

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

Facultad de Química y Farmacia



Investigación de la Actividad Antimicrobiana de 25 Extractos de Especies Vegetales Utilizadas por la Población Materno – Infantil

Trabajo de graduación presentado por :
Roberto Enrique Alvarado Ramírez
Yeni Karla López Sorto
Max Alberto Orellana Silva

Para optar al Grado de:

Licenciado en Química y Farmacia

Octubre de 2003

San Salvador El Salvador Centroamerica



©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

RECTOR

DRA. MARIA ISABEL RODRÍGUEZ

SECRETARIO GENERAL

LICDA. LIDIA MARGARITA MUÑOZ VELA

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIO

LICDA. MIRIAM DEL CARMEN RAMOS DE AGUILAR

ASESORES

LICDA. RHINA ANTONIETA TOLEDO MENDOZA

LICDA. CORALIA FIGUEROA DE MURILLO

JURADO

ING. MARIA DEL CARMEN GUILLÉN DE MEDRANO

LICDA. AÍDA ESTELA ROSALES RIVAS

LIC. SALVADOR CASTILLO ARÉVALO

AGRADECIMIENTOS

A DIOS TODO PODEROSO PRIMERAMENTE, Por ser la única guía de nuestras vidas, sin el cual no somos nada, a El le dedicamos nuestro trabajo.

A LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR, especialmente nuestra querida FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA, por habernos formado como excelentes profesionales.

A NUESTRAS ASESORAS, Licda. RHINA ANTONIETA TOLEDO Y Licda. CORALIA DE MURILLO, por su incondicional apoyo y sus consejos a lo largo de esta investigación.

A LOS MIEMBROS DEL JURADO CALIFICADOR: Lic. SALVADOR CASTILLO, Licda. AIDA e Ing. DE MEDRANO, por su valiosa colaboración en la culminación de esta investigación.

QUE DIOS NOS BENDIGA.

AGRADECIMIENTO

A la Asociación de Promotores Comunales Salvadoreños (APROCSAL), por su colaboración en el financiamiento de este trabajo. Gracia por mostrar interés en nuestra investigación científica y a la vez en muchos estudios afines, que van dirigidos a los sectores mas vulnerables de nuestra sociedad.

DEDICATORIA

A DIOS Y JESUCRISTO PRIMERAMENTE: por darme fuerzas para seguir adelante y cumplir mis metas y sueños, por enseñarme a ser hombre de bien y enseñarme a caminar en este mundo seguro de que El está conmigo.

A MIS PADRES: Por su apoyo incondicional, sus consejos, su sana crítica, su amor, su dedicación, su gran esfuerzo a lo largo de toda la carrera.

A MI HERMANA PATRICIA: Quien siempre ha sido un ejemplo para mí, su determinación en cumplir lo que se propone es siempre digno de imitar.

A MIS QUERIDOS HERMANOS ANA, RUBÉN, ALEX Y DAVID: Con quienes comparto los triunfos que Dios me ha permitido alcanzar.

A MI ABUELA NATIVIDAD: Quien me ha cuidado desde pequeño y siempre deseó ver culminada mi carrera.

A MIS COMPAÑEROS DE TESIS MÁX. Y YENI: Por haber aceptado trabajar conmigo y dar su aporte y apoyo con lo que alcanzamos juntos nuestro sueño.

Roberto Enrique Alvarado Ramírez

DEDICATORIA

PRIMERAMENTE A DIOS TODO PODEROSO: Por brindarme la oportunidad de coronar mi carrera ya que sin su ayuda esta empresa no hubiese sido posible.

A MIS PADRES ODILIO ORELLANA Y CONSUELO SILVA DE ORELLANA: Por su apoyo y amor incondicional.

A MIS HERMANOS VERÓNICA Y ENRIQUE: Por su cariño y ayuda durante toda mi carrera.

A MIS COMPAÑEROS YENI Y ROBERTO: Por la confianza puesta en mi, su esmero para sacar adelante este proyecto y su amistad sincera durante todo este tiempo.

A NUESTRAS ASESORAS LICDA. RHINA TOLEDO Y LICDA.. CORALIA DE MURILLO: Por su aporte profesional y cariño mostrado durante el desarrollo de la tesis.

A MIS AMIGOS Y AMIGAS: Que de una u otra forma me incentivaron a seguir adelante en momentos de flaqueza.

Sinceramente. Máx Alberto Orellana Silva

DEDICATORIA

LE AGRADEZCO EN PRIMER LUGAR A DIOS TODO PODEROSO: Por permitirme culminar mi carrera y llegar a ser una profesional y todas las bendiciones que me ha dado hasta ahora.

A MI MADRE: Por todo su amor y apoyo a lo largo de toda mi vida, lo que soy se lo debo a ella.

A MIS COMPAÑEROS DE TESIS, a Roberto Alvarado por su gran ayuda , por su paciencia y comprensión a lo largo de toda la preparación de esta tesis. A Max Orellana por su amistad y ayuda .

A NUESTRAS ASESORAS DE TESIS: Licda. Toledo y Licda. de Murillo .

Yeni Karla López Sorto

INDICE GENERAL

	Pagina
RESUMEN	i
INTRODUCCIÓN	ii
CAPITULO I : REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	1
1. Monografías	2
1.1 <u>Chenopodium ambrosoides</u> (Epazote_)	2
1.2 <u>Ocinum basilicum</u> (Albahaca_)	7
1.3 <u>Zingiber officinals</u> (jengibre)	13
1.4 <u>Lippia alba</u> (Salvia Santa)	18
1.5 <u>Paspalum notatum</u> (grama_)	24
1.6 <u>Lycopersicum esculentum</u> (tomate)	27
2. Generalidades de las cepas sometidas a bioensayo	30
2.1 <u>Staphylococcus aureus</u>	30
2.2 <u>Escherichia coli</u>	32
2.3 <u>Cándida albicans</u>	35
2.4 <u>Salmonella typhi</u>	37
3. Método Mitscher (Método de Dilución en Agar)	39
3.1 Microorganismos de Prueba y Medios de Cultivo	40

CAPITULO II : PARTE EXPERIMENTAL	42
1 . RECURSOS MATERIALES.	43
1.1 Especies Vegetales	43
1.2 Cepas de Referencia.	44
1.3 Cristalería	44
1.4 Materiales	45
1.5 Equipo	46
1.6 Reactivos y solventes	46
1.7 Medios de cultivo	48
2 . METODOLOGÍA.	49
2.1 Recolección y Preparación del Material Vegetal	49
2.2 Etapa de Extracción	51
2.2.1 Técnica de Extracción por Precolación	51
2.2.2 Concentración en Rotavapor	52
2.3 Pruebas de Identificación Fitoquímicas preliminares	53
2.4 Pruebas de Identificación Microbiológicas	54
2.5 Determinación de la Actividad Antimicrobiana in Vitro	55
2.5.1 Preparación de Placas Agar-Extracto	56
2.5.2 Preparación del Inoculo o Suspensión de Microorganismos	57
2.5.3 Determinación de la Actividad Antimicrobiana	58
2.5.4 Interpretación de Resultados	59

2.6 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria	60
2.6.1 Preparación de Placas Agar – Extracto	61
2.6.2 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria	61
2.6.3 Interpretación de Resultados	62
CAPITULO III : RESULTADOS Y DISCUSIÓN	68
CAPITULO IV : CONCLUSIONES	86
CAPITULO V : RECOMENDACIONES	91
BIBLIOGRAFÍA	95
ANEXOS	
GLOSARIO	

RESUMEN

El presente estudio comprende la determinación de la actividad antimicrobiana de 25 plantas y la concentración mínima inhibitoria de cada uno de sus extractos, con la cual el microorganismo a ensayar es inhibido.

Se efectuó la recolección del material vegetal, tomando de este la parte u órgano de interés, procediéndose a lavar con abundante agua destilada. Se secó el material vegetal, rotulándose adecuadamente y se micronizó para que existiera mejor superficie de contacto con el solvente de extracción.

Cada extracto se obtuvo por maceración en un percolador con etanol 80 % y se concentró en un rotavapor al vacío a presión reducida y temperatura controlada hasta alcanzar consistencia viscosa, guardándose herméticamente protegidos de la luz y en refrigeración.

A los extractos obtenidos se les realizaron pruebas fitoquímicas preliminares para determinar cualitativamente la presencia de metabolitos secundarios tales como alcaloides, taninos, flavonoides, glicosidos saponínicos y cardiotónicos, antraquinonas y sesquiterpenlactonas.

Los microorganismos ATCC utilizados fueron *Escherichia coli*, *Salmonella tiphy*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans*.

A los microorganismos utilizados se les realizaron tres pruebas de identificación microbiológicas: Características microscópicas, Pruebas bioquímicas y Características Macroscópicas de las colonias en diferentes medios de cultivos, con el fin de asegurar que el microorganismo utilizado es el adecuado.

A cada extracto obtenido se inoculó cada uno de los cuatro microorganismos por duplicado en placas de agar + extracto de concentración determinada.

Se procedió a realizar la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) en las placas donde existía repetitividad de resultados para un mismo extracto e inhibición positiva de este, a concentraciones de 100 mcg / mL, 50 mcg / mL, 25 mcg / mL y un control negativo, estableciéndose el CIM para cada microorganismo.

INTRODUCCIÓN

Los tratamientos con plantas medicinales gozan cada vez mas del interés de los profesionales de la salud, por diferentes razones como:

- Escasos recursos de los servicios de salud en zonas rurales y urbanas marginadas.
- Elevada demanda por parte de la población.
- Renacimiento del interés por parte de las organizaciones interesadas por la salud de la población.
- Comprobación científica de la efectividad de muchas plantas medicinales a través de estudios especializados como el desarrollado en este trabajo.

Aunque lamentablemente, debido a la marginación de la medicina tradicional, se han perdido muchos conocimientos valiosos sobre gran cantidad de estas especies medicinales, en El Salvador aun existen muchos conocimientos empíricos sobre las bondades de muchas especies vegetales, por lo que se ha hecho una selección de plantas basada en diagnósticos realizados en zonas rurales de nuestro país, demostrando que las mujeres en estado de embarazo, post-parto y la población infantil es el grupo poblacional que mas utiliza una serie de plantas medicinales que serán analizadas microbiologicamente en este estudio.

Nuestro país tiene la ventaja de poseer gran riqueza de recursos botánicos por lo que muchas especies vegetales son muy utilizadas medicinalmente donde la cobertura de salud es deficiente y la demanda grande, agravándose este problema por el alto costo de los medicamentos farmacéuticos.

Debido a la necesidad de la población mas vulnerable socialmente expuesta a condiciones precarias de salud que utiliza plantas medicinales basándose en conocimientos folclóricos, culturales y empíricos, es de vital importancia abordar la investigación científica de especies vegetales principalmente las utilizadas en el área materno-infantil y encontrar sustancias activas que se utilicen como alternativas en el tratamiento de enfermedades infectocontagiosas que es donde se requiere de mayores investigaciones para encontrar principios activos antimicrobianos efectivos, seguros y al alcance de todos.

El presente trabajo de investigación forma parte de un macroproyecto titulado: “Búsqueda de Bioactividad Mediante Bioensayos Simples en Extractos de Veinticinco Especies Vegetales Utilizadas en el Área Materno Infantil”, el cual es apoyado por la Asociación de Promotores Comunales Salvadoreños (APROCSAL) y la sección de Investigación Aplicada y Tesis Profesionales de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

El proyecto debe cumplir la necesidad de validación de la efectividad antimicrobiana (si tuviese), así como Actividad Citotóxica con Artemia Salina, Interacción con ADN, Determinación del efecto larvicida contra Aedes aegyptii que presentan veinticinco plantas mayormente utilizadas en el área materno-infantil. En este trabajo se presentan las monografías de 6 especies, las 19 restantes se encuentran repartidas en el resto de los proyectos complementarios.

El estudio se basa en realizar bioensayos de los extractos obtenidos a través de maceración en un percolador y posterior concentración en rotavapor sobre cuatro microorganismos.

El estudio se divide en dos etapas, en la primera etapa se eliminan las plantas que no tienen ninguna acción inhibitoria sobre los microorganismos de prueba, realizando siembras de una suspensión de cada uno de los microorganismos sobre placas de agar + extracto a una concentración determinada y en posiciones previamente asignadas.

En la segunda parte, en aquellas que mostraron inhibición, se determina la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) que es la concentración mas baja en la cual el extracto es capaz de inhibir un microorganismo, por medio de la preparación de placas de agar - extracto a diferentes concentraciones.

Los ensayos se realizan a través del método MITSCHER o Método de Dilución en Agar que es un método rápido, sensible, reproducible y permite evaluar para un extracto varias concentraciones y microorganismos a la vez, y se utiliza a nivel Iberoamericano por el Programa de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED).

El objetivo es investigar la actividad antimicrobiana de extractos de veinticinco especies vegetales utilizadas por la población materno-infantil y elaborar un documento que aporte información científica que ayude en parte a la validación de las especies vegetales y la actividad antimicrobiana de los extractos analizados, así como divulgar los resultados obtenidos para un mejor aprovechamiento de las especies vegetales.

CAPITULO I

REVISION

BIBLIOGRAFICA

1. MONOGRAFÍAS.

1.1 *Chenopodium ambrosoide*

FAMILIA:

CHENOPODIACEAE

SINONIMOS:

Blitium ambrosoides, Teloxys ambrosioides^{5, 19}.

NOMBRES POPULARES:

Epazote, Apasote, Pasote, Ambrosia, Hierba Santa^{5, 19}.

DESCRIPCION BOTANICA:

Hierba de fuerte olor fétido, ramosa, arbustífera, tallo acanalado, rojizo, 60 a 150 cm de alto, hojas alternas casi sin tallo, 2 a 9 cm de largo, oblongo– lanceoladas; superiores pequeñas enteras; inferiores , finamente dentadas, conspicuamente venenosas, punteadas por glóbulos de aceite, flores pequeñas amarillas, en espigas largas, delgadas, axilares y terminales, semillas pequeñas lentiformes, brillantes, contenidas en el cáliz, que huele al secarse^{5, 19}.

HABITAT:

Nativa y común de América tropical, diseminada en climas ligero templados, subtropical y tropical del mundo hasta 2,700 metros sobre el nivel del mar principalmente en bosques de encinos y tropicales^{5, 19}.

AGRICULTURA:

En El Salvador casi no existen cultivos del Epasote, crece en tierras no muy húmedas, terrenos pedregosos y soleados, no crece a una altura mayor de 2,700 metros sobre el nivel del mar⁵.

Se produce por medio de semillas que germinan con la humedad fácilmente. Se pueden encontrar en jardines y terrenos baldíos, son muy variables en su morfología y composición, si bien es común, no se cultiva en forma comercial, las plantas que se usan medicinalmente son recolectadas del estado silvestre. Crece bien en cualquier terreno, aunque prefiere un terreno arenoso y pedregoso, tierra húmeda, soleada, de elevaciones medianas y bajas. Las hojas se colectan al inicio de la floración y se secan a la sombra⁵.

COMPOSICION QUÍMICA:

La planta contiene aceite esencial, spinasterol, metil salicilato, sulfato y fosfato de magnesio, saponinas, sapogeninas de quenopodio y ureasa, alcaloies y taninos, terpinenos, flavonoides, alcohol triacontal, ácido butírico, cítrico, succínico y tartárico. El aceite esencial contiene hasta 90 % de

ascaridol, además de δ - alcanfor, p - cimeno, geraniol, limoneno, felandreno, mirceno, α - terpineno, α - terpineol, α - limoneno y diterpenos. La raíz contiene heterósidos triterpénicos⁵.

El análisis proximal de 100 g de hoja fresca contiene: 42 calorías, agua (85.5 g), proteína (3.8 g), grasa (0.7 g), carbohidratos totales (7.6 g), fibra (1.3 g), ceniza (2.4 g), calcio (304 mg), fósforo (52 mg), hierro (5.2 mg), caroteno (242 μ g), tiamina (0.06 mg), riboflavina (0.28 mg), niacina (0.6 mg) y ácido ascórbico (11 mg)⁵.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA:

Estudios antimicrobianos demuestran que la tintura al 10 % de las hojas no inhibe el crecimiento de *C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, en otro estudio se demostró que el extracto acuoso solo inhibe *S. aureus*. Se ha demostrado que las hojas tienen actividad antiamebiana, antifúngica y antimalárica^{5, 19}.

USOS MEDICINALES ATRIBUIDOS:

Planta de naturaleza caliente y olor nauseabundo, el cocimiento es de amplio uso para tratar afecciones gastrointestinales (diarrea, disentería, estreñimiento, inapetencia, indigestión, flatulencia, parasitosis intestinal) respiratorias (asma, catarro) y nerviosas, dolor de muelas, desórdenes menstruales, malaria, reumatismo, hipertensión y aliviar trastornos cardíacos.

La decocción de hojas se usa tópicamente en cataplasmas para tratar quemaduras, raspones, hemorroides, herpes, infecciones de la piel, llagas, úlceras, picaduras de insectos, fracturas, dislocaciones, tumores y ciertos cánceres; supositorios del polvo de hojas se aplica en casos de apendicitis^{5, 19}.

Se le atribuye propiedad antiséptica, antifúngica, antiparasitaria, cicatrizante, colagoga, desinflamante, diurética, emenagogo, sudorífica, tónica, vermífuga, antiviral, repelente, insecticida y fungicida⁵.

USOS TERAPÉUTICOS POPULARES:

Por su actividad antihelmíntica está indicado su uso para tratar parasitosis intestinales usando una dosis oral de 0.1 a 0.33 g de partes aéreas /Kg de peso hasta por tres días; según la OMS una dosis única de 20 g es efectiva y no muestra efectos secundarios aparentes⁵.

Por vía tópica está indicado su uso para tratar úlceras cutáneas y llagas aplicado en compresas emplastos o pomadas a base de la planta fresca, decocción o tintura^{5, 19}.

En la suspensión del embarazo o un parto forzado (aborto) antes del tiempo normal de evacuación, se administra ½ taza de la maceración con agua, colada de una matita por vía oral en ayunas⁵.

Contra el malestar en la espalda ocasionado por la dislocación de los discos vertebrales, se usa en combinación con Ruda cociendo 2 ramitas de este

con dos ramas tiernas (cogollo) de epazote, tomando una taza después de hacer un masaje en la columna⁵.

Se usa contra dolores de estomago e intestinales tomando ½ taza de la maceración de tres cogollos⁵.

Contra tumores inflamatorios dolorosos de origen bacteriano que aparecen en la piel y que se caracterizan por ser protuberantes, duros, a menudo con pus y con predisposición a infectarse mediante restregamiento por varios días de el cocimiento de dos cogollos en pedazos⁵.

FARMACOGNOSIA:

La materia médica son las hojas y frutos secos, que deben reunir las mismas características fisicoquímicas y sanitarias de las otras materias primas usadas para la elaboración de productos fitofarmacéuticos⁵.

TOXICOLOGÍA:

Los extractos acuosos y etanólicos (500 mg/ mL) de hoja y raíz son muy tóxicos a peces del género Mollinesia. La planta puede ser abortiva e irritante. El aceite esencial (10 mg/Kg) es carcinogénico en ratas. El polen puede causar alergia respiratoria^{5, 19}.

El ascaridol presenta efectos secundarios como cefalea, náusea e intoxicación; la intoxicación se manifiesta con vómitos, convulsiones, debilidad, somnolencia, disturbios cardíacos y respiratorios, postración y estupor.

La DL50 es 0.075 mL/Kg en ratón; el aceite esencial no es tóxico en aplicación dérmica en conejos y en estudios histopatológicos. En dosis altas puede ser mortal (0.1 mL de ascaridol / Kg); la autopsia revela edema pulmonar, degeneración grasa del hígado y lesiones del miocardio; está contraindicado en pacientes debilitados y embarazadas. Ampliamente usado contra varias parasitosis, pero su dosis terapéutica es cercana a la dosis tóxica, por lo que su uso debe ser cuidadoso y por tiempo limitado^{5, 19}.

1.2 *Ocimum basilicum*

FAMILIA:

LABIATAE (MENTHACEAE)

SINÓNIMOS:

Ocimum americanus^{2, 5, 19}.

NOMBRES POPULARES:

Albahaca cimarrona, Albajaca, Basen, Albahaca de moste, Albahaca de gallina^{2, 5, 19}.



DESCRIPCION BOTANICA:

Hierba aromática, anual, erguida de 50 a 70 cm de altura, ramificada, hojas elípticas a ovaladas y oblongas de 24 cm, algo dentadas o enteras. Inflorescencia con numerosos verticilos florales algo distantes, pedicelos de 4 a 7 mm de largo, recurvados, cáliz de 7 a 8 mm de largo, verdes, puberulentos o glabros, corola blanca^{2, 5, 19}.

HABITAT:

O. basilicum es nativa de Asia tropical, se ha naturalizado y se ha cultivado en todas las regiones de América^{2, 5, 19}.

AGRICULTURA :

O. basilicum se cultiva en climas templados con suelo rico de fertilidad media, ligero, silíceo– arcilloso, franco y permeable.

La multiplicación se hace por semillas o esqueje, la germinación se hace en vivero o directa, en la primera en un 85 % germinan a los 15 días, cuando tienen 6 hojas o 10 cm se trasplantan. El trasplante se hace en filas de 60 a 70 cm a una distancia entre matas de 20 a 30 cm. Las principales plagas que le atacan son pulgones, hormigas, hongos^{2, 5, 19}.

Las ramas mas frondosas se podan en la floración y se secan a la sombra.

COMPOSICIÓN QUÍMICA:

La composición química varía según las condiciones climáticas y genéticas. El tamizaje fitoquímico de *O. basilicum* demuestra derivados terpénicos, saponinas y aceite esencial (anetol, δ -alcanfor, cineol, borneol, camfenol, β -cariofileno, citronelal, estragol, eucaliptol, eugenol, geraniol, limoneno, linalol , metilcinamato, mirceno, α -terpineol, α - y β - pineni, ocimen), safrol, sesquiterpeno, taninos y sales de calcio y potasio. Contiene de 9 a 30 % de mucílago, compuesto de D- glucosa, D- galactosa, D- manosa, D- arabinosa, L- arabinosa, D- xilosa, D- ramnosa y ácido D- glucorónico. El análisis proximal de 100 g de hojas frescas contiene: 43 calorías, agua (86.5 g), proteína (3.3 g), grasa (1.2 g), carbohidratos totales (7.0 g), fibra (2.0 g) ceniza (2.0 g), calcio (320 mg), fósforo (38 mg), hierro (4.8 mg), sodio (12 mg), potasio (429 mg) , caroteno (450 μ), tiamina (0.08 mg), riboflavina (0.35 mg), niacina (0.8 mg), ácido ascórbico (27 mg)².

ACTIVIDAD BIOLÓGICA :

Estudios antimicrobianos demuestran que el extracto acuoso de hojas de *O. basilicum* es activo contra bacterias Gram.- positivas y Gram.- negativas e inactiva contra *C. albicans*, el extracto etanólico no inhibe *S. pyogenes* ni *S. aureus*. En pruebas de confirmación con tres disolventes se demostró ligera actividad contra *S. pneumoniae* y *S. pyogenes* en el extracto alcohólico².

USOS MEDICINALES ATRIBUIDOS:

El cocimiento e infusión se usa oralmente para tratar afecciones gastrointestinales (diarreas, disentería, gastralgias, parasitismo), respiratorias (bronquitis, catarro, fiebre, resfrió, tos) y nerviosas, dolor de oído y cabeza, halitosis, vértigo, infección renal y reumatismo. Tópicamente se usa en baños y cataplasmas para tratar afecciones dérmicas (llagas, pólipos, úlceras, verruga), tumores y parásitos del ganado, la tintura se usa para hacer fricciones en gota y reumatismo, la hoja fresca machacada se aplica para eliminar miasis nasal del genero Lucila , el polvo de hojas secas se aspira para descongestionar vías nasales y el jugo de hojas frescas para el lavado de ojos. El cocimiento de la raíz se usa para tratar malaria, la corteza es cianogenética y se usa para trastornos digestivos (cólera). Las semillas son mucilaginosas, diuréticas y nutritivas, por vía oral se usa para tratar afecciones digestivas y tópicamente para tratar llagas y úlceras ².

Se le atribuye propiedades antisépticas, aromáticas, astringentes, calmantes, carminativas, colagoga, diuréticas, emenagoga, espasmolítica, estomáquica, estornulatoria, febrífuga, galactogoga, rubefaciente, sudorífica , vermífuga, insecticida, funguicida y nematostática.

Tiene uso medicinal y alimenticio ².

USOS TERAPÉUTICOS POPULARES:

Por su actividad aperitiva, digestiva y espasmódica están indicadas por vía oral en el tratamiento de inapetencia, digestión lenta, meteorismo, espasmo gastrointestinal, vómito, dolor de estomago, tos convulsiva y jaqueca. Se recomienda administrar tres veces al día una dosis de 3-5 g/ taza en infusión o decocción, 30-60 gotas/ día de tintura 1:8 y 6:10 gotas/ día de esencia ^{2, 19}.

Contra sensaciones de ahucamiento en los oídos que se manifiestan en zumbidos y a veces desequilibrios, se trituran unas dos o tres hojitas bien lavadas y se forma una bola que se envuelve en gasa o algodón y se coloca en el oído 2 veces al día ^{2, 19}.

Contra llagas o úlceras infectadas que persisten en la piel, las que a menudo producen escozor y dolor, se usa el extracto de unas 2-3 ramitas con poco agua, de forma tópica varias veces al día ^{2, 19}.

Contra gusaneras en raspones, heridas y llagas donde por descuido moscas comunes, moscarrones y otros dípteros necrófagos ponen huevos en ellas, se maceran unas 15 hojas lavadas y se administra tópicamente poniendo el jugo en el orificio varias veces al día ^{2, 19}.

Contra padecimiento nervioso consistente en una neurosis caracterizada por convulsiones, sofocaciones, perturbaciones intelectuales y extrema sugestibilidad (Histeria, neurosis), se prepara un té con dos cogollos partidos y se toma ½ taza cuando es necesario ¹⁹.

Contra parásitos intestinales se prepara una maceración en agua de unas tres ramitas bien lavadas y se toma media taza en ayunas ¹⁹.

Como repelente para evitar las picadas de zancudos, mosquitos y jejenes, se planta una matita en maceta y se coloca en el dormitorio ¹⁹.

Contra el reumatismo mediante el cocimiento de 3 a 4 ramitas despedazadas junto con 5 hojas frescas de hoja de peche, se efectúan baños 1 ó mas veces ¹⁹.

FARMACOGNOSIA:

La materia médica son las hojas secas. Macroscópicamente son hojas quebradas, tallos delgados y algunas flores; olor fuerte, aromático; sabor ligeramente amargo. Microscópicamente *O. Basilicum* presenta células epidérmicas grandes, paredes delgadas, estoma diáctico en ambas superficies, tricomas glandularres abundantes, epidermis del tallo con células de paredes delgadas, alargadas, con tricomas, tejido vascular con vasos lignificados; cáliz con abundante tricomas, epidermis externa de la corola con células alargadas de paredes delgadas, epidermis interna ligeramente papilosa; gránulos de polen grandes, esféricos, 6 poros; pared del fruto con varias capas de células epidérmicas de paredes delgadas, capa de pigmento gruesa, células del esclerénquima con cristales prismáticos ².

TOXICOLOGÍA:

Los extractos acuosos y etanólicos fueron inocuos en peces del género Mollinesia. El jugo de la hoja puede ser ligeramente narcótico, algunos de sus compuestos safrol y estragol pueden ser carcinogénicos. La esencia puede producir irritación de la mucosa y las dosis altas efectos narcóticos. La DL50 del estragol en ratas por vía oral es 1,82 mg/ kg,, en ratones es 1.25 mg/ kg; La DL50 del eugenol en ratas por vía oral es 2.68 mg/ kg y en ratones es 3.0 mg/ kg².

1.3 Zingiber officinale

FAMILIA:

ZINGIBERACEAE

SINONIMOS :

Amonum zingiber L

NOMBRES POPULARES :

Jengibre

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA :

Hierba perenne, rizoma ruberoso, rastrero, tallos erectos de 1 mt de alto. Hojas aromáticas, lanceoladas o delgado lanceoladas, hasta 20 cm de alto. Flores tubulares, 3 segmentos externos amarillo – verdosos, labio de tres lóbulos, púrpura con marcas amarillas, 2.5 cm de largo, en las axilas de bracteas de 15 a 25 cm de largo abiertos de hojas verdes sobrepuestas^{2, 19}.

HABITAT:

Nativa de las zonas costeras de la India y China, cultivada en regiones tropicales y subtropicales de clima caliente y húmedo. Naturalizada y cultivada en Centro y Sudamérica, donde se cultivan en huertos caseros, en macetas y arriates con facilidad^{1, 15}.

AGRICULTURA:

Requiere clima caliente y húmedo, 1500 msnm, lluvia bien distribuida. Para la preparación del terreno, la cama de siembra debe estar bien suelta, si son áreas pequeñas se puede preparar con azadón, incorporando al momento de la preparación abono orgánico. La época de siembra se realiza en el mes de Mayo, si se cuenta con riego se puede sembrar todo el año^{2, 19}.

Su propagación es asexual, sembrando los rizomas los cuales se colocan en cadena en el fondo del surco; a un distanciamiento de 5 - 10 cm entre rizoma y 25 cm entre el surco.

COMPOSICIÓN QUÍMICA:

El rizoma contiene cetonas (zingerona), gingerol, aceite esencial (13%) y materia resinosa (5 – 8 %), asparagina y ácido piperónico. El aceite esencial está compuesto de sesquiterpenos (farneseno (9 – 10%); metilheptenona, ar – curcumeno (17 %), cíñelo, bisaboleno, borneol, camfeno, geraniol, linalol, mirceno, zingibereno (30 – 36 %) y zingiberol) ¹.

La oleoresina contiene gingerol, shogaol, dihidrogingerol, hexahidrocumarina, gingerdiol, paradol, zingerona y gingerdisona. La hoja y tallo contiene aceite esencial, alcaloides, flavonoides, sesquiterpenlactonas, taninos y triterpenos ².

ACTIVIDAD BIOLÓGICA :

Estudios antimicrobianos demuestran que el extracto etanólico del rizoma es activo contra *S. aureus* , *B. Subtilis*, *S. epidermidis*, *S. Typhi*, *E. Coli*, *P. Mirabilis* y *P. aeruginosa*. El extracto n-hexánico tiene actividad antirhinovirus. El aceite esencial es activo contra bacterias en una cámara cerrada. El extracto acuoso del rizoma es activo contra hongos fitopatógenos y repelente ².

USOS MEDICINALES ATRIBUIDOS:

Los rizomas son picantes y tienen amplia venta en mercados. La decocción del rizoma se usa para tratar afecciones gastrointestinales (cólico,

diarrea, falta de apetito, indigestión, flatulencia, náusea) y respiratorias (amigdalitis, asma, bronquitis, catarro, fiebre, gripe, inflamación de la garganta, pleuresía, pulmonía, resfrió, ronquera, tos, tos refina), malaria, gota, dismenorrea y reumatismo. El polvo, infusión y tintura se usa para preparar jarabes con las mismas aplicaciones medicinales ^{2, 19}.

Tópicamente se aplica cataplasma y ungüentos del rizoma para menstruación difícil y cefalea, en el dolor de muelas, induraciones, inflamaciones, tumores, reumatismo, úlceras y cáncer. Con el jugo del rizoma se hace masaje a los niños como tonificante ^{2, 19}.

Se le atribuye propiedad analgésica, antihistamina, antiséptica, antitusiva, aperitiva, aromática, astringente, carminativa, digestiva, estimulante, espasmolítica, expectorante, rubefaciente, sudorífica y tónica ².

USOS TERAPÉUTICOS POPULARES:

Por su actividad carminativa, diaforética y espasmolítica está indicado en el tratamiento de cólico, inapetencia y dispepsia flatulenta; se recomienda administrar dos o tres veces al día en dosis de 1 a 3 gramos de infusión o decocción, de 1.5 a 3 mL de tintura débil de 0.25 a 0.5 mL de tintura fuerte, una a dos gotas de aceite en una cucharada de miel, 10 gotas de extracto fluido.

Por su actividad expectorante y sudorífica está indicado en el tratamiento de gripe, faringitis, angina y dolores reumáticos; se recomienda administrar tres

veces al día en dosis de 2 a 3 gramos por tasa de decocción, 3 a 10 gotas al día de esencia y 20 a 30 gotas al día de extracto fluido ^{2, 19}.

Tópicamente está indicada la decocción en compresas, la tintura para fricciones o gargarismos y el aceite esencial incorporado a un aceite de masaje como almendra o sapuyul para gota, reumatismo y dolores musculares ^{2, 19}.

Para la digestión se ocupa el rizoma del jengibre tomando un dedo de la raíz machacado con anterioridad y administrado por vía oral en las comidas ²

Para dolores de vientre en la mujer se utiliza 1 ó dos pedacitos machacados bien lavados del rizoma el cual se administra por vía oral tres tazas al día ².

Para la flatulencia el cocimiento de uno o dos pedacitos machacados del rizoma administrándose una taza por vía oral ².

FARMACOGNOSIA:

La materia médica es el rizoma fresco o seco. Macroscópicamente es un polvo blanco amarillento, olor aromático agradable y sabor picante característico. Microscópicamente son abundantes gránulos de almidón, fibras en grupos, paredes delgadas, vasos grandes con ligera reacción a lignina, células de oleoresina color amarillo intenso en pequeños grupos en el parénquima compuesto de células de pared delgada arrugada. No debe contener más de 6 % de ceniza total, no menos de 10 % de extraíble en agua y no menos de 1.7 % de ceniza insoluble en ácido ².

TOXICOLOGÍA:

Los extractos acuosos y etanólicos del rizoma son tóxicos a peces del genero *Mollinesia*; son moderadamente mutagénicos a *S. Tiphymorium* TA98, fuertemente mutagénicos a TA102, CI50 de 100 mg/mL. No existen informes sobre toxicidad severa en humanos, las dosis culinarias no son terapéuticas ni tóxicas. Grandes dosis del aceite o polvo causan depresión del sistema nervioso central y arritmia cardiaca, así como alucinaciones. Está contraindicado su uso durante el embarazo. La FDA considera su uso como generalmente seguro ².

1.4 Lippia alba

FAMILIA:

VERBENACEAE ⁵

SINÓNIMOS:

Lippia geminata

NOMBRES POPULARES:

Jaunilama, Salvia sija, jaunilama, mastranto, Salvia santa, Santa marí, juanislama, Rondana⁵.

DESCRIPCION BOTÁNICA:

Hierba perenne, erecta, algunas veces arbusto o subarbusto, hasta 2 metros de alto, con un fuerte olor a limón, lima o menta, densamente pubescente. Hojas decusado- opuestas o ternadas, lámina ovada u oblonga, 2-7 cm de longitud, márgenes cerrados. Inflorescencias axilares, solitarias o raras veces en pares, flores fragantes o no, corola hipocrateriforme, de color azul a rosado, lila a violeta, algunas veces blanca o amarillenta en la superficie interna⁵.

HABITAT:

Está ampliamente distribuida en las antillas, México, América Central y América del Sur tropical y subtropical hasta Argentina. Introducida en muchas áreas y algunas veces escapada de cultivos^{2, 5}.

AGRICULTURA:

Nativa de América, crece de México a Sur América y el Caribe; crece en laderas a la orilla de caminos y ribera de los ríos, en alturas hasta 1800 m.s.n.m. Frecuentemente cultivada en jardines de todo Centro América como ornato por su fuerte aroma y por sus propiedades medicinales y culinarias⁵.

COMPOSICIÓN QUÍMICA:

Se han reportado los siguientes compuestos en diferentes partes de esta planta: aceite esencial, taninos y alcaloides desconocidos. Los principales componentes del aceite esencial son: alcanfor, dihidrocarvona, cariofileno, 1,8-cineol, citral, acetato de citronelol, p-cimeno, metildecilcetona, geranial, limoneno, linalool, acetato de linalool, lipiona, mirceni, neral, metiloctil-cetona, α - y β -pineno, piperitona, sabineno y α -terpineol ⁵.

En un estudio de tamizaje fitoquímico de la *Lippia alba* se determinó la presencia de alcaloides e iridoides en las hojas y los tallos y flavonoides en los tallos ⁵.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA :

Se ha demostrado actividad citotóxica en extractos etanólicos al 50 % por vía intravenosa en el perro. La tintura de *Lippia alba* en Guatemala ha demostrado actividad antimicrobiana contra *Staphilococcus aureus*. Los extractos etanólicos de las hojas frescas por vía intragástrica en el ratón en dosis de 1.0 g /Kg demostraron actividad analgésica ⁵.

Estudios antibacterianos realizados in-vitro en Guatemala demuestran que la maceración hidroalcohólica de las hojas tiene actividad contra *Staphilococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* y *Salmonella typhi* ⁵.

Estudios farmacológicos demuestran que la infusión acuosa de las hojas no presentan actividad sedante o hipnótica en el ratón. La actividad astringente y antiséptica justifican su uso efectivo en el tratamiento post parto ⁵.

El aceite volátil presente en las hojas y tallo tiene un efecto pectoral, las hojas han demostrado actividad contra hongos fitopatógenos contra insectos de granos almacenados.

La infusión de hojas y flores no produjo mortalidad en el ratón a dosis mayores de 67 g /Kg ⁵.

Algunas de las acciones atribuidas popularmente a esta planta como la analgésica, estaría dada por contenido de aceites esenciales. El efecto útil en los trastornos digestivos sería causado por la acción irritante moderada sobre la mucosa gástrica y bucal que provoca este aceite y que causa un incremento de la salivación y una sensación de calor; de ahí su uso como germinativo y en el malestar digestivo y los cólicos ⁵.

El rico contenido de Alcanfor en el aceite esencial de este genero y que ha sido utilizado como expectorante podría explicar el fundamento del uso popular de ella en los trastornos respiratorios ⁵.

Las hojas de *Lippia alba* presentan una actividad antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus* ⁵.

USOS MEDICINALES ATRIBUIDOS:

Se utiliza para trastornos digestivos y como antiespasmódico en cólico hepático, se usa para la tos y resfriados, la infusión de las hojas y la inflorescencia se ha empleado como sedante gastrointestinal. Se usa además como antiespasmódico en los cólicos hepáticos y como sudorífico, expectorante y enemagogo. El extracto alcohólico de la planta se usa en fricciones para los resfriados^{2, 5}.

Se usa como sedante, para la diabetes, como diaforética y para trastornos digestivos y antiespasmódicos. Las ramas frescas se usan para acelerar la recuperación post parto o la planta entera junto con Plantago mayor y lechuga para inducir al sueño. Se utiliza como expectorante y contra las hemorroides ^{2, 5}.

Para el tratamiento de afecciones hepáticas, gastrointestinales (cólico, diarreas, dispepsia, estomatitis, indigestión, flatulencia, náusea y vómito) y respiratorias (asma, catarro, laringitis, resfrío, tos), insomnio, enfermedades venéreas, afecciones de la piel y mucosas, flujo vaginal, goma, artritis, dolores musculares y de muelas, hipertensión y atención del parto. Las hojas machacadas se inhalan para inducir al sueño. El extracto alcohólico se usa en fricciones contra resfriado y congestión de las vías respiratorias. Se le atribuyen actividades antisépticas, astringentes, espasmolíticas, estomáquicas, expectorantes, febrífugas, pectorales , sudoríficas y diuréticas ^{2, 5}.

USOS TERAPÉUTICOS POPULARES:

Por su uso tradicional popular y su aparente acción antiséptica, desinflamante, diurética y hepatoprotectora, está indicada en disuria, pielonefritis, retención urinaria, y cistitis. Se recomienda administrar 2 - 3 veces al día en dosis de 150 - 200 cc/día de infusión de 3 – 6 g/ taza o 15 – 30 gotas / día de tintura 1:10 en etanol 35 %².

Por su actividad antiséptica y antiinflamatoria, su aplicación tópica está indicada en diversas afecciones dermatomucosas como alergias, llagas, raspones y úlceras².

Por su actividad diurética y hepatoprotectora puede combinarse con Apacín, Cabada, Curcuma, Hierba del cáncer, jengibre y Timboco².

FARMACOGNOSIA:

La materia vegetal usada como medicina son las hojas frescas o secas, que deben reunir las mismas características fisicoquímicas y sanitarias de la materia prima usada para la elaboración de productos fito-farmacéuticos. En la revisión de literatura se encontró muy poca información sobre la relación entre la actividad farmacológica atribuida y la composición química, no se encontraron estudios tendientes a la formulación de productos farmacéuticos².

La propiedad diurética se atribuye a la presencia de un alcaloide, que además es analgésico, emético, hipnótico y purgante, aunque produce vómitos y evacuaciones².

TOXICOLOGÍA:

No se han encontrado estudios toxicológicos para esta planta. Los efectos tóxicos descritos para los aceites esenciales pudieran estar presentes en esta planta, si se utilizan en muy altas dosis (náuseas, diarreas, vómitos) ².

1.5 Paspalum notatum**FAMILIA :**

Gramínaceae o Poaceae ¹⁸.

SINÓNIMOS :

Paspalum cromyorrhizom Trin. ex Döll, *Paspalum distachyon* Willd. ex Döll, *Paspalum notatum* var. *cromyorrhizom* (Trin. ex Döll) Herter, *Paspalum taphrophyllum* Steud ⁷.

NOMBRES POPULARES :

Gramá, Zacate, Bahía, Pasto bahía ¹⁸.

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA :

Planta herbácea perenne, con rizoma escamoso; tallos erectos, de 20-75 cm de longitud; vainas ciliadas por lo general a glabras, lígula en forma de anillo denso de pelos cortos, láminas foliares glabras o esencialmente así, hasta de 10 cm de longitud, de 2-6 mm de ancho, planas, conduplicadas o involutas, usualmente de textura firme y correosa; inflorescencia típicamente con 2 racimos conjugados (que emergen del mismo punto), de 4-12 cm de longitud, erectos, ascendentes, el tercer racimo, de estar presente, se sitúa a bajo del par conjugado; espiguillas dispuestas en dos hileras, imbricadas, muy juntas, ampliamente ovadas, elípticas u obovadas, glabras y brillantes, de 2.8 - 3.5 mm de longitud, de 1.8 - 2.7 mm de ancho; gluma y lema de la flor estéril 3 a 5 nervada; lema de la flor fértil diminutamente rugosa, con hileras longitudinales de papilas, de color pajizo ⁷.

HÁBITAT :

Zacate común en los pastos silvestres, crece desde el nivel del mar hasta los 1500 msnm, Nativo desde México hasta Argentina. Frecuenta asociaciones de pino encino ⁷.

AGRICULTURA :

No se cultiva formalmente, crece de forma silvestre en todos los países latinoamericanos desde México donde el clima y la altura lo permiten ⁷.

COMPOSICIÓN QUÍMICA :

La planta completa contiene alcaloides y taninos ¹⁸.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA :

No se han realizado hasta el momento estudios profundos sobre *Paspalum notatum*. Estudios realizados por Manuel Rivera Mora (1987) en extractos etanólicos y acuosos en raíz, corteza y hojas, no se comprobó actividad contra *Staphyococcus aureus* y *Escherichia coli*¹⁸.

USOS MEDICINALES ATRIBUIDOS :

Contra infecciones de vías urinarias y golpes internos ⁷.

USOS TERAPÉUTICOS POPULARES :

Contra infecciones en vías urinarias se deja en remojo la raíz con agua por una noche y se toma como agua de tiempo, contra golpes internos se toma también esta como agua de tiempo 3 veces al día ¹⁸.

Contra infecciones renales se cocina una libra de planta completa en un litro de agua y se toma como agua de pasto ^{18, 7}

FARMACOGNOCIA :

La materia medica es la planta completa sometidas a secado ¹⁸.

TOXICOLOGÍA:

Las pruebas de toxicidad realizadas con los mismos extractos, demostraron que no fue toxica para peces del genero Mollinesia (chimbolos) ¹⁸.

1.6 Lycopersicum esculentum**FAMILIA :**

Solanaceae

SINÓNIMOS :

Ninguno

NOMBRES POPULARES :

Tomate, Miltomate, huevito, tomatillo, jitomate, del Nautal Xitlil
"ombligo" y tomatl "tomate", tomate silvestre ¹.

DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Herbácea anual, erecta, extendida o trepadora, llegando a alcanzar 2 metros o más. Hojas alternas de 10 a 40 cm de largo, dentadas e irregularmente lobadas. Flores amarillo palido, dispuestas en racimos de 5 a 8 cm de largo. Fruto redondo, pequeño, color rojo. Tiene semillas redondas y planas¹¹. Considerado en otro tiempo venenoso, el tomate se ha convertido en una de las hortalizas de mayor importancia comercial. Se cultiva como anual en casi todo el mundo y es fuente valiosa de sales minerales y vitaminas, en particular A y C⁸.

HABITAT :

Originaria de América – Perú, los Andes. Planta silvestre, variedad altamente cultivada. Crece en climas cálidos¹.

AGRICULTURA :

En invierno se cultivan al aire libre en el sur de Estados Unidos y México, crece en suelos franco arenoso, terreno suelto, rico en materia orgánica, drenados, de pH 5.5 - 6.8 y climas templados⁸.

COMPOSICIÓN QUÍMICA :

Una porción de 100 g de tomate contiene Proteína 1.4 g, Carbohidratos 3.6 g, Grasa 0.2 g, Fibra 0.4 g, Calcio 12.0 g, Hierro 0.8 g, Fósforo 28 mcg,

Betacaroteno 790 mcg, Vit B₁ 0.18 mg, Vit B₂, Niacina 0.3 mg, Vit C 25.8 mg y vitamina K⁸.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA :

El tamizaje antibacteriano demuestra que el extracto alcohólico del cáliz del fruto tiene actividad contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus Pneumoniae* y *pyogenes*. En un estudio de confirmación se demostró que los extractos alcohólicos de cinco órganos de la planta (cáliz, fruto, flor, hoja y raíz) tienen actividad contra bacterias causales de infecciones respiratorias^{11, 14}.

Tomando en cuenta la referencia del uso popular en el tratamiento del cólera se estudio la actividad vibriocida de la maceración hidroalcohólica del cáliz del fruto, encontrándose que no posee actividad inhibitoria in Vitro sobre *vibrio cholerae*^{1, 8}.

USOS MEDICINALES ATRIBUIDOS :

Como alimento nutritivo, para el tratamiento de afecciones respiratorias, digestivas, diabetes, dolor de muelas, hepatitis, paperas, se le atribuyen propiedades antieméticas, antisépticas, cicatrizantes, antiinflamatorias, diuréticas, emolientes, espasmolíticas, laxante y odontálgica y quemadura^{1, 8}.

Otros usos encontrados son como fungicida, repelente, insecticida, atrayente, nematostático y antibacterial¹.

USOS TERAPÉUTICOS POPULARES :

Es un alimento, su fruto como consumo fresco es en guisos, ensaladas, pastas, jugos, cremas, sopas y es ampliamente usado contra quemaduras ¹.

FARMACOGNOCIA :

Se utiliza principalmente el fruto fresco el cual debe reunir las características sanitarias adecuadas ¹.

TOXICOLOGÍA :

No existen estudios toxicológicos sobre tomate ⁸

2. GENERALIDADES DE LAS CEPAS SOMETIDAS A BIOENSAYO.

2.1 *Staphylococcus aureus*

MORFOLOGÍA Y FISIOLÓGIA

Células esféricas de 1 μm de diámetro, aparecen como masas de células arracimadas, aunque se encuentran como células aisladas, en pareja y tétradas, los estafilococos jóvenes son Gram.-positivas, sin embargo al envejecer, muchas células se vuelven Gram.-negativas, son no móviles, no forman esporas, Los estafilococos crecen bajo condiciones aerobias o microaerófilas y con mayor rapidez a 37° C, pero su pigmentación es

apreciable a temperaturas entre 20-25° C. Las colonias en medios sólidos son redondas, lisas, elevadas y resplandecientes. La pigmentación de las colonias van desde el gris, amarillo al amarillo dorado intenso. Cuando se cultivan en agar sangre la mayoría de las colonias de *Staphylococcus aureus*, aparecen redondas con una zona de β - hemólisis ¹¹.

Los estafilococos producen catalasa, lo que los distingue de los estreptococos. Tienen la particularidad de fermentar con lentitud muchos carbohidratos y producen ácido láctico pero no gas y su actividad proteolítica varia de una cepa a otra ¹⁷.

Microorganismos relativamente resistentes a la desecación, a ciertos desinfectantes, al calor y al cloruro de sodio 9% ¹⁷.

El *Staphylococcus aureus* es la única especie que tiene la capacidad y poder enzimático de coagular el plasma oxalatado, en presencia de un factor contenido en muchos sueros; esto se asocia con la formación de la toxina hemolítica que tiene alto grado de virulencia. Se encuentra como microorganismo de vida libre en el ambiente y vías respiratorias. En los hospitales las zonas de mayor riesgo de infecciones estafilococcicas graves son las salas de cuna de recién nacidos, unidad de cuidados intensivos, salas de operaciones y las salas de quimioterapia del cáncer ¹¹.

ANTÍGENOS Y TOXINAS

Los estafilococos producen enzimas como: catalasa, coagulasa, hemolisinas, toxinas como: leucocidina, exfoliativa, la del síndrome de choque tóxico y enterotoxinas (de la A a la F) producidas por casi el 50% de las cepas de *Staphylococcus aureus*, responsables de envenenamiento con alimentos. Los estafilococos son patógenos oportunistas, habitualmente las infecciones producidas por estafilococos son cutáneas, El prototipo de infección estafilocócica es el furúnculo o cualquier absceso localizado ¹¹.

Entre las enfermedades más comunes producidas por *Staphylococcus aureus*: Neumonía estafilococcica, Síndrome de la piel escaldada, Síndrome de shock tóxico y otras enfermedades respiratorias ¹¹.

2.2 Escherichia coli.

MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA

Pertenece a la familia de las Enterobacteriaceas y son bacilos Gram-negativos, anaerobias o anaerobias facultativas, desde el punto de vista bioquímica tienen la capacidad de reducir los nitratos a nitritos, no requiere aumento en la cantidad de NaCl para crecer y son negativas a la oxidasa ¹¹.

Muchas de las cepas son cápsulada y la mayoría son móviles por flagelos peritricos. Los microorganismos de este genero son generalmente fimbriados y poseen pilis sexuales y fimbrias adhesivas ¹¹.

La *Escherichia coli* forma colonias circulares, convexas y lisas con bordes definidos y cuando crecen en EMB (Eosina – Azul de Metileno) las colonias toman un brillo metálico con resplandor iridiscente. Algunas variedades son β -hemolíticas en agar sangre y producen de manera típica pruebas positivas en INDOL, descarboxilasa de la lisina e hidrólisis de esculina, fermentación del manitol ¹¹.

Estas bacterias crecen abundantemente en los medios nutritivos ordinarios y pueden cultivarse en los medios nutritivos más sencillos, es decir, los que tienen una fuente de nitrógeno inorgánico y glucosa. El crecimiento óptimo se produce a una temperatura de 37°C ¹¹.

Fermentan rápidamente diversos azúcares como la lactosa, produciendo ácido y gas, el principal ácido que produce es el ácido láctico, así como ácido fórmico y acético en cantidades menores junto con el alcohol etílico, la mayor parte de las cepas se destruyen al ponerlas a 60°C durante 30 minutos, pero pueden haber variedades más resistentes ¹¹.

Son más resistentes a la acción bacteriostática de los colorantes que las Gram-positivas. Su capacidad para crecer en presencia de sales biliares es marcada, y estas sales pueden por ello incorporarse a los medios selectivos ¹¹.

HÁBITAT

Su hábitat natural es el tubo intestinal del hombre y los animales, por esta razón, estos microorganismos suelen emplearse como indicadores de contaminación fecal en los suministros de agua ⁴.

PRODUCCIÓN DE ANTIGENOS Y TOXINAS

Antígenos: Se caracterizan por ser combinaciones diferentes de los antígenos O, K y H ². Los antígenos O y K de *Escherichia coli* se relacionan con enfermedades humanas como la diarrea e infecciones de las vías urinarias ¹¹.

Enterotoxinas: La mayoría de *Escherichia coli* asociadas con enfermedades diarreicas producen una o más enterotoxinas. Pueden distinguirse dos tipos: una toxina termoestable (TS) y una toxina termolábil (TL) ⁴.

Hemolisinas: También *Escherichia coli* es capaz de producir hemolisinas que son las responsables de la actividad hemolítica ⁴.

PATOGENIA

Los aislamientos clínicos de *E. Coli* se pueden agrupar convenientemente en tres categorías: oportunistas, enteropatógena y productora de enterotoxina. Las patógenas generalmente son inofensivas en su hábitat normal, hasta que llegan a otros sitios o tejidos, las enteropatógenas causan gastroenteritis aguda principalmente en lactantes, las productoras de

enterotoxinas invaden la mucosa intestinal y dejan libre la enterotoxina en membranas epiteliales, produciendo la diarrea ¹⁷.

Entre las patologías más comunes causadas por *E. Coli* tenemos:

Infecciones de vías urinarias.

E. coli es la causa más común de las infecciones de vías urinarias en mujeres jóvenes, cerca del 90%. Los síntomas y signos consisten en micción frecuente, disuria, hematuria y piuria.

Diarrea del viajero ¹¹.

La responsable es la enterotoxina termolábil, lo que da por resultado la diarrea que dura varios días, con una prolongada pérdida de agua, cloro e inhibición de la resorción de sodio ¹¹.

Meningitis.

E. coli es una de las responsables de la meningitis en los lactantes, aproximadamente en un 40% de los casos ¹¹.

Infecciones nosocomiales.

E. coli es la primera causa de infecciones hospitalarias, pero las infecciones son en su mayor parte gastrointestinales de naturaleza endémica ⁴.

2.3 *Cándida albicans*

MORFOLOGÍA Y FISIOLÓGIA

Levadura oval Gram-positiva que produce un pseudomicelio en cultivo, fermenta la glucosa y la maltosa produciendo ácido y gas, en agar Sabouraud

incubado a temperatura ambiente, se desarrollan colonias blancas, color cremoso que tienen olor a levadura. El desarrollo superficial consiste de células ovoides en gemación, el desarrollo sumergido consiste de pseudomicelios ¹¹.

HABITAT

Es miembro de la flora normal de las mucosas en los aparatos respiratorio, digestivo y genital femenino. En tales lugares puede ganar dominio y relacionarse con otras enfermedades, algunas veces produce enfermedad general progresiva en enfermos debilitados o con inmunosupresión ¹¹.

PRODUCCIÓN DE ANTÍGENOS Y TOXINAS

Las pruebas de aglutinación con sueros absorbidos muestran que las cepas de *Cándida albicans* caen dentro del grupo A y B serológico ¹¹.

PATOGENIA

Histológicamente, las diversas lesiones en el hombre muestran cambios inflamatorios, un gran número de cándida se encuentra a veces en el aparato digestivo después de la administración oral de antibióticos, pero no se presentan síntomas. *Cándida albicans* puede ser transportada por la sangre a muchos órganos incluyendo meninges, pero en general no está capacitada para establecerse por sí misma ¹¹.

Entre los principales predisponentes a la infección por *Cándida albicans* se encuentran las siguientes: Diabetes sacarina, debilidad general, inmunodeficiencia, cateterismo urinario o intravenoso, administración de antibióticos, que alteran la flora bacteriana normal, y los corticosteroides ¹¹.

Entre las principales infecciones causadas por *Cándida albicans* están: Infección bucal (algodoncillo), bulbovaginitis, infecciones de la piel, paroniquia piógena (enfermedad de la uña), invasor secundario de los pulmones, riñones y otros órganos ¹¹.

Las pruebas de aglutinación con sueros absorbidos muestran que las cepas de *Cándida albicans* caen dentro del grupo A y B serológico ¹¹.

2.4 Salmonella typhi

MORFOLOGÍA Y FISILOGIA

Microorganismo Gram-negativo perteneciente a la familia de las Enterobacteriaceas, patógeno para el hombre y los animales, cuando se adquieren por vía bucal. Se transmiten desde los animales y los productos de éstos al hombre, en el cual producen enteritis, infección general y fiebre intestinal. Son móviles, sobreviven a la congelación en el agua durante periodos prolongados. La *Salmonella typhi* es primordialmente infecciosa para el hombre, y la infección por este microorganismo implica contaminación por una fuente humana infectada, los microorganismos entran por vía bucal, por lo general con los alimentos o bebidas contaminadas. La infección por salmonella provoca el

tipo continuo de fiebre que caracteriza a la tifoidea, patogenia más común en este género ⁴.

Estos microorganismos casi nunca fermentan la lactosa o la sacarosa. Crecen fácilmente en medios sintéticos que contienen sales de amonio como fuente de nitrógeno y fuentes de carbono sencillas como la glucosa, el pirubato o el lactato. La temperatura óptima de crecimiento es 37 ° C , pero también crece a temperatura ambiente. Son aerobios o anaerobios facultativos y resisten ciertos productos químicos como: verde brillante, tetrionato de sodio y desoxicolato de sodio que inhiben a otras bacterias intestinales ¹¹.

HÁBITAT.

Están infectados de manera natural con una variedad de Salmonella bovinos, roedores y aves de corral, presentando la bacteria en su carne, heces y huevos. También pueden encontrarse ampliamente distribuidos en agua, leche y productos lácteos, mariscos, carnes, colorantes animales, gatos, tortugas, etc. Después de las infecciones producidas por Salmonella a menudo existe un estado de portador ¹¹.

PRODUCCIÓN DE ANTIGENOS Y TOXINAS.

Al igual que otras bacterias de su familia, la Salmonella produce los antígenos O, H y antígenos capsulares como los K (Vi) que pueden interferir en la aglutinación por antisueros O y se relacionan con la invasividad ¹¹.

PATOGENIA

Salmonella entra siempre por vía bucal, generalmente por los alimentos o bebidas contaminadas. La dosis infecciosa en el hombre es de 10^5 a 10^8 . Entre las patologías ocasionadas por varias especies del genero salmonella están: Fiebre tifoidea, Bacteremia con lesiones focales, enterocolitis, etc ¹¹.

3. MÉTODO MITSCHER (Método de dilución en Agar)

La actividad antimicrobiana se utiliza para evaluar la actividad inhibitoria de una planta o sus derivados, la potencia de un compuesto, la susceptibilidad de un microorganismo a concentraciones conocidas de una droga vegetal, el espectro de microorganismos inhibidos y la concentración de la droga en el organismo humano. Para evaluar la actividad es preciso conocer el modelo microbiano perfectamente y tenerlo controlado en las condiciones de laboratorio, ya sea por procedimientos in vitro o in vivo.

El método de dilución se usa para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) que se requiere del agente antimicrobiano(extracto) para inhibir o matar al microorganismo.

En este documento se utiliza principalmente el método de Mitscher, que es recomendado para el análisis de productos naturales, es reproducible, sensible y relativamente fácil de estandarizar y procesar gran cantidad de muestras. La CIM es la concentración más baja en la que no hay crecimiento visible ^{13, 12}.

3.1 Microorganismos de prueba y medios de cultivo.

Generalmente se usan cepas estandarizadas American Type Culture Collection (ATCC). Las cepas estandarizadas garantizan la reproducibilidad de los resultados si el análisis es realizado por otro investigador u otro laboratorio, consecuentemente los resultados pueden ser comparados. Si se está interesado en buscar nuevos productos con actividad selectiva en contra de algún microorganismo salvaje, es claramente apropiado el empleo de microorganismos patógenos aislados y estandarizados y que se encuentren en la etapa de crecimiento exponencial^{12, 13}.

El crecimiento exponencial de bacterias susceptibles inoculadas en superficie o profundidad en los medios de cultivo observados es inhibido por las moléculas bioactivas diluidas en el medio del agar. Este procedimiento ofrece

también una distribución homogénea del compuesto en el agar y está basado en el descrito por Mitscher^{12, 13}.

Como medio de cultivo se utiliza el agar nutritivo Müller-Hinton, que es el de elección para comprobar la susceptibilidad de microorganismos a agentes antimicrobianos, así como para determinar concentraciones mínimas inhibitorias (CIM's) en microorganismos que crecen en forma Aerobia^{12, 13}.

El medio de cultivo presenta características como transparencia, no contiene materiales termolábiles y es capaz de soportar la esterilización en autoclave, así como permitir el crecimiento abundante de bacterias y levaduras en 24 horas de incubación y a temperatura de 37 ° C, por lo que es posible realizar la lectura de los resultados en 24 horas^{12, 13}.

CAPITULO II

PARTE

EXPERIMENTAL

1. RECURSOS MATERIALES.

1.1 Especies Vegetales

Nombre Científico	Nombre Común
1. <u><i>Jatropha curcas</i></u>	Tempate
2. <u><i>Chenopodium ambrosoides</i></u>	Epazote *
3. <u><i>Catharantus roseus</i></u>	Chula
4. <u><i>Sanserviria quineensis</i></u>	Curarina
5. <u><i>Rauwolfia tetraphila</i></u>	Amatillo
6. <u><i>Solanum nigrum</i></u>	Hierba mora
7. <u><i>Murraya paniculada</i></u>	Mirto
8. <u><i>Bursera simarouba</i></u>	Jiote
9. <u><i>Ztzygium jambos o eugenia jambos</i></u>	Manzana rosa
10. <u><i>Tridax procumbens</i></u>	Hierba de toro
11. <u><i>Lycopersicum esculentum</i></u>	Tomate *
12. <u><i>Ricinus communis</i></u>	Higuerillo
13. <u><i>Ocimum bacilicum</i></u>	Albahaca *
14. <u><i>Zingiber officinalis</i></u>	Jengibre *
15. <u><i>Lippia alba</i></u>	Salvia santa *
16. <u><i>Eryngium foetidum</i></u>	Alcapate
17. <u><i>Achillea millefolium</i></u>	Alhucema
18. <u><i>Cassia grandis</i></u>	Carao
19. <u><i>Yucca elephantipes</i></u>	Izote

20. <u><i>Justicia carthaginensis</i></u>	Hierba del susto
21. <u><i>Plunchea odorata</i></u>	Siguapate
22. <u><i>Paspalum notatum</i></u>	Gramma *
23. <u><i>Punica granátum</i></u>	Granado
24. <u><i>Hymenea courbaril</i></u>	Copinol
25. <u><i>Guazuma ulmifolia</i></u>	Caulote

1.2 Cepas de Referencia

<i>Cándida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 9637
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 14028
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923

Las cepas fueron proporcionadas por la Universidad San Carlos de Guatemala.

1.3 Cristalería

Agitadores de vidrio

Viales con rosca de 1 cm de diámetro (5 ml)

Beakers (600, 400, 250, 100, 50, 30, 10 ml)

Embudos de vidrio

Erlenmeyer (500, 250)

Tubos de ensayo con rosca

Probetas (1000, 100 ml)

Vidrios de reloj

Pipetas mohr y volumétricas (5, 1 ml)

1.4 Materiales

Algodón

Papel toalla

Asas bacteriológicas

Cajas petri descartables

Cajas petri cuadriplate

Pipeteadores

Placa milipore descartables esterilas

Jeringas estériles

Aros metálicos

Cápsulas de porcelana

Espátulas metálicas

Microespátulas

Gradillas para tubos

Guantes de asbesto

Gabacha, mascarilla, gorro y guantes estériles

Malla de asbesto

Mecheros bunsen

Pinzas (Para crisol, de extensión y versátiles)

1.5 Equipo

Autoclave de vapor húmedo, Webeco, modelo 1978, serie 72244. De aire seco, Presión, modelo

25EG, serie 9603-005

Estufa thelco, modelo 31542, serie 21-AF-10

Balanza Analítica Mettler, modelo PM 400, serie SNR K43297

Balanza Granataria Ohaus, modelo 3201, serie 700

Hot - Plate Fisher, modelo 11- 500- 7SH, serie 57101947

Incubadora Napco, modelo 332, serie 6- 83- 1822- 20

Microscopio Micromaster, modelo E, serie 9411

Agitador Eléctrico Vortex,

Refrigerador

RotavaporBuchler Instrument, modelo 50- 60 CY, serie 52944

Soxhlet

Molino de drogas

1.6 Reactivos y Solventes

Reactivo de Wagner

Reactivo de Mayer

Reactivo de Dragendorff

Reactivo de Keller- Kedde

Reactivo de Lieberman Burchard

reactivo de Salkowski

Reactivo de Shinoda

Reactivo de Legal

Reactivo de Baljet

Ácido sulfúrico 10 %

Agua de bromo

Amoniaco

Benceno

Clorhidrato de hidroxilamina

Clorhidrato de quinina (Alcaloide estándar o patrón)

Cloroformo

Ácido clorhídrico 10 %

Alcohol etílico 80 %

Tricloruro de hierro

Indicador rojo de metilo

Agua destilada

Sub acetato de plomo

Solución de gelatina

Alcohol etílico 90 %

Alcohol isopropílico

Cristal violeta sólido

Alcohol - cetona

Lugol

Safranina

Agua estéril y destilada

Peróxido de hidrógeno

Solución salina estéril

1.7 Medios de Cultivo

Agar Muller Hinton

Agar Tripticasa Soya

Agar Citrato

Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)

Agar tres Azucares y Hierro

Agar McConkey

Caldo Tripticasa Soya

Caldo Rojo de Metilo - Voges Proskauer

Medio de Movilidad

Plasma Sanguíneo

2. METODOLOGIA

2.1 Recolección y Preparación del Material Vegetal (MV)

Cada una de las plantas fueron recolectadas en forma silvestre o adquiridas de cultivos, tomándose en cuenta que estas estuviesen en perfecto estado, sin insectos, plagas o material extraño. Primeramente se procedió a la identificación botánica de las especies vegetales, para tener seguridad de que la planta adquirida es la correcta, tomándose de estas el o los órganos de interés.

Con el uso de guantes para no contaminar la planta, cada órgano escogido de esta, es lavado con abundante agua potable para eliminar suciedad o cualquier material extraño y posteriormente con suficiente agua desmineralizada que arrastre los últimos residuos de contaminación, se deja secar por 24 horas en los casos necesarios, para luego pasarlo por molino de drogas que reduce el tamaño del órgano de la planta lo suficiente para obtener una mayor superficie de contacto con el solvente utilizado y obtener una mejor extracción de los componentes químicos.

En el caso del copinol, por ser el fruto el órgano utilizado y de cubierta dura se trituró con martillo y utilizando guantes se tomó únicamente la parte comestible, desechándose la semilla.

En el jote, el órgano de interés fue la corteza, primeramente esta fue separada con cuchillo de acero inoxidable y posteriormente secada y molida.

Del jengibre se utilizo rizoma, se trituró primeramente en mortero hasta formar una masa pulverizada con una mejor superficie de contacto.

El material seco vegetal (MSV) es posteriormente almacenado en bolsas debidamente rotuladas y selladas, protegidas de la luz para evitar proliferación de hongos o alteración de sus componentes químicos.

A continuación se presenta un cuadro resumen de los órganos seleccionados de cada especie vegetal, su lugar de recolección y su origen.

ESPECIE BOTANICA	ORGANO RECOLECTADO	LUGAR DE RECOLECCION	ORIGEN
<i>Jatropha curcas</i> (tempate)	Hojas y rama secas	Parque Balboa San Salvador	Silvestre
<i>Chenopodium ambrosoides</i> (epazote)	Hojas y flores frescas	Parque Balboa San Salvador	Silvestre
<i>Catharantus roseus</i> (chula)	Hojas, tallo y flores	Campus Universitario UES	Silvestre
<i>Sanserviria quineensis</i> (curarina)	Hojas frescas y tallo	Campus Universitario UES	Silvestre
<i>Rauwafia tetrafhila</i> (amatillo)	hojas secas, tallo y corteza	Campus Universitario UES	Silvestre
<i>Solanum nigrum</i> (hierba mora)	Hojas y tallo frescos	Campus Universitario UES	Cultivada
<i>Murraya paniculada</i> (mirto)	Hojas y tallo secos	Parque Balboa San Salvador	Silvestre
<i>Bursera simorouba</i> (jiote)	Corteza seca	El Pacún, San Vicente	Silvestre
<i>Ztzygium jambos o eugenia jambos</i> (manzana rosa)	Hojas frescas	Campus Universitario UES	Silvestre
<i>Tridax procumbens</i> (hierba de toro)	Hojas y tallo secos	Parque Balboa San Salvador	Silvestre
<i>Lycopersicum esculentum</i> (tomate)	Frutos frescos	Parque Balboa San Salvador	Cultivada
<i>Ricinus communis</i> (higuierillo)	hojas secas	Campus Universitario UES	Silvestre
<i>Ocimum basilicum</i>	Hojas y tallo frescos	Parque Balboa	Cultivada

(albahaca)		San Salvador	
<i>Zingiber officinalis</i> (jengibre)	Tubérculo fresco	Parque Balboa San Salvador	Cultivada
<i>Lippia alba</i> (salvia santa)	Tallo y hojas secas	Campus Universitario UES	Silvestre
<i>Eryngium foetidum</i> (Alcapate)	Tallo y hojas secas	Parque Balboa San Salvador	Silvestre
<i>Achillea millefolium</i> (alhucema)	Hojas y flores	Parque Balboa San Salvador	Silvestre
<i>Cassia grandis</i> (carao)	Hojas secas	Cantón Joya Grande, Ilopango, S.S	Silvestre
<i>Yucca elephantipes</i> (Izote)	Hojas secas	Campus Universitario UES	Silvestre
<u><i>Justicia</i></u> <u><i>carthaginensis</i></u> (hierba del susto)	Tallo y hojas secas	Parque Balboa San Salvador	cultivada
<i>Plunchea odorata</i> (siguapate)	Hojas secas	Parque Balboa San Salvador	Silvestre
<i>Paspalum notatum</i> (grama)	Hojas secas	Campus Univeritario UES	Silvestre
<i>Punica granátum</i> (granado)	Hojas secas	Campus Universitario UES	Silvestre
<i>Hymenea courbaril</i> (copinol)	Frutos frescos	San Rafael Cedros Cuscatlan	cultivada
<i>Guazuma ulmifolia</i> (caulote)	Hojas secas	Parque Balboa S.S	Silvestre

2.2 Etapa de Extracción.

2.2.1 Técnica de extracción por percolación con etanol 80 %.

Utilizar aproximadamente 100 g de la planta (corteza, hoja, flores o fruto), y colocar en percolador con capacidad de 1000 mL , preparado de la siguiente manera : Colocar en la punta del percolador un pedazo de algodón no muy grande, de manera que sirva de filtro, cortar un pedazo de papel filtro de forma circular y colocarlo cubriendo el fondo de este, directamente sobre el

filtro de algodón., finalmente tapar la punta del percolador con un tapón plástico que evite el derrame del disolvente.

Llenar dos terceras partes del percolador con el materias vegetal seco y cubrirla con etanol al 80 % , chequear que no queden burbujas en el fondo, y si las hay hacer presión con una espátula para destruirlas.

Rotular el percolador con nombre científico, nombre común y fecha, dejar en reposo por 24 horas para que reaccione y se extraigan la mayor cantidad de componentes químicos. Retirar el tapón de plástico y dejar gotear hasta que salga todo el disolvente.

Reincorporar el disolvente obtenido anteriormente de la materia en extracción nuevamente en el percolador y repetir esta operación cinco veces posterior a las 24 horas de reposo, antes de comenzar a concentrar en rotavapor. Pasar el disolvente recolectado al balón del rotavapor para concentrarlo.

(Ver ANEXO N° 6)

2.2.2 Concentración en Rotavapor

Este aparato proporciona las condiciones adecuadas para eliminar el disolvente en el proceso de concentración. Después de haber colocado en el balón del rotavapor el disolvente proveniente del percolador, se enciende el baño de María y se lleva a temperatura de $45^{\circ}\text{C} \pm 1$ y presión reducida procurando no pasar de 45 grados, armar el aparato y hacer pasar agua fría a través del refrigerante del equipo, conectar la bomba de vacío y el rotavapor e

iniciar la destilación del extracto con recuperación del disolvente hasta llegar a consistencia viscosa o semisólida del extracto.

Verter el extracto concentrado en cajas de petrí Milipore estériles debidamente rotulados y colocar en desecadoras durante 7 - 15 días para eliminar los últimos restos de humedad, cerrar las cajas de petrí y guardar a 4 °C , protegidos de la luz para evitar su descomposición o contaminación.

(Ver ANEXO N° 5)

2.3 Pruebas de Identificación Fitoquímicas Preliminares.

A cada uno de los 25 extractos obtenidos anteriormente, se les realizan las siguientes pruebas fitoquímicas utilizando reactivos específicos según la prueba de identificación del metabolito secundario.

PRUEBA DE IDENTIFICACIÓN	RESULTADO ESPERADO
ALCALOIDES	
Dragendorff	Precipitado naranja
Mayer	Precipitado blanco amarillento
Wagner	Precipitado café o marrón
ANTRAQUINONAS	
Borntrager	Color rosado a rojo en fase amoníaca
GLICOSIDOS CARDIOTONICOS	
Kedde	Anillo color azul violeta
Keller – kelliani	Anillo color Rojo
Lieberman Burchard	Anillo color azul violeta a rojo
Reactivo Legal	Color rojo intenso
FLAVONOIDES	
Prueba de Shinoda	Tonos color rojo
TANINOS	
Cloruro Férrico	Color azul oscuro – verde o gris oscuro

Sub acetato de plomo	Precipitado amarillo
Clorhidrato de quinina	Precipitado color blanco amarillento
K ₂ Cr ₂ O ₄	Precipitado color café
Solución de gelatina	Precipitado blanco
Sulfato de atropina	Precipitado color amarillo
SAPONINAS	
Lieberman Burchard	Anillo color azul violeta a rojo
Salkowski	Anillo color rojo
Método de la espuma	Una espuma mayor de 3 cm. arriba de la superficie del líquido que permanece 5 minutos
SESQUITERPENLACTONAS	
Hidroximatos férricos	Color violeta
Reactivo de Baljet	Cambio de color anaranjado a rojo oscuro
Reactivo Legal	Color rojo intenso

2.4 Pruebas de Identificación Microbiológica

A los microorganismos de ensayo ATCC se les realizan tres clases de pruebas :

a . Características microscópicas.

Utilizando el método de Coloración de Gram., para observar la morfología de los microorganismos a ensayar.

(ver ANEXO N ° 1)

b . Prueba bioquímicas.

Para identificación y diferenciación de las bacterias utilizadas en el estudio se realizan las siguientes pruebas bioquímicas.

MICROORGANISMO	PRUEBAS BIOQUÍMICAS REALIZADAS
<i>Staphylococcus aureus</i>	Catalasa y Coagulasa
- <i>Escherichia coli</i> - <i>Salmonella typhi</i>	Agar triple azúcar y hierro (TSI), Citrato, Indol, Rojo de metilo, Movilidad, Voges – Proskauer, Urea.

(ver ANEXO N ° 2 y 3)

c . Características macroscópicas

La identificación se basa en el crecimiento que tienen los diferentes microorganismos en medios de cultivo selectivos y diferenciales, para ello se utilizaron los siguientes:

MICROORGANISMO	MEDIO DE IDENTIFICACIÓN
<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylococcus 110
- <i>Escherichia coli</i> - <i>Salmonella typhi</i>	EMB y Mc Conkey
<i>Cándida albicans</i>	Agar Sabouraud

(ver ANEXO N ° 4)

2.5 Determinación de Actividad Antimicrobiana In - Vitro.

Esta se realiza por el método MITSCHER (método de dilución en agar) , el cual es el método de elección para toda investigación antimicrobiana In – Vitro.

2.5.1 Preparación de Placas Agar - Extracto

Los 25 extractos obtenidos (párrafo 2.2.2) se mantuvieron en cajas petrí herméticamente cerrados, refrigerados y protegidos de la luz para evitar su degradación. De cada extracto se pesa por duplicado 10 miligramos en balanza analítica utilizando viales con tapón de rosca de 5 mL y se diluye en 1 mL de etanol al 50 % , obteniéndose una concentración de 10 mg / mL de cada extracto.

Se prepara por cada extracto dos tubos de ensayo con rosca conteniendo 9 mL de agar Muller Hinton y dos tubos mas que sirven como controles negativos, se esterilizan por autoclave y se enfrían a 50 °C , se agrega a cada tubo 1 mL de la solución del extracto disuelto y se agita suavemente por inversión, rotulando adecuadamente cada uno de ellos.

La concentración final que se obtiene es de 1 mg / mL. A los dos controles negativos se les adiciona únicamente 1 mL etanol 50 %.

Cada solución de agar más extracto se vierte en cajas petrí descartables estériles, y se deja solidificar el medio , se incuba a 37 ° C por 24 horas para descartar cualquier riesgo de contaminación que afecte los

resultados. Se guardan las placas en refrigeración hasta el momento de su uso.

(Ver Figura N ° 1)

2. 5. 2 Preparación del Inoculo

Los microorganismos a ensayar se mantienen en agar inclinado tripticasa soya (TSA) a 37 °C y se resiembran cada semana para mantener su estado óptimo de crecimiento. Otra técnica es mantener los cultivos en agar tripticasa soya inclinado al cual se le adiciona aceite mineral estéril el que cubre totalmente a las colonias de microorganismos, manteniéndose a temperatura ambiente por largo tiempo.

Suspensión Bacteriana: Inocular una asada del cultivo microbiano puro en un tubo con cinco mililitros de caldo tripticasa soya (TSB) el cual es un medio nutritivo , incubar a 37 °C por 48 horas. Diluir 0.05 mL de la suspensión anterior en 4.95 mL de agua estéril utilizando jeringas estériles de 1 mL (dilución 1: 100) , sembrar en cajas de petrí conteniendo agar + extracto según plantilla como se muestra en el párrafo (2. 5. 3).

Suspensión de Cándida albicans: Inocular una asada del cultivo puro de Cándida en un tubo con cinco mililitros de caldo tripticasa soya (TSB) e incubar a 37 °C por 48 horas. Diluir 0.5 mL de la suspensión anterior en 4.5 mL de agua estéril utilizando jeringas esteriles de 1 mL (dilución 1: 10), sembrar

en cajas petrí conteniendo agar + extracto según plantilla como se muestra es el párrafo(2. 5. 3.).

Los microorganismos a emplearse para la detección de la actividad antimicrobiana deben ser de preferencia estándares pertenecientes a colecciones confiables como las obtenidas de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) . En el caso de utilizar microorganismos salvajes aislados de material clínico, deben ser identificados por los procedimientos estándares y ser cepas recientes.

(Ver Figura N ° 2)

2.5. 3 Demostración de la Actividad Antimicrobiana.

Rayado de Microorganismos

En cada una de las placas agar + extracto correctamente rotuladas y marcada únicamente en la posición uno, colocar por debajo una plantilla que contiene una cantidad de líneas numeradas en patrón radial en igual cantidad al número de inoculaciones. A cada línea corresponde la inoculación de un microorganismo en posición previamente asignada (al azar) y por duplicado.

(ver Figura N ° 3)

Con un asa bacteriológica estéril, el microorganismo proveniente de la suspensión es rayado sobre la superficie del agar desde la región cercana al límite de la placa hasta un punto cerca del centro de la placa , y sobre su línea

correspondiente en la plantilla; el rayado no debe llegar exactamente al centro de la placa debido al peligro de contaminación cruzada.

Un mismo investigador puede realizar el rayado de todos los microorganismos a ensayar en una misma placa cumpliendo todas las técnicas de trabajo en microbiología y guardando las medidas adecuadas de limpieza y sanitización de áreas microbiológicas. El rayado de cada microorganismo debe hacerse por cuadruplicado (dos placas por cada extracto) para así observar repetitividad de resultados si el análisis es bueno.

Como control negativo se inoculan por duplicado placas conteniendo únicamente 9 mL de agar Muller Hinton más 1 mL de etanol al 50 %, la que registrara siempre un crecimiento de todos los inóculos. Dejar reposar las placas durante 5 a 10 minutos , cuando todas estén completamente rayadas, se incuban a 37 °C por 24 horas. Las placas se incuban invertidas para evitar que gotas de agua condensadas puedan caer sobre los microorganismos y dispersen su crecimiento.

(Ver figura N° 3)

2. 5. 4. Interpretación.

Las placas se examinan luego de 24 horas de incubación. Las placas de control negativo deben tener la apariencia esperada, crecimiento microbiano en todas las líneas rayadas, de no ser así, el experimento ha fallado y debe ser repetido.

La lectura se realiza colocando en la misma posición de cuando se sembró, la plantilla utilizada en el rayado, observando si se muestra actividad antibacteriana por parte del extracto de la siguiente manera:

Si hay crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo :ACTIVIDAD NEGATIVA DEL EXTRACTO.

Si no hay crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo: ACTIVIDAD POSITIVA DEL EXTRACTO.

Presencia de colonias fuera de la inoculación : CONTAMINACION, debe ignorarse.

(Ver Figura N ° 3)

2.6 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM)

Pesar 10 mg del extracto y disolver en 10 mL de etanol 50 % utilizando tubos con tapón de rosca, obteniéndose una concentración de 1 mg / mL.

Por cada resultado positivo obtenido debe prepararse por duplicado cajas petri cuadrilate con las siguientes diluciones:

Cuadrante 1: 3.6 mL de agar + 0.4 mL de la solución extracto hidroalcohólico 1 mg / mL, (100 mcg / mL en la placa)

Cuadrante 2 : 3.8 mL de agar + 0.2 mL de la solución extracto hidroalcohólico 1 mg /mL, (50 mcg / mL en la placa)

Cuadrante 3 : 3.9 mL de agar + 0.1 mL de la solución extracto hidroalcohólico 1 mg / mL, (25 mcg / mL en la placa)

Cuadrante 4 : Cuatro mililitros de agar como control negativo.

Se inoculan tres estrías en cada uno de los cuadrantes e incuban a 37 °C por 24 horas. Las lecturas se realizan como en el paso 2. 5. 4.

2. 6. 1 Preparación de las Placas Agar Extracto.

Por cada microorganismo del cual se obtuvo un resultado positivo (inhibición) en el paso (2. 5. 3) para una determinada planta, se realiza el CIM utilizando agar Muller Hinton + extracto en cajas petrí cuadriplate colocando en cada cuadrante tres diferentes concentraciones de 100, 50 y 25 mcg/ mL y un cuarto cuadrante únicamente con 4 mL de agar el cual corresponde a un control negativo.

Se preparan tubos de ensayo con tapón de rosca conteniendo 3.6, 3.8 y 3.9 mL de agar. Las suspensiones de bacterias y levadura se preparan de igual manera que el paso (2. 5. 2.).

En cada cuadrante de la caja petrí deben verse 4 mL de medio de cultivo más extracto, por lo que a los tubos anteriores con medio se les adiciona con pipeta estéril 0.4, 0.2 y 0.1 mL de las soluciones hidroalcohólicas de 1 mg / mL de los extractos respectivamente.

Posteriormente se deja solidificar el medio y se incuba a 37 °C por 24 horas en posición invertida para comprobar la ausencia de contaminación.

(Ver Figura N ° 4)

2.6.2 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM)

A cada placa preparada anteriormente, correctamente rotulada con número de planta y microorganismo sembrado, le corresponde el rayado de un microorganismo. Se efectúan tres rayados en cada cuadrante con diferentes asadas, procurando no unir una con otra.

Se esteriliza el asa en flama hasta incandescencia, se enfría cerca de este y se toma una asada de la suspensión de microorganismos correspondiente rayando sobre la superficie del medio de cada cuadrante, repitiendo el proceso tres veces y de igual manera en los cuatro cuadrantes.

(Ver figura N° 5)

2. 6. 3 Interpretación.

Debe existir un crecimiento significativo en cada línea sembrada en el cuadrante de control negativo. En los otros tres cuadrantes puede suceder :

Si hay crecimiento homogéneo a lo largo del inculo en los tres cuadrantes:
ACTIVIDAD NEGATIVA DEL EXTRACTO.

Si no hay crecimiento homogéneo a lo largo del inculo en los tres cuadrantes:
ACTIVIDAD POSITIVA DEL EXTRACTO, hasta la mínima concentración.

Si el crecimiento ha disminuido de menor a mayor concentración en los tres cuadrantes. La concentración mínima inhibitoria (CIM) es la concentración más baja donde ya no existe crecimiento microbiano.

Figura N° 1

ESQUEMA DE PREPARACIÓN DE PLACAS AGAR – EXTRACTO

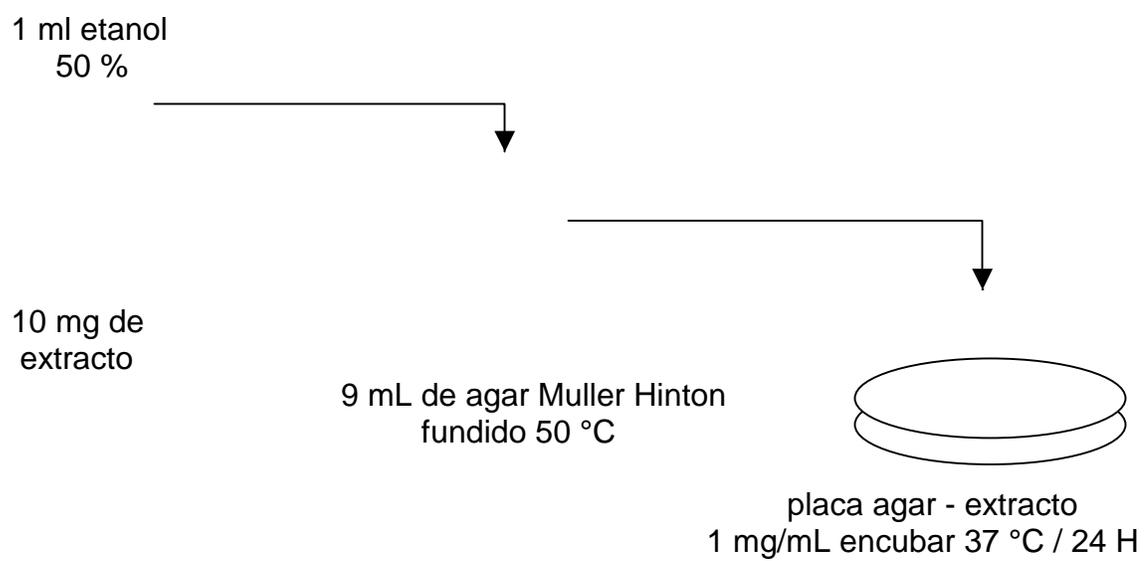


Figura N° 2

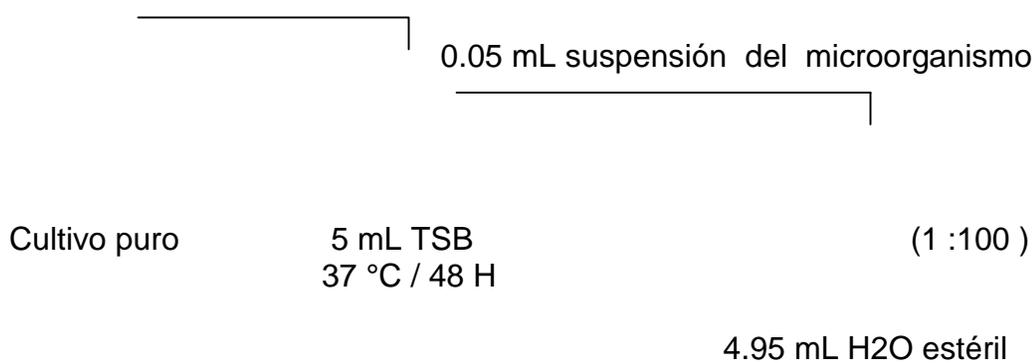
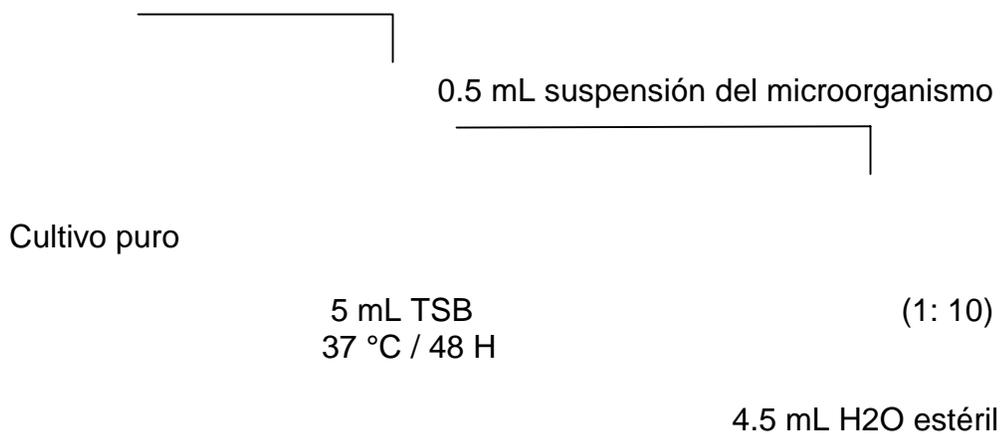
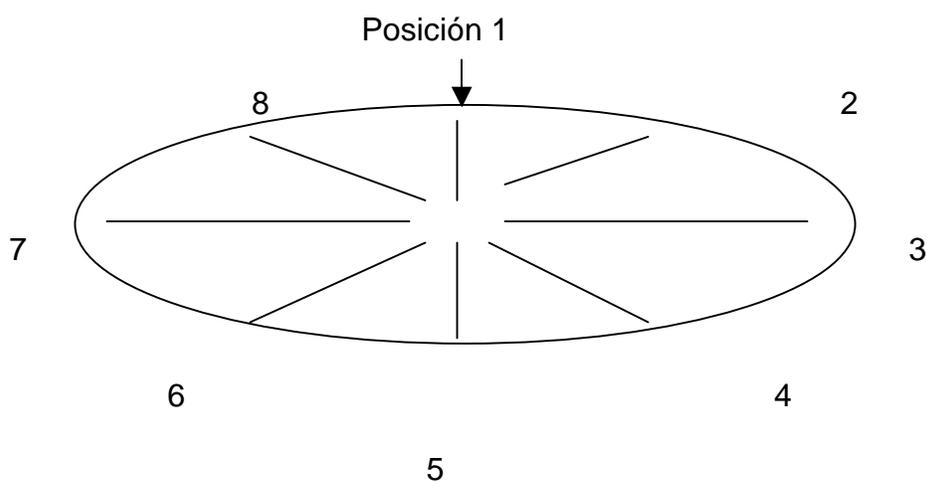
ESQUEMA DE PREPARACIÓN DEL INOCULO O SUSPENSIÓN DE MICROORGANISMOSSuspensión BacterianaSuspensión de *Cándida albicans*

Figura N ° 3

**EJEMPLO DE PLANTILLA UTILIZADA PARA EL RAYADO Y LECTURA DE
LOS MICROORGANISMOS DE PRUEBA.**

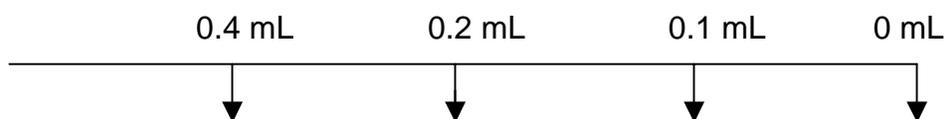
Inoculación con asa en anillo, por cuadruplicado, siguiendo el patrón radial de la plantilla. Para inocular cuatro microorganismos, se siembra cuatro veces cada microorganismo, dos veces en cada placa de duplicado.



MICROORGANISMO	POSICIÓN DENTRO DE LA PLACA
<u><i>Salmonella typhi</i></u>	1 , 5
<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>	2 , 6
<u><i>Cándida albicans</i></u>	3 , 7
<u><i>Escherichia coli</i></u>	4 , 8

Figura N° 4
ESQUEMA DE PREPARACIÓN DE PLACAS AGAR – EXTRACTO
CUADRIPLATE
(Determinación del CIM) (100, 50 y 25 mcg / mL)

10 mL etanol 50 %



10 mg extracto
(1 mg / mL)

Cuadrante 1 3.6 mL agar	Cuadrante 2 3.8 mL agar	Cuadrante 3 3.9 mL agar	Cuadrante 4 4 mL agar control negativo
----------------------------	----------------------------	----------------------------	---

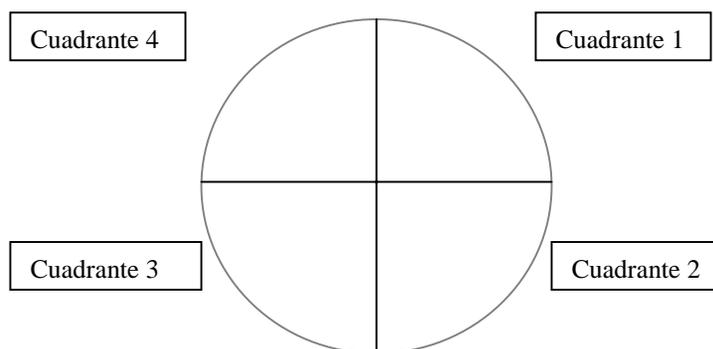
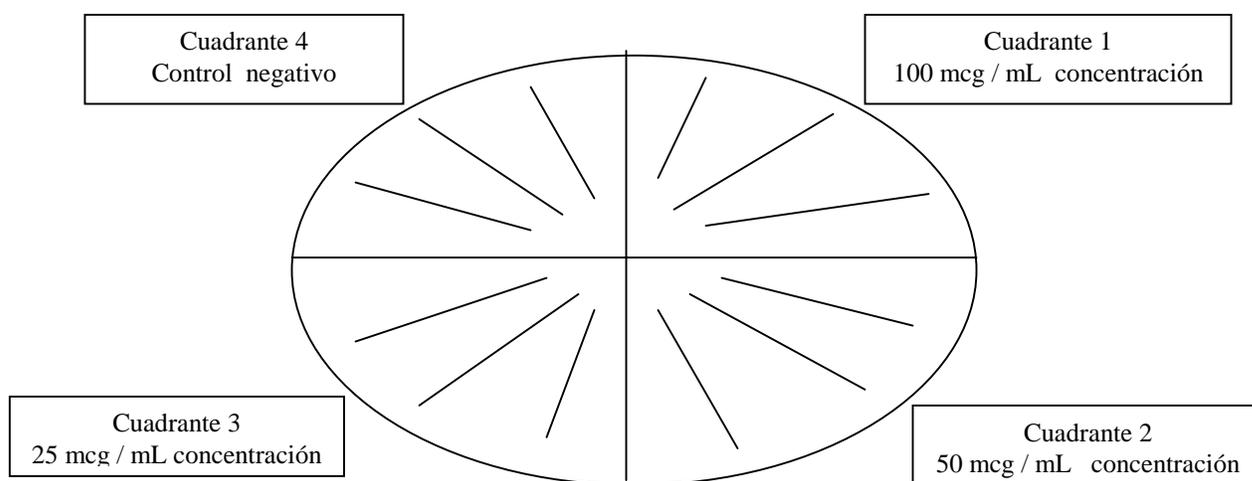


Figura N ° 5

**EJEMPLO DE UNA PLACA CUADRIPLATE CON EL RAYADO Y LECTURA
DE LOS MICROORGANISMOS DE PRUEBA.**



Rayado de Microorganismo : _____

CAPITULO III

RESULTADOS Y

DISCUSIÓN

RESULTADOS DE PRUEBAS FITOQUIMICAS PRELIMINARES

Cuadro N ° 1

EXTRACTO. Nombre Científico	ALCALOIDES			
	Dragendorf	Mayer	Wagner	Resultado
<u>Jatropha curcas</u> (Tempate)	+	+	+	+
<u>Chenopodium ambrosoides</u> (Epazote)	+	+	+	+
<u>Catharantus roseus</u> (Chula)	+	+	+	+
<u>Sanseviria quineensis</u> (Curarian)	-	-	-	-
<u>Rauwolfia tetrafilia</u> (Amatillo)	+	+	+	+
<u>Solanum nigrum</u> (Hierba mora)	+	+	+	+
<u>Murralla paniculata</u> (Mirto)	+	+	+	+
<u>Bursera simorouba</u> (Jiote)	+	+	+	+
<u>Ztygium jambos o eugenia jambos</u> (Manzana Rosa)	+	+	+	+
<u>Tridax procumbens</u> (Hierba del toro)	-	-	-	-
<u>Lycopersicum esculentum</u> (Tomate)	+	+	+	+
<u>Ricinus cummunis</u> (Higuerrillo)	+	+	+	+
<u>Ocinum basilicum</u> (Albahaca)	-	-	-	-
<u>Zingiber officinalis</u> (Jengibre)	+	+	+	+
<u>Lippia alba</u> (Salvia santa)	-	-	-	-
<u>Eryngium foetidum</u> (Acapate)	-	-	-	-
<u>Achillea millefolium</u> (Alhucema)	-	-	-	-
<u>Cassia grandis</u> (Carao)	-	-	-	-
<u>Yucca elephantipes</u> (Izote)	+	+	+	+
<u>Justicia carthaginensis</u> (Hierba del susto)	+	+	+	+
<u>Plunchea odorata</u> (Siguapate)	+	+	-	+
<u>Paspalum notatum</u> (Grama)	+	+	-	+
<u>Punica granatum</u> (Granada)	+	+	+	+
<u>Hymenea courbaril</u> (Copinol)	-	-	-	-
<u>Guazuma ulmifolia</u> (Caulote)	-	-	-	-

Cuadro N ° 2

EXTRACTO Nombre Científico	TANINOS						
	FeCl3	Sulfato de atropina	K2Cr2O7	Clorhidrato de quinina	Subacetat o de plomo	Sin de Gelatina	Resulta do
<i>Jatropha curcas</i> (Tempate)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Chenopodium ambrosoides</i> (Epazote)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Catharantus roseus</i> (Chula)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Sansevieria quineensis</i> (Curarian)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Rauwolfia tetrafila</i> (Amatillo)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Solanum nigrum</i> (Hierba mora)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Murralla paniculata</i> (Mirto)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Bursera simorouba</i> (Jote)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ztzygium jambos o eugenia jambos</i> (Manzana Rosa)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Tridax procumbens</i> (Hierba del toro)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Lycopersicum esculentum</i> (Tomate)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ricinus cummunis</i> (Higuerillo)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Ocinum basilicum</i> (Albahaca)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Zingiber officinalis</i> (Jengibre)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lippia alba</i> (Salvia santa)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Eryngium foetidum</i> (Acapate)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Achillea millefolium</i> (Alhucema)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cassia grandis</i> (Carao)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Yucca elephantipes</i> (Izote)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Justicia carthaginensis</i> (Hierba del susto)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Plunchea odorata</i> (Siguapate)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Paspalum notatum</i> (Gramma)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Punica granatum</i> (Granado)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Hymenea courbaril</i> (Copinol)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Guazuma ulmifolia</i> (Caulote)	+	+	+	+	+	+	+

Cuadro N ° 3

EXTRACTO Nombre Científico	SESQUITERPENLACTONAS			
	Hidroximato férrico	Baljet	Legal	Resultado
<u>Jatropha curcas</u> (Tempate)	-	-	-	-
<u>Chenopodium ambrosoides</u> (Epazote)	-	-	-	-
<u>Catharantus roseus</u> (Chula)	-	-	-	-
<u>Sanseviria quineensis</u> (Curarian)	+	+	+	+
<u>Rauwolfia tetrafila</u> (Amatillo)	+	+	+	+
<u>Solanum nigrum</u> (Hierba mora)	+	+	+	+
<u>Murralla paniculata</u> (Mirto)	-	-	-	-
<u>Bursera simorouba</u> (Jiote)	-	-	-	-
<u>Ztzygium jambos o eugenia jambos</u> (Manzana Rosa)	+	+	+	+
<u>Tridax procumbens</u> (Hierba del toro)	-	-	-	-
<u>Lycopersicum esculentum</u> (Tomate)	-	-	-	-
<u>Ricinus cummunis</u> (Higuerillo)	-	-	-	-
<u>Ocinum basilicum</u> (Albahaca)	-	-	-	-
<u>Zingiber officinalis</u> (Jengibre)	+	+	+	+
<u>Lippia alba</u> (Salvia santa)	-	-	-	-
<u>Eryngium foetidum</u> (Acapate)	-	-	-	-
<u>Achillea millefolium</u> (Alhucema)	-	-	-	-
<u>Cassia grandis</u> (Carao)	+	+	+	+
<u>Yucca elephantipes</u> (Izote)	-	-	-	-
<u>Justicia carthaginensis</u> (Hierba del susto)	-	-	-	-
<u>Plunchea odorata</u> (Siguapate)	-	-	-	-
<u>Paspalum notatum</u> (Gramma)	-	-	-	-
<u>Punica granatum</u> (Granado)	+	+	+	+
<u>Hymenea courbaril</u> (Copinol)	+	+	+	+
<u>Guazuma ulmifolia</u> (Caulote)	-	-	-	-

Cuadro N ° 4

EXTRACTO Nombre Científico	SAPONINAS			Resultado
	Salkowski	Lieberman Burchard	Método de Espuma	
<u>Jatropha curcas</u> (Tempate)	-	-	-	-
<u>Chenopodium ambrosoides</u> (Epazote)	-	-	-	-
<u>Catharantus roseus</u> (Chula)	-	+	-	-
<u>Sanseviria quineensis</u> (Curarían)	+	+	+	+
<u>Rauwolfia tetrafilia</u> (Amatillo)	-	+	-	-
<u>Solanum nigrum</u> (Hierba mora)	-	-	-	-
<u>Murralla paniculata</u> (Mirto)	-	+	-	-
<u>Bursera simorouba</u> (Jiote)	-	-	-	-
<u>Ztygium jambos o eugenia jambos</u> (Manzana Rosa)	-	-	-	-
<u>Tridax procumbens</u> (Hierba del toro)	+	+	+	+
<u>Lycopersicum esculentum</u> (Tomate)	+	+	+	+
<u>Ricinus cummunis</u> (Higuerrillo)	-	-	-	-
<u>Ocinum basilicum</u> (Albahaca)	-	-	-	-
<u>Zingiber officinalis</u> (Jengibre)	-	-	-	-
<u>Lippia alba</u> (Salvia santa)	-	-	-	-
<u>Eryngium foetidum</u> (Acapate)	-	-	-	-
<u>Achillea millefolium</u> (Alhucema)	-	-	-	-
<u>Cassia grandis</u> (Carao)	-	+	-	-
<u>Yucca elephantipes</u> (Izote)	+	+	+	+
<u>Justicia carthaginensis</u> (Hierba del susto)	-	-	-	-
<u>Plunchea odorata</u> (Siguapate)	-	-	-	-
<u>Paspalum notatum</u> (Grama)	-	-	-	-
<u>Punica granatum</u> (Granado)	-	-	-	-
<u>Hymenea courbaril</u> (Copinol)	+	+	+	+
<u>Guazuma ulmifolia</u> (Caulote)	+	+	+	+

Cuadro N ° 5

EXTRACTO Nombre Científico	GLICOSIDOS CARDIOTONICOS				Resultado
	Kedde	Legal	Keller Kelliani	Lieberman Burchard	
<i>Jatropha curcas</i> (Tempate)	-	-	-	-	-
<i>Chenopodium ambrosoides</i> (Epazote)	-	-	-	-	-
<i>Cathartus roseus</i> (Chula)	+	-	+	+	+
<i>Sanseviria quineensis</i> (Curarían)	-	+	-	+	-
<i>Rauwolfia tetrafila</i> (Amatillo)	+	+	+	+	+
<i>Solanum nigrum</i> (Hierba mora)	-	+	-	-	-
<i>Murralla paniculata</i> (Mirto)	+	-	+	+	+
<i>Bursera simorouba</i> (Jiote)	-	-	-	-	-
<i>Ztzygium jambos o eugenia jambos</i> (Manzana Rosa)	-	+	-	-	-
<i>Tridax procumbens</i> (Hierba del toro)	-	-	-	+	-
<i>Lycopersicum esculentum</i> (Tomate)	-	-	-	+	-
<i>Ricinus cummunis</i> (Higuerillo)	-	-	-	-	-
<i>Ocinum basilicum</i> (Albahaca)	-	-	-	-	-
<i>Zingiber officinalis</i> (Jengibre)	-	+	-	-	-
<i>Lippia alba</i> (Salvia santa)	-	-	-	-	-
<i>Eryngium foetidum</i> (Acapate)	-	-	-	-	-
<i>Achillea millefolium</i> (Alhucema)	-	-	-	-	-
<i>Cassia grandis</i> (Carao)	+	+	+	+	+
<i>Yucca elephantipes</i> (Izote)	-	-	-	+	-
<i>Justicia carthaginensis</i> (Hierba del susto)	-	-	-	-	-
<i>Plunchea odorata</i> (Siguapate)	-	-	-	-	-
<i>Paspalum notatum</i> (Grama)	-	-	-	-	-
<i>Punica granatum</i> (Granado)	-	+	-	-	-
<i>Hymenea courbaril</i> (Copinol)	-	+	-	+	-
<i>Guazuma ulmifolia</i> (Caulote)	-	-	-	+	-

Cuadro N ° 6

EXTRACTO Nombre Científico	ANTRAQUINONAS		FLAVONOIDES	
	Borntrager	Resultado	Shinoda	Resultado
<u>Jatropha curcas</u> (Tempate)	-	-	+	+
<u>Chenopodium ambrosoides</u> (Epazote)	-	-	-	-
<u>Catharantus roseus</u> (Chula)	-	-	+	+
<u>Sanseviria quineensis</u> (Curarían)	-	-	-	-
<u>Rauwolfia tetrafila</u> (Amatillo)	-	-	-	-
<u>Solanum nigrum</u> (Hierba mora)	-	-	-	-
<u>Murralla paniculata</u> (Mirto)	-	-	-	-
<u>Bursera simorouba</u> (Jiote)	-	-	-	-
<u>Ztygium jambos o eugenia jambos</u> (Manzana Rosa)	-	-	+	+
<u>Tridax procumbens</u> (Hierba del toro)	-	-	+	+
<u>Lycopersicum esculentum</u> (Tomate)	-	-	-	-
<u>Ricinus cummunis</u> (Higuerrillo)	-	-	-	-
<u>Ocinum basilicum</u> (Albahaca)	-	-	+	+
<u>Zingiber officinalis</u> (Jengibre)	-	-	+	+
<u>Lippia alba</u> (Salvia santa)	-	-	-	-
<u>Eryngium foetidum</u> (Acapate)	-	-	-	-
<u>Achillea millefolium</u> (Alhucema)	-	-	-	-
<u>Cassia grandis</u> (Carao)	+	+	+	+
<u>Yucca elephantipes</u> (Izote)	-	-	-	-
<u>Justicia carthaginensis</u> (Hierba del susto)	-	-	-	-
<u>Plunchea odorata</u> (Siguapate)	-	-	+	+
<u>Paspalum notatum</u> (Grama)	-	-	-	-
<u>Punica granatum</u> (Granado)	-	-	-	-
<u>Hymenea courbaril</u> (Copinol)	-	-	-	-
<u>Guazuma ulmifolia</u> (Caulote)	-	-	+	+

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DE PRUEBAS FITOQUÍMICAS PRELIMINARES.

En los cuadros N° 1 – 6 están detallados los resultados de las pruebas fitoquímicas preliminares de cada extracto, en dicha prueba se identifica la presencia o ausencia de los metabolitos secundarios mas importantes los cuales podrían ser los responsables de que una planta posea o no actividad antimicrobiana y uso terapéutico.

Los metabolitos investigados son : Alcaloides, Taninos, Sesquiterpenlactonas, Saponinas, Glicósidos cardiotonicos, Antraquinonas y flavonoides. Se determinó la presencia de alcaloides en dieciséis de veinticinco plantas analizadas (Cuadro N°1), taninos en veinte de las plantas analizadas (Cuadro N° 2), sesquiterpenlactonas en ocho de las plantas analizadas (Cuadro N° 3), saponinas en seis de las plantas analizadas (Cuadro N° 4), glicósidos cardiotonicos en cuatro de las plantas analizadas (Cuadro N° 5), antraquinonas en una planta y flavonoides en nueve de las plantas analizadas (Cuadro N° 6).

Se determinó la presencia de alcaloides fácilmente debido a que de las tres pruebas que se realizaron, estas daban un resultado positivo, lo que demuestra que algunas plantas posean una gran variedad de actividad terapéutica.

La mayoría de plantas presentó resultado positivo para taninos debido a que esta forma parte de su metabolismo como defensa y formación de ácidos y frutos. En el caso que no todas las reacciones fueran positivas, se tomó como principal referencia las pruebas de gelatina, clorhidrato de quinina y cloruro férrico, donde los taninos precipitan las proteínas (gelatina), los alcaloides (quinina), y dan diferentes coloraciones con el cloruro férrico.

En la determinación de sesquiterpenlactonas se efectuaron tres pruebas: Hidroximato férrico, Baljet y Legal, dando resultado positivo en pocas plantas, lo que muestra que este metabolito secundario es poco frecuente en ellas.

En la determinación de saponinas se tomó como referencia la prueba de espuma ya que las saponinas tienen la capacidad de disminuir la tensión superficial del agua y formar espuma, presentándose poco frecuente en las plantas estudiadas.

En la determinación de glicósidos cardiotónicos, se efectuaron cuatro pruebas las cuales deben dar positivas para poder afirmar que están presentes, ya que cada prueba identifica cada una de tres partes que componen este metabolito, de lo contrario se considera negativa, en los casos en que se observa positiva la prueba de Lieberman Burchard es porque estas plantas poseen glicósidos saponínicos que identifica el anillo esteroidal del glicósido. Estos resultados son valederos pues los glicosidos cardiotonicos no son tan frecuentes en la naturaleza.

Las antraquinonas también son metabolitos no tan frecuentes en la naturaleza, razón por el cual solamente dio positiva en una planta.

La prueba de Shinoda para flavonoides como única prueba, su resultado positivo o negativo indica la presencia o ausencia de este metabolito.

RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE IDENTIFICACION MICROBIOLÓGICAS.
Cuadro N ° 7
Características Microbiológicas

MICROORGANISMO	MORFOLOGÍA PRESENTADA
<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>	Bacterias con forma de cocos, unidos en racimos, grampositivos
<u><i>Escherichia coli</i></u>	Bacilos gramnegativos de color rasado, formando cadenas o aislado
<u><i>Salmonella typhi</i></u>	Bacilos gramnegativos dispuestos en forma aislada
<u><i>Cándida albicans</i></u>	Levadura grampositiva de forma oblonga, algunas en estado de gemación

Cuadro N ° 8
Pruebas Bioquímicas

MICROORGANISMO DE ENSAYO	PRUEBAS							
	TSI	CITRATO	INDOL	R.M	Mov	V.P	CATALASA	COAGULASA
<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>							+	+
<u><i>Escherichia coli</i></u>	A/A	-	+	+	+	-		
<u><i>Salmonella typhi</i></u>	K/A H ₂ S	+	-	+	+	-		
<u><i>Cándida albicans</i></u>	K/K	+	-	-	+	-		

Cuadro N ° 9
Características Macroscópicas en Medios de Cultivos Selectivos y/o
diferenciales

MICROORGANISMO	OBSERVACIONES EN EL MEDIO
<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>	Staphylococcus 110 : colonias cremosas, lisas, redonda de borde convexo, dispersas en forma abundante en toda la placa
<u><i>Escherichia coli</i></u>	EMB : colonias de color verde metálico, resplandecientes, puntiformes, enteras y de borde convexo
	McConkey : colonias cremosas, rosadas abundantes, circulares y lisas, medio decolorado
<u><i>Salmonella typhi</i></u>	EMB : colonias lisas redondas, incoloras y sin brillo
	McConkey : colonias redondas, lisas, incoloras que no decoloran el medio
<u><i>Cándida albicans</i></u>	Agar Sabouraud : colonias blandas, grandes, elevadas, de forma circular, cremosas y con color a levadura

En base a los resultados obtenidos en las pruebas de identificación microbiológicas, se comprueba que los microorganismos patógenos que serian sometidos a este estudio, los cuales fueron traídos de la Universidad San Carlos de Guatemala, son los destinados a usar en el ensayo y que no presentan contaminación con otros microorganismos, conservándose como cepas ATCC puras.

Cuadro N ° 10

**RESULTADOS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA POSITIVA DEL EXTRACTO
EN LA DETERMINACIÓN DE 25 PLANTAS ANALIZADAS SEGÚN METODO
MITSCHER.**

EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	BACTERIAS INHIBIDAS	CONCENTRACIÓN MINIMA INHIBITORIA
Manzana Rosa. <u>Ztzygium jambos</u> o <u>Eugenia jambos</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	25 mcg / mL
	<u>Cándida albicans</u>	50 mcg / mL
Albahaca. <u>Ocinum basilicum</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	50 mcg / mL
	<u>Cándida albicans</u>	50 mcg / mL
Carao. <u>Cassia grandis</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	50 mcg / mL
	<u>Cándida albicans</u>	100 mcg / mL
Jengibre. <u>Zingiber officinali</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	25 mcg / mL
	<u>Cándida albicans</u>	25 mcg / mL
	<u>Salmonella typhi</u>	50 mcg / mL
	<u>Escherichia coli</u>	50 mcg / mL
Tomate. <u>Lycopersicum esculentum</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	25 mcg / mL
Siguapate. <u>Plunchea odorata</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	25 mcg / mL
Granado. <u>Punica granatum</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	25 mcg / mL
	<u>Cándida albicans</u>	50 mcg / mL
Caulote <u>Gunzuma ulmifolia</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	50 mcg / mL
	<u>Cándida albicans</u>	50 mcg / mL

DISCUSION.

Manzana Rosa (Ztzygium jambos o Eugenia jambos)

Se determino actividad inhibitoria del extracto contra *Staphylococcus aureus* a una concentración de 25 mcg / mL y contra *Cándida albicans* a una concentración de 50 mcg / mL, y ninguna actividad contra *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*. Bibliográficamente se encontró que los extractos etanólicos de la corteza y raíz presenta actividad contra *Escherichia coli*, además no se mencionan estudios realizados con el extracto etanolico de las hojas secas, lo que se comprueba en este estudio.

Los compuestos químicos encontrados fueron alcaloides, taninos, sesquiterpenlactonas y flavonoides, los cuales posiblemente son los responsables de su actividad.

Albahaca (Ocinum basilicum)

Se determino actividad inhibitoria del extracto contra *Staphylococcus aureus* a una concentración de 50 mcg / mL. La bibliografía reporta inactividad del extracto etanólico contra esta bacteria, lo cual contradice estos resultados, posiblemente debido a que los extractos utilizados en esta investigación fueron hidroalcohólicos de tallo y hojas. Lo anterior se puede atribuir también a las características del suelo, clima, época de recolección, parte de la planta utilizada, genética, etc. que pueden variar de un lugar a otro.

Inhibición contra *Cándida albicans* a una concentración de 50 mcg / mL, no se encontró respaldo bibliográfico sobre usos populares contra infecciones causadas por este microorganismo, por lo que puede ser un nuevo uso de esta especie.

Bibliográficamente se menciona que el extracto acuoso de hojas es inactivo contra *Cándida albicans* pero en esta investigación se utilizó extracto hidroalcoholico, por lo cual se considera que esta mezcla extrajo mayor cantidad de componentes activos, no concordando el resultado de esta investigación con la bibliografía.

No se encontró ninguna actividad contra *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*. Por lo que la planta no presenta ninguna actividad contra infecciones causadas por estos microorganismos. Bibliográficamente en forma empírica la infusión se usa oralmente contra infecciones gastrointestinales, lo que contrasta con el resultado obtenido en este estudio. Lo anterior se puede atribuir a las características del suelo, clima, época de recolección, parte de la planta utilizada, genética, etc. que pueden variar de un lugar a otro.

El compuesto químico encontrado fue Flavonoides.

Carao (Cassia grandis)

Se determinó actividad inhibitoria del extracto contra *Staphylococcus aureus* a una concentración de 25 mcg / mL. Sus usos populares por vía tópica son para tratar afecciones dermatológicas como herpes, llagas, tiña y vitíligo. Se extrae de la planta un líquido antiséptico que se utiliza para curar heridas

Inhibición contra *Cándida albicans* a una concentración de 100 mcg / mL, Se le atribuyen propiedades antimicóticos a la decocción de las hojas y fruto.

No se encontró ninguna actividad contra *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*, bibliográficamente no se reportan usos contra infecciones causadas por estos microorganismos.

Los compuestos químicos encontrados fueron alcaloides, Flavonoides, Taninos y Sesquiterpenlactonas, Lo que posiblemente la sinergia de estos pudieran estar influyendo en su actividad inhibitoria.

Jengibre (Zingiber officinali)

El extracto de jengibre demostró ser de amplio espectro matando a todos los microorganismos de prueba, su actividad inhibitoria es contra *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* a una concentración de 25 mcg / mL y contra *Escherichia coli* y *Salmonella typhi* a una concentración de 50 mcg / mL. Bajo el resultado obtenido se comprueba el uso apropiado de esta planta para tratar enfermedades de alta incidencia en la población materno – infantil tales como: afecciones gastrointestinales (cólico, diarrea, falta de apetito, indigestión, flatulencia, nausea) y respiratorias (gripe, amigdalitis, faringitis, asma, bronquitis, catarro, fiebre, inflamaciones de la garganta, pleuresía, pulmonía, resfrió, ronquera, tos) los cuales son originados por este tipo de microorganismos.

Bibliográficamente se le atribuyen propiedades analgésicas, antihistaminicas, antisépticas, antitusivas, aperitivas, aomáticas, astringentes, carminativas, digestiva, espasmolítica, expectorante, etc.

Los compuestos químicos encontrados fueron: Alcaloides, Sesquiterpenlactonas y Flavonoides.

Tomate (Lycopersicum esculentum)

Se determino actividad inhibitoria del extracto únicamente contra *Staphylococcus aureus* a una concentración de 25 mcg / mL. Bibliográficamente se

ha demostrado in Vitro que el extracto alcohólico del cáliz del fruto tiene actividad contra *Staphylococcus aureus* y contra bacterias causantes de infecciones respiratorias. Como usos popular de la planta contra enfermedades de la población materno – infantil se encontró actividad antibacterial en infecciones respiratorias, además en quemaduras y herpes simple (fuego de la boca)¹¹.

Los compuestos químicos encontrados fueron: Alcaloides, Taninos y Saponinas,

Siguapate (*Plunchea odorata*)

Se determino actividad inhibitoria del extracto únicamente contra *Staphylococcus aureus* a una concentración de 25 mcg / mL. Bibliográficamente la decocción de las hojas se utilizan para tratar trastornos gastrointestinales, pero no se menciona un microorganismo patógeno en particular que lo cause. Dado los resultados obtenidos, seria importante realizar otras investigaciones con esta planta en patologías causadas por St. aureus.

Los compuestos químicos encontrados fueron alcaloides, taninos y flavonoides

Granado (*Punica granatum*)

Se determino actividad inhibitoria del extracto contra *Staphylococcus aureus* a una concentración de 25 mcg / mL y contra *Cándida albicans* a una concentración de 50 mcg / mL, y ninguna actividad contra *Escherichia coli* y *Salmonella typhi*. Bibliográficamente, los extractos acuosos y etanolicos tienen actividad antibacteriana

contra *Staphylococcus aureus*, *pyogenes* y *viridans*, popularmente se usa para tratar afecciones gastrointestinales.

No se encontró respaldo bibliográfico sobre su uso contra *Cándida albicans*, por lo que puede ser una alternativa para tratar infecciones causadas por este microorganismo y además es un dato mas que se agrega a su monografía.

Los compuestos químicos encontrados fueron alcaloides, taninos y sesquiterpenlactonas los que posiblemente actúan sinérgicamente para producir la inhibición de estos microorganismos.

Caulote (*Gunzuma ulmifolia*)

Se determino actividad inhibitoria del extracto contra *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* a una concentración de 50 mcg / mL. Bibliográficamente estudios antimicrobianos demuestran que la tintura de hojas es poco activa contra *Staphylococcus aureus* y es inactiva contra *Cándida albicans* contrastando con el resultado obtenido en este análisis lo que puede deberse a que en nuestro caso se utilizó un extracto hidroalcoholico de hojas secas lo que pudo extraer otros metabolitos secundarios diferentes a los extraídos en la tintura.

Bibliográficamente la tintura de las hojas no confirma actividad contra enterobacterias en ningún extracto,

Los compuestos químicos encontrados fueron taninos, saponinas y flavonoides, los que sinérgicamente pueden presentar actividad antimicrobiana.

El resto de extractos analizadas no presentaron actividad antimicrobiana evidente o inhibición total de los microorganismos sembrados, por lo que se reportan

como resultados negativos. No se discute sobre ellos ya que el objetivo de este estudio son los extractos que si presentan actividad antimicrobiana.

Según el método MITSCHER (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología 1999) utilizado, un resultado puede ser únicamente positivo o negativo y no se estiman términos medios de inhibición parcial de un extracto para evitar confusiones posteriores o dudas con respecto a la aplicación medicinal de un producto.

La importancia de los resultados obtenidos es sumamente grande debido a que, con esta investigación, se ha contribuido a la validación de estas especies vegetales y se ha asegurado que el uso medicinal de estas plantas es el correcto, principalmente porque un sector de la población que mas las utilizan es el materno - infantil,

Los resultados obtenidos constituyen una herramienta útil para enseñar el uso adecuado de estas plantas a aquellas personas que las utilizan para tratar enfermedades de la población materno – infantil.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

De los veinticinco extractos analizados, únicamente ocho presentaron actividad inhibitoria contra ciertos microorganismos, el resto de extractos no presentaron una inhibición evidente que permitiera concluir resultado positivo, por lo que se tomó como negativo.

Los resultados positivos presentados corresponden a determinado órgano de la planta que fue estudiado en esta investigación,.

En las placas de control negativo (9 mL de agar + 1 mL etanol 50 %) se produjo crecimiento de todos los microorganismos sembrados, por lo que se comprueba que el etanol que contiene el medio, a la concentración utilizada no es capaz de inhibir el crecimiento microbiano por lo que no afecta el ensayo.

Se utilizaron como microorganismos de prueba cepas ATCC para cumplir con las especificaciones del método y garantizar repetitividad de los resultados.

De los ocho extractos con resultado positivo, todos presentaron inhibición contra *Staphylococcus aureus* a diferentes concentraciones, seis contra *Cándida albicans* y uno contra *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*.

De los cuatro microorganismos de prueba, *Staphylococcus aureus* fue el microorganismo mas susceptible, ya que fue inhibido por los ocho extractos.

Salmonella typhi y *Escherichia coli* presentaron mayor resistencia bacteriana, ya que solo presentaron inhibición en un extracto.

El extracto de *Zingiber officinali* (jengibre) presentó el mayor poder antimicrobiano, matando a los cuatro microorganismos de prueba.

El método utilizado de obtención del extracto por maceración en un percolador y concentración en rotavapor a temperatura controlada, permite tener la seguridad que los componentes químicos obtenidos no han sido afectados por la temperatura.

La inhibición parcial no se toma en cuenta en este estudio debido a que el objetivo es encontrar extractos con actividad antimicrobiana , es decir inhibición total de un microorganismo.

En base a los resultados obtenidos en este estudio, fomentar el uso de la medicina tradicional como una alternativa real, de bajo costo y al alcance de todos.

Incluir el método Mitscher (método de dilución en agar) para la Determinación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos Vegetales dentro de los programas de estudio de la cátedra de microbiología en la carrera de Licenciatura en Química y Farmacia, ya que es un método fácil, sencillo, rápido, reproducible,

permite procesar gran número de muestras a la vez y produce datos valiosos para el conocimiento de nuestras especies vegetales y su poder curativo.

De las veinticinco plantas analizadas, únicamente ocho de estas poseen actividad antimicrobiana. Bibliográficamente, el extracto etanólico de la corteza del árbol manzana rosa (*Eugenia jambos*) presenta actividad contra *Escherichia coli*, no se encontró otro estudio hecho con extracto etanólico de hojas. En cambio, en esta investigación se encontró que el extracto etanólico de las hojas presenta actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans*, pero no contra *Escherichia coli*, posiblemente es debido a que en las hojas no se encuentra el metabolito capaz de inhibir la *E. Coli* sino en la corteza, por lo que el resultado obtenido es útil para poder realmente tratar una enfermedad de la población materno – infantil.

Albahaca (*Ocinum basilicos*), su extracto acuoso de hojas es activo contra bacterias gram + y gram - no especificadas en la bibliografía y es inactiva contra *Cándida albicans* y el extracto etanólico no inhibe *St. aureus*. En nuestra investigación se determinó que el extracto etanólico de las hojas frescas y el tallo es activo contra *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans*, posiblemente a que el solvente de extracción es mejor que el agua y la naturaleza de las hojas utilizadas así como la concentración ayudaron a inhibir al *St. Aureus*.

Carao (*Cassia grandis*), bibliográficamente la tintura de las hojas es activa contra *Staphylococcus aureus* e inactiva contra *Cándida albicans*. En nuestra investigación

se utilizó un extracto etanolico obtenido por un método que garantiza la calidad y conservación de los extractos, obteniéndose resultados importantes para una mejor utilización de esta planta por la población materno – infantil.

Jengibre (*Zingiber officinali*), bibliográficamente es activo contra los cuatro microorganismos de ensayo al igual que en nuestro análisis. Esta planta presenta la mejor actividad antimicrobiana y es un gran recurso para tratar enfermedades de la población materno - infantil, ya que inhibe a todos los microorganismos de prueba

Tomate (*Lycopersicum esculentun*), bibliográficamente no presenta estudios sobre inhibición a microorganismos, en nuestra investigación de determinó que poseía actividad inhibitoria contra *Staphylococcus aureus* lo que podría ser una alternativa que pueda emplearse por la población materno -. Infantil debido a que estamos familiarizado con su fruto.

Siguapate (*Plunchea odorata*), bibliográficamente presentan actividad positiva contra *Estaphylococcus aureus*, lo que se confirmó en esta investigación, esta planta es inactiva contra el resto de microorganismos de ensayo.

Granado.(*Punica granatum*) bibliográficamente los extractos acuosos de tallo, hojas y flores no tienen actividad antibacterial pero sí el extracto etanolico del epicarpio del fruto. En esta investigación se utilizó el extracto etanolico de hojas observándose actividad contra *St. Aureus* y *Cándida albicans*, información importante para la utilización de esta especie.

Caulote (*Guazuma ulmifolia*) estudios antimicrobianos aseguran que la tintura de hojas es poco activa contra *E. Coli*, *St. Aureus*, es activa contra *Cándida albicans* y no se confirmó la actividad contra enterobacterias en ningún extracto con diferentes solventes. En esta investigación se determinó actividad positiva *contra St. Aureus* y *Cándida albicans* utilizándose un extracto etanolico.

Todos los resultados obtenidos en esta investigación son sumamente importantes ya que contribuyen a la validación de los usos terapéuticos que se les ha dado por años, principalmente por la población materno – infantil, que es una de las mas beneficiadas con estos conocimientos.

CAPITULO V

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

Las condiciones de presión reducida usando un evaporador al vacío a temperatura controlada sin que ésta suba de 45°C, son las óptimas para evitar la destrucción de moléculas termolábiles de los probables principios activos que presentan actividad antimicrobiana en el extracto. Lo anterior se debe a que en este análisis se desconoce específicamente la estructura química de los componentes activos que podrían presentar actividad antimicrobiana, por el hecho de que son especies de las cuales los conocimientos que tenemos acerca de su uso son únicamente folklóricos. Por tal razón, asumimos que todos los extractos deben ser sometidos a las mismas condiciones de temperatura inferior a los 45° C para no destruir los posibles principios activos presentes.

Realizar un seguimiento al presente estudio, partiendo de los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico que permita conocer de entre todos los componentes químicos del extracto, cual de ellos es el principio activo que presenta la actividad antimicrobiana.

Se recomienda someter a determinación antimicrobiana otros órganos de las plantas estudiadas, con el objetivo de encontrar otras propiedades curativas.

Los datos obtenidos son una información valiosa que debe ser divulgada entre las personas que más la necesitan, a quienes va dirigido este estudio como es el área materno- infantil y concientizarles sobre su mejor utilización

Continuar los estudios complementarios para la validación de estas especies vegetales como lo son estudios clínicos, toxicológicos, farmacológicos y de biodisponibilidad en el organismo (animales), a las concentraciones que reportaron actividad antimicrobiana, para que constituyan una alternativa contra el tratamiento de enfermedades infectocontagiosas.

Realizar determinación de la actividad antifúngica a los extractos con resultado positivo, que contribuyan también a la validación de estas.

Buscar formas de administración mas adecuados a través de preparados farmacéuticos estables elaborados con los extractos con actividad positiva, que garanticen un tratamiento curativo y una alternativa mas barata para los sectores de la sociedad mas pobres.

Incluir el método Mitscher (método de dilución en agar) para la Determinación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos Vegetales dentro de los programas de estudio de microbiología en la carrera de Licenciatura en Química y Farmacia, ya que es un método fácil, sencillo, rápido, reproducible, permite procesar gran numero de muestras a la vez y produce datos valiosos para el conocimiento de nuestras especies vegetales y su poder curativo.

Fomentar el estudio de otras especies vegetales tradicionalmente utilizadas en nuestro país, que enriquezcan el conocimiento sobre nuestra especies vegetales y su poder curativo.

Aunque algunos extractos presentaron inhibición parcial a las concentraciones utilizadas, puede retomarse este dato para un estudio posterior en el cual, estos puedan ensayarse a mayor concentración y lograr inhibición total de un microorganismo.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARLING SABILLON ; MARIO BUSTAMANTE. “ Plantas Con Propiedades Plaguicidas”, 1ª parte , Publicación DPV – Zamorano , Escuela de Agricultura Panamericana Zamorano, Honduras.
2. CACERES , A . “ Plantas de uso medicinal en Guatemala “, 1ª edición , Editorial Universitaria , Universidad de San Carlos , Guatemala , 1996
3. CAMPOS SOSA , H. A ; SANTAMARÍA CAÑAS , A. M ; SOLIS ALAS, O.A ; “Determinación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos de Veintiséis de la Flora Salvadoreña” , Facultad de química y Farmacia , Universidad de el Salvador , El Salvador , 1999.
4. FREEMAN., B. A. Ph D. “Microbiología de Burrows “. 22º edición , Editorial interamericana, Madrid, España, 1986
5. GUPTA, M. P, 270 Plantas Medicinales Iberoamericanas, 1º Edición,, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo CYTED, Santa Fe de Bogota D. C. Colombia, 1995
6. HOUSE P . R ; TORRES C. ; LAGOS – WHITES. MEJIA T L. ; OCHOA L. ; RIVAS M. “Plantas Medicinales Comunes en Honduras”. 1ª edición, Universidad

Nacional Autónoma de Honduras (UNAH), Laboratorio de Histología Vegetal y Etnobotánica, Tegucigalpa, Honduras, 1995

7. INTERNET. <http://www.paspalum notatum.org>.

8. INTERNET: <http://www.licopersicum esculentum. Org>

9. INTERNET : <http://www.Laboratorio farmacognosia. fac.org>

10.INTERNET : <http://www.botánica medicinal.com>

11.JAWETS, E.; MELNICK, J. L. ;ADELBERG, E. A. "Microbiología Medica", 14^a edición, Editorial Manual Moderno, México, D. F. , 1992

12.MITSCHER, L. A. ; LEU, R. P. ; BATHALA, M. S. ; WU, W – N, Beal j. I. and white R (1972), Antimicrobial Agents from Higher Plants I, introduction rationale and Methodologia. Lloydia 35. 157 – 166

13.Manual de Técnicas de Investigación del CYTED (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo), Química Farmacéutica, proyecto x – 1, Búsqueda de principios Bioactivos en Plantas de la Región, Marzo de 1995

14.Manual de Microbiología aplicada I, Facultad de Química y Farmacia, universidad de El Salvador, El Salvador, 1996

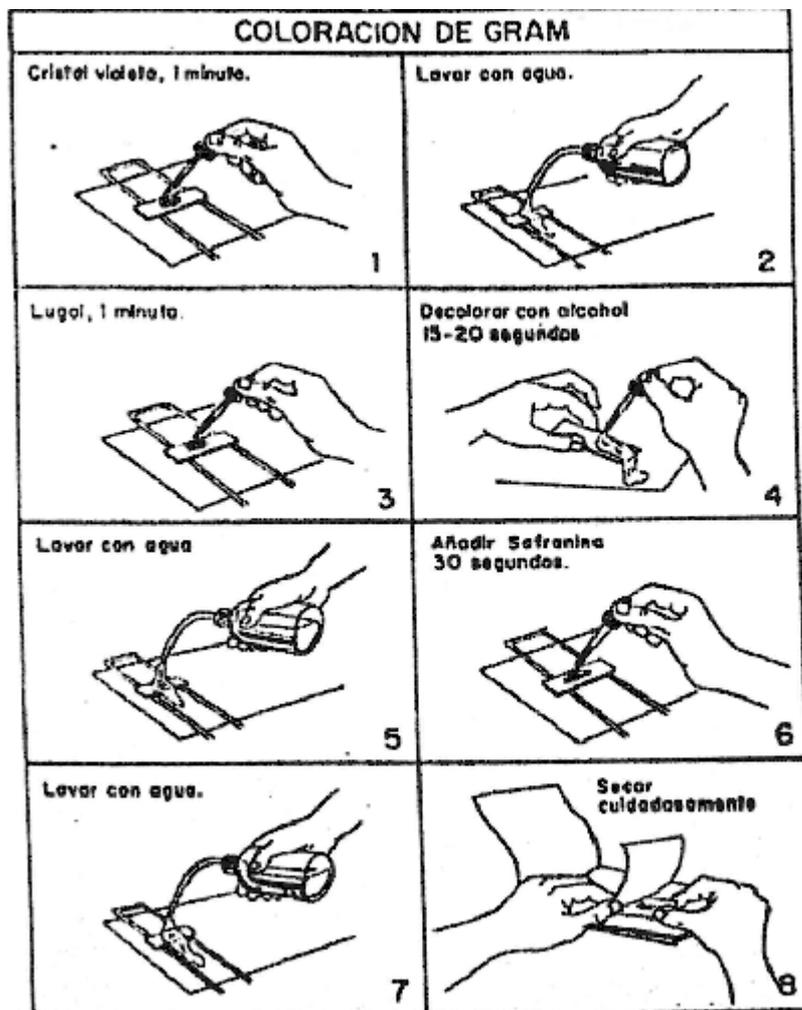
15. Manual de Microbiología y Parasitología, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El salvador, El salvador, 1994
16. MARIA GLADIS DE MENA GERRERO, "Obtención y aprovechamiento de extractos Vegetales de la Flora salvadoreña" 2ª edición, Editorial Universitario, Universidad de El Salvador, 1994
17. PELCZAR, M. ; REID, R. ; CHAN, E. C. S. " Microbiología " 4ª edición, Editorial McGraw Hill S. A. de C. V., México DF, 1992
18. PLANTER, "Obtención y Aprovechamiento de Extracto Vegetales de la flora Salvadoreña", 1ª edición, volumen I, Editorial Universitaria, Universidad de El Salvador , El salvador 1989
19. PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN APLICADA (APROCSAL), Colección "Plantas Medicinales" , Asociación de Promotores comunales salvadoreños, San salvador, El Salvador

ANEXOS

Anexo N ° 1

PRUEBAS MICROSCÓPICAS (COLORACIÓN AL GRAM)

Este método hace uso de colorantes orgánicos catiónicos como cristal violeta o safranina con fuerte afinidad por materiales celulares con carga negativa como los ácidos nucleicos y polisacáridos ácidos.



Anexo N° 2

PRUEBAS BIOQUÍMICAS REALIZADAS

Pruebas para identificar un microorganismo a través de mediciones bioquímicas.

MICROORGANISMO	PRUEBA	PRINCIPIO	PROCEDIMIENTO	INTERPRETACION
Enterobacterias : <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella typhi</i>	Agar triple azúcar y hierro (TSI)	Mide la fermentación de azúcares a través de la incorporación de pH que cambia de color al acidificarse el medio. Determina la producción de H ₂ , CO ₂ y H ₂ S	Inocular el medio con cultivo puro tanto en la superficie inclinada como en el fondo del agar. Se incuban de 24 a 48 horas a 37 °C	Los organismos capaces de fermentar solamente la glucosa causan la formación de ácido dentro del agar, los que fermentan la sacarosa y la lactosa causan la formación de ácido en la parte alta del medio. La fractura del centro del agar indica formación de gas, el medio ennegrecido indica la formación de H ₂ S
	Citrato	Identifica la utilización del citrato como única fuente de carbono que se visualiza por la elevación del pH en el colorante utilizado como indicador	Inocular la superficie del medio e incubar 24 horas a 37 ° C	Prueba positiva permite el crecimiento en el medio y el cambio de color es de verde a azul
	Indol	Caldo de peptona con alto contenido de triptófano el cual es convertido en Indol	Inocular el caldo con el microorganismo y encubar de 24 a 48 horas a 37 ° C. Añadir reactivo de Erlich (P- dimetil amino bemzaldehido) por las paredes del tubo y ver anillo	Positivo: Formación de anillo violáceo en la interface que identifica la presencia del Indol
	Rojo de Metilo	Indica fermentadores ácido- mixtos que	Inocular el caldo con el microorganismo en estudio e incubar	La aparición de un rojo intenso que se mantiene es

		producen suficiente ácido para disminuir el pH por debajo de 4.3	de 24 a 48 horas a 37 ° C. Añadir gotas de indicador rojo de metilo	indicio de la caída de pH
	Movilidad	Determina la capacidad de las Bacterias de desplazarse en medios semisólidos por medio de flagelos peritricos característicos de las enterobacterias	Inocular el medio hasta el fondo con el microorganismo con aza en punta y e incubar durante 24 a 48 horas a 37° C.	Si las bacterias no son móviles, el crecimiento no se difunde mas allá de la línea de puntura. Pero si es móvil el crecimiento se difunde visualmente formando turbidez.
	Voges–Pr oscauer	Determina la presencia de acetilcarbinol que es una acetona producida por la fermentación de la dextrosa.	Inocular el caldo con cultivo del microorganismo e incubar de 24 a 48 horas a 37 ° C . Añadir gotas de alfa naftol, alcohol absoluto y KOH 40 %	El desarrollo de una coloración roja que perdura de 15 a 30 minutos evidencia la presencia de acetilcarbinol
<i>Staphilococcus aureus</i>	Catalasa	Identifica la enzima catalasa que descompone el H ₂ O ₂ , característica que permite diferenciar los Staphylococcus de los Estreptococcus	Colocar una gota de H ₂ O ₂ al 30 % sobre una lámina portaobjetos y colocar una porción de colonia del microorganismo	Se produce un burbujeo vigoroso del peroxido que indica la presencia de staphylococcus
	Coagulas a	Evidencia la reacción de coagulación del plasma sanguíneo que produce la enzima	Colocar 0.5 mL de plasma citratado. Inocular una colonia de microorganismo e incubar a 37 ° C por 24 horas	Observar coagulación total o parcial del plasma, se interpreta como presencia de coagulasa enzima característicamente producida por Staphylococcus aureus

Anexo N° 4

CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DE LOS MICROORGANISMOS A ENSAYAR

MICROORGANISMO	AGAR	CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS	INTERPRETACION
<u><i>Staphylococcus aureus</i></u>	Staphylococcus 110	Colonias cremosas con crecimiento abundante de color amarillo	El crecimiento obedece a que este medio contiene altas concentraciones de cloruro de sodio que no permite el crecimiento de otras bacterias
<u><i>Escherichia coli</i></u>	EMB (Eosina Azul de Metileno)	Colonias con centro oscuro, con matiz metálico verdoso característico de E. coli	Cualquiera de los medios EMB o McConkey permiten la diferenciación de las bacterias fermentadoras de lactosa y las no fermentadoras de lactosa, e inhiben el desarrollo de microorganismos grampositivos como los Staphylococcus. En EMB bacterias lactosa positivas forman colonias con brillo metálico y las lactosa negativas colonias incoloras. En McConkey las bacterias lactosa positivas forman colonias rosadas y las lactosa negativas colonias incoloras
	McConkey	Colonias cremosas color rojo o rosadas	
<u><i>Salmonella sp</i></u>	EMB (Eosina Azul de Metileno)	Colonias traslucidas incoloras o doradas	
	McConkey	Colonias incoloras	
<u><i>Cándida albicans</i></u>	Agar Sabouraud	Se desarrollan colonias blandas, color cremoso con olor a levadura	El desarrollo de este tipo de colonias es característica de Cándida albicans

Anexo N° 5

**EJEMPLO DE UN ROTAVAPOR UTILIZADO PARA LA
CONCENTRACION DE EXTRACTOS HIDROALCOHOLICOS POR
ELIMINACION DE ALCOHOL Y AGUA.**



Anexo N° 6

EJEMPLO DE UN PERCOLADOR CONTENIENDO EXTRACTO ESTERIL DE UNA PLANTA.



GLOSARIO

ABSCESO: Cavidad que contiene pus formada por la desintegración de los tejidos y esta rodeada de tejido inflamado como consecuencia de la supuración en una infección localizada.

ABORTO: Interrupción espontánea o inducida del embarazo.

ABORTIVO: Sustancia o practica capaz de producir aborto.

AGUA DE TIEMPO: A temperatura ambiente, sustancia acuosa generalmente medicinal que su consumo es frecuente.

ALERGIA: Reacción de hipersensibilidad frente a ciertos antígenos.

AMENORREA: Falta de menstruación.

ANALGÉSICO: Que calma o disminuye la sensación de dolor.

ANTIÁCIDO: Que contrarresta la sensación de dolor.

ANTIBACTERIANO: Que destruye bacterias.

ANTIBIÓTICO: Agente antimicrobiano.

ANTIESPASMÓDICO: Sustancia utilizada para contrarrestar las contracciones.

ANTISÉPTICO: Sustancia que sirve para lograr la desinfección.

ASTRINGENTE: Sustancia que provoca una contracción fibrilar de los tejidos orgánicos o que produce contracción y sequedad de los tejidos cuando se aplica localmente.

CICATRIZANTE: Que cierra y sana heridas y llagas.

CARMINATIVO: Sustancia que favorece la expulsión de los gases producidos en el tubo digestivo.

CATAPLASMA: Masa plástica y plana que contiene productos medicinales y que se aplica como calmante o emoliente.

CARCINOGENICAS: Que tiene la capacidad de inducir el desarrollo de un cancer.

CITOTÓXICO: Que tiene un efecto toxico sobre determinadas células.

COADYUVANTE: Que contribuye o ayoda.

COLAGOGO: Agente que promueve el flujo de bilis al intestino, especialmente por contracción de la vesícula biliar.

CEFALEA: Dolor de cabeza violento y tenaz.

CARMINATIVO: Sustancia que combate la flatulencia y la distensión abdominal.

DECOCCIÓN: Producto que se obtiene por el cocimiento en agua de sustancias vegetales.

DERMATOSIS: Diversas afecciones de la piel.

DIABETES: enfermedad del metabolismo caracterizada por aumento de la glucosa sanguínea.

DIURÉTICO: Sustancia capaz de aumentar la secreción de orina.

DISMENORREA: Menstruación dolorosa.

EMENAGOGO: Que estimula el flujo menstrual.

EMÉTICO: Que produce vomito.

EMOLIENTE: Suaviza y ablanda la piel.

EPILEPSIA: Convulsión.

ENEMAGOGO: Sustancia que combate la emesis (vomito).

ESCORBUTO: Enfermedad causada por carencia de vitamina C, se presenta por hinchazón y hemorragias en las encías, perdida de los dientes y manchas en la piel.

ESPASMO: contracción muscular involuntaria, persistente y dolorosa.

ESTREÑIMIENTO: Dificultad para evacuar las heces.

ERITEMA: Enrojecimiento o inflamación de la piel o membranas mucosas como resultado de la dilatación y congestión de los capilares superficiales.

EXPECTORANTE: Sustancia que facilita la expulsión de la flema acumulada en los bronquios y pulmones.

FLATULENCIA: Exceso de gases en el tubo digestivo.

FUNGUICIDA: Sustancia que inhibe el crecimiento de los hongos matándolos.

FURÚNCULO: Infección cutánea estafilocócica de carácter localizado y supurativo, que se origina en una glándula o folículo piloso y se caracteriza por dolor, enrojecimiento e hinchazón.

GANGRENA: Necrosis o muerte de un tejido, generalmente a consecuencia de isquemia, infección bacteriana y putrefacción consiguiente.

GASTROENTERITIS: inflamación del estomago y de los intestinos.

GOTA: Enfermedad que causa hinchazón muy dolorosa en ciertas articulaciones.

PÚSTULA: Excrescencia pequeña y circular de la piel que contiene líquido.

SEPSIS: Contaminación.

SEPTICEMIA: Infección sistémica caracterizada por la aparición de patógenos en la sangre circulante, procedentes de una infección localizada en cualquier parte del organismo.

Té: sinónimo de infusión.

TINTURA: Solución de cualquier sustancia medicinal en un líquido que disuelve de ella ciertos principios tranquilizantes.