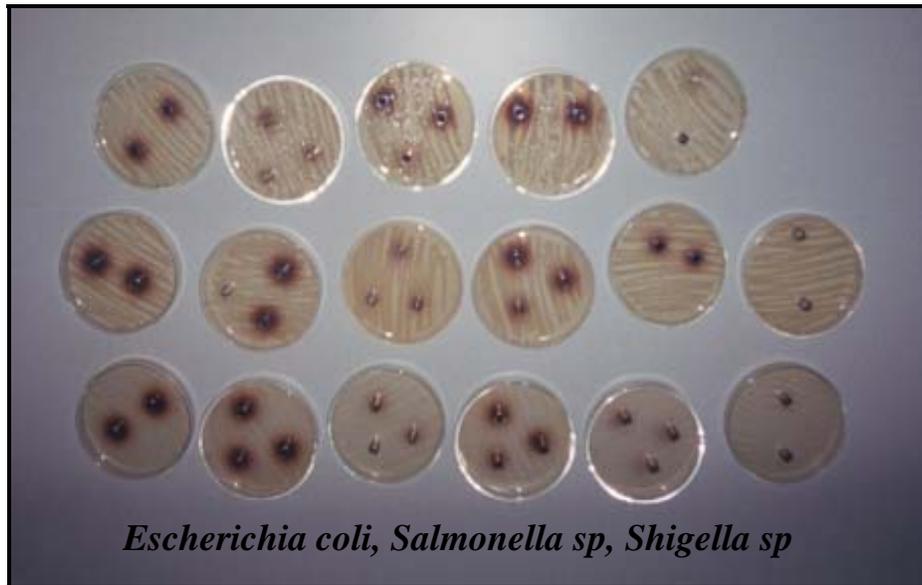


6. Medición de los halos de inhibición



ANEXO 13

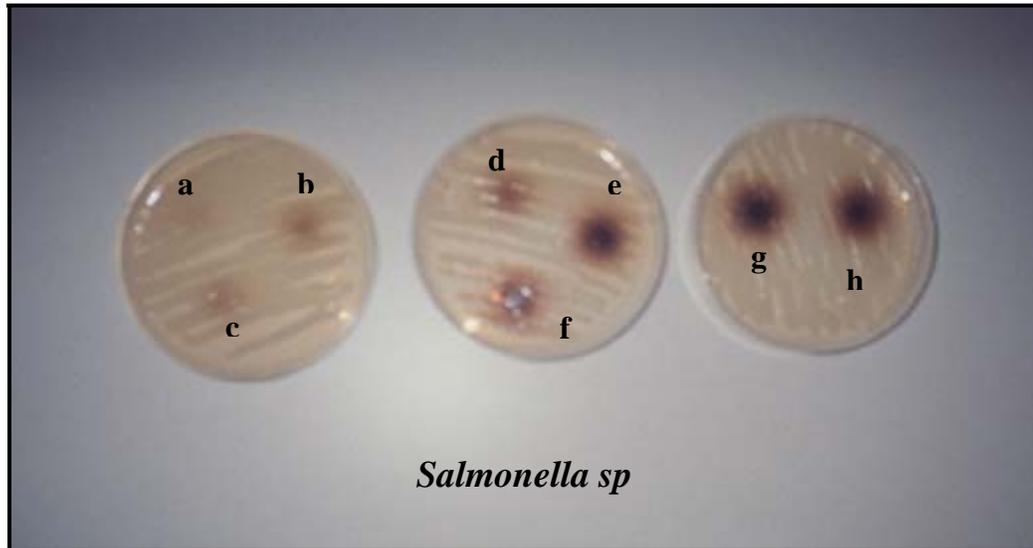
RESULTADOS DE LA EVALUACION MICROBIOLÓGICA
METODO DE KIRBY BAUER



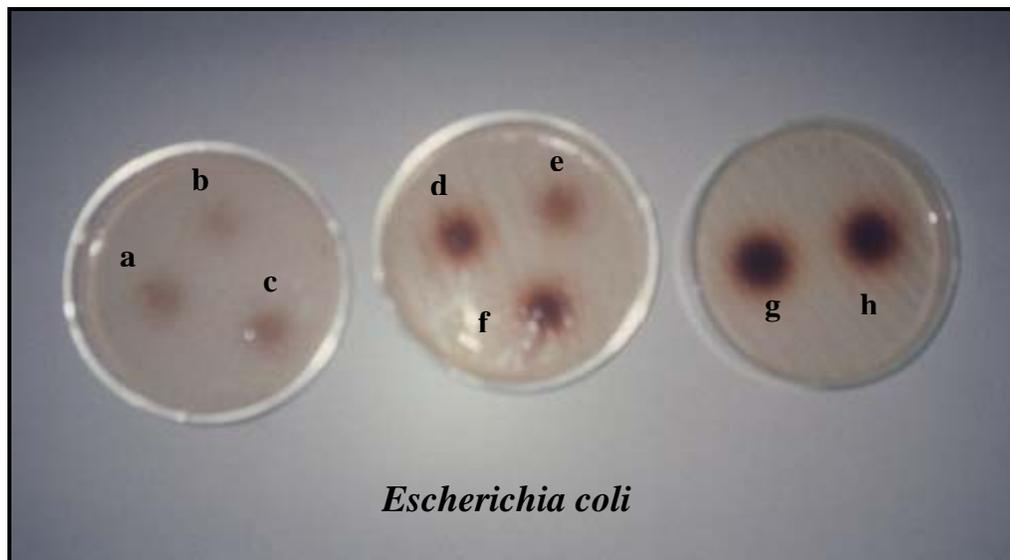
Shigella sp a concentraciones de: a) 0.57, b) 1.15, c) 1.72, d) 2.3, e) 2.87, f) 5.75, g) 8.62, h) 9.77%

ANEXO 13 Continuación

RESULTADOS DE LA EVALUACION MICROBIOLÓGICA
METODO DE KIRBY BAUER



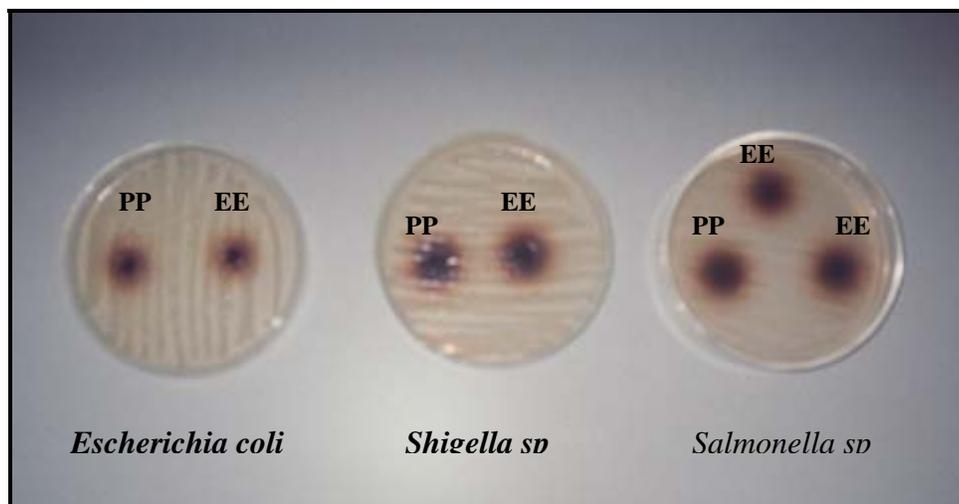
Salmonella sp a concentraciones de: a) 0.57, b) 1.15, c)1.72, d)2.3, e) 2.87, f) 5.75, g) 8.62, h) 9.77 %



Escherichia coli a concentraciones de: a)0.57, b) 1.15, c)1.72, d)2.3, e) 2.87, f) 5.75, g) 8.62, h) 9.77 %

ANEXO 14

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA MÉTODO DE KIRBY BAUER EN LOS EXTRACTOS DE LA PULPA DE CRESCENTIA ALATA AL 11.5%



Escherichia coli*, *Shigella sp* y *Salmonella sp en la Preparación Popular (PP) y Extracto Etanólico (EE) al 11.5%

ANEXO 15

Materiales, Equipo y Reactivos

✓ Cristalería y otros materiales

Vasos de precipitado (10, 50, 100, 250, 400, 1000 mL)

Probetas (5,10,25,50,100 mL)

Embudo de separación (125 y 250 mL)

Tubos de ensayo y tubos con tapón de rosca

Tubos de hemólisis

Agitadores

Embudos corrientes

Mortero y pistilo

Aparato de reflujo simple

Balón de fondo redondo de 1000 mL

Cajas petri

Erlenmeyer (100,250,500,1000 mL)

Pipetas Pasteur y Mohr

Portaobjetos y cubreobjetos

Aro metálico

Malla de asbesto

Trípode

Baño María metálico

Espátulas

Papel filtro

Algodón

Asas bacteriológicas

Gradillas

Guantes de látex y mascarilla

Hisopos con mango de madera

Papel aluminio, empaque

Tirro, etiquetas

Gasas

Cilindros de acero inoxidable

✓ Equipo

Mechero Bunsen

Hot Plate (Thermoline 1900)

Balanza granataria (ohaus modelo 700)

Autoclave (Thelco)

Microscopio (Monopan)

Incubadora (Thelco)

Cámara de Flujo Laminar (Telstar BV – 100)

Refrigeradora (Marca Cetron)

✓ Reactivos y Disolventes

Alcohol etílico

Alcohol isopropílico

Agua destilada

Crystal violeta

Lugol

Safranina

Cloruro de bario 1%

Ácido clorhídrico concentrado

Ácido sulfúrico concentrado y diluido

Anhídrido acético

Cloroformo

Magnesio sólido

Benceno

Amoniaco

Solución de cloruro férrico 1%

Solución de gelatina 1%

Solución de cafeína 1%

Agua de bromo

Solución de piridina 1%

Nitroprusiato de sodio 0.5%

Hidróxido de sodio 2 N

Hidróxido de sodio en solución acuosa 20%

Hidróxido de sodio en solución alcohólica 1 N

Ácido Pícrico en solución etanólica 10%

Reactivo de Keller (ácido acético glacial + trazas de tricloruro de hierro)

Reactivo de Killiani (H₂SO₄ + trazas de sulfato ferroso)

Solución de ácido 3,5 Dinitrobenzóico en etanol 2%

Reactivo de Dragendorff

Reactivo de Mayer

Reactivo de Wagner

Medios de cultivo

Agar Müller Hinton

Agar Mc Conkey

Agar Salmonella – Shigella

Cepas puras de microorganismos

Escherichia coli

Salmonella sp

Shigella sp

ANEXO 15 Continuación
Equipo Utilizado



Incubadora



Cámara de Flujo Laminar