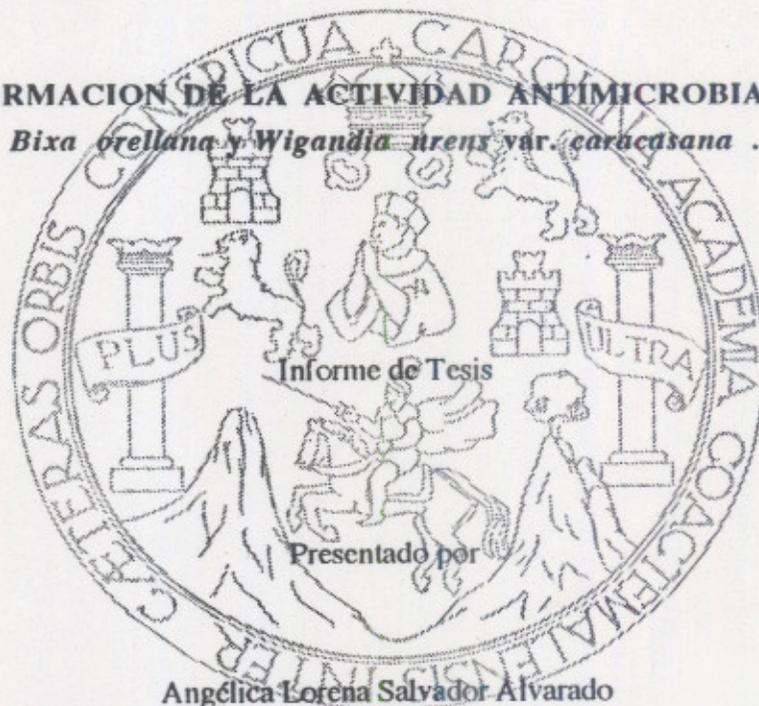


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

CONFIRMACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE  
*Bixa orellana* y *Wigandia urens* var. *caracasana* .



Estudiante de la carrera de  
Químico Biólogo

Guatemala, Octubre de 1994

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

DL  
06  
†(1626) B

**JUNTA DIRECTIVA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

Decano	Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Secretario	Licda. Eleonora Gaitán Izaguirre
Vocal I	Lic. Miguel Angel Herrera
Vocal II	Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Vocal III	Lic. Miguel Orlando Garza Sagastume
Vocal IV	Br. Jorge Luis Galindo Arévalo
Vocal V	Br. Edgar Antonio García del Pozo

## **DEDICO ESTE ACTO**

A DIOS NUESTRO SEÑOR Y VIRGEN MARIA

A MIS PADRES

José Antonio Salvador  
Gloria Alvarado de Salvador

A MIS HERMANOS

Marlon Antonio  
Delmy Azucena

A:

Julio Guillermo Fernández Ch.

## **DEDICO ESTA TESIS**

A Guatemala,

A la Universidad de San Carlos de Guatemala,

A mi asesor: Lic. Armando Cáceres Estrada

A mis amigos y compañeros

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Lic. Armando Cáceres Estrada, por su asesoría y apoyo brindado durante la elaboración de esta tesis.

Mi agradecimiento especial a la Lic. Elsa Jauregui por su colaboración y ayuda en el desarrollo de la parte experimental de la tesis.

Asi mismo al Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos -FARMAYA-, por su financiamiento y colaboración prestada en el uso del equipo e instalaciones para el desarrollo de la parte experimental. A todo el personal que labora en Farmaya por su colaboración, especialmente a José A. Pérez.

## INDICE

Contenido	Página
1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Antecedentes	3
3.1 Estudio de la actividad antimicrobiana vegetal en Guatemala	3
3.2 Descripción de las plantas en estudio	5
3.3 Descripción de los microorganismos en estudio	7
3.4 Demostración de la actividad antimicrobiana <i>in vitro</i>	18
4. Justificaciones	20
5. Objetivos	21
6. Hipótesis	22
7. Materiales y Métodos	23
8. Resultados	29
9. Discusión de Resultados	36
10. Conclusiones	39
11. Recomendaciones	40
12. Referencias	41

## 1. RESUMEN

Para validar científicamente el uso popular de las plantas medicinales en Guatemala, se estudió la actividad antimicrobiana de dos arbustos a los cuales se le ha demostrado actividad en alguna parte de la planta: *Bixa orellana* (achiote) y *Wigandia urens* var. *caracasana* (chocón) usadas empíricamente en el tratamiento de diversas infecciones.

Este estudio se realizó en tres partes, en la primera fase se efectuó un tamizaje con extractos de etanol al 50% para determinar los órganos de mayor actividad antimicrobiana, utilizando un método de dilución y siembra de estrias, para el caso de bacterias y levaduras, y un método de dilución y siembra en pozos en el caso de hongos. Los órganos que mostraron mayor actividad fueron para *B. orellana* la hoja y corteza y para *Wigandia urens* var. *caracasana* la hoja y flor.

En la siguiente fase se procedió a encontrar el mejor disolvente, se obtuvieron nuevos extractos de los órganos escogidos, por medio de percolación en frío con recambio de disolvente, usando: etanol al 80% y diclorometano y por medio de una infusión con agua. Para averiguar cuál disolvente extrae el principio activo responsable de la actividad antimicrobiana se utilizó el mismo procedimiento empleado para el tamizaje. El disolvente que mostró mayor actividad antimicrobiana contra los microorganismos ensayados fue el etanol al 50%, seguido de etanol al 80%. Los extractos acuosos sólo mostraron actividad antibacteriana (corteza de *B. orellana* y hoja de *W. urens* var. *caracasana*) y el diclorometano sólo mostró actividad contra *Staphylococcus aureus* (flor de *W. urens* var. *caracasana*).

En la tercera fase se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), con todos los microorganismos que fueron inhibidos, se observó que el extracto etanólico al 50% de flor de *W. urens* var. *caracasana* inhibe a *Staphylococcus aureus* en concentraciones de 5, 2.5 y 1.25 mg/ml y a *Aspergillus flavus* hasta una concentración de 12.5 mg/ml. Los extractos etanólicos al 50% y 80% de hoja y corteza de *B. orellana*, hoja y flor de *W. urens* var. *caracasana* inhiben a *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum* y *Trichophyton rubrum* hasta una concentración de 10 mg/ml.

El análisis estadístico de los resultados se realizó por medio de un análisis binomial: las variables fueron: éxito= inhibición del crecimiento (+), fracaso= crecimiento (-). Todos los ensayos que se presentan como positivos (+) representan los cuatro resultados positivos (repeticiones), lo que indica que existe una actividad antimicrobiana estadísticamente significativa ( $P < 0.1$ ).

## 2. INTRODUCCION

El estudio de la acción antimicrobiana de extractos y productos de plantas es en la actualidad, un tema de interés para muchos investigadores a nivel mundial; en particular para aquellos que están involucrados en el área de salud y en el desarrollo de productos naturales.

Desde hace varios años en Guatemala se están llevando a cabo estudios para validar científicamente el uso popular de las plantas medicinales, demostrándose que algunas ejercen cierta actividad antimicrobiana *in vitro*.

En vista de la abundancia y de las características medicinales de *Bixa orellana* (achiote) y *Wigandia urens* var. *caracasana* (chocón), en las cuáles se ha demostrado la existencia de cierta actividad antimicrobiana, en el presente trabajo se pretende confirmar dicha actividad, determinar el órgano con mayor actividad, el disolvente que mejor extrae la actividad y medir la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de los extractos más activos.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 Estudio de la actividad antimicrobiana vegetal en Guatemala

Guatemala es un país rico en tradiciones y cuenta con una gran herencia cultural en la cuál la medicina natural ocupa un importante lugar; ésto, unido a que ecológicamente hay una gran diversidad botánica que se encuentra ampliamente distribuída en las distintas regiones del país, hacen que el uso de plantas sea una alternativa de tratamiento con buenas posibilidades de éxito (1).

En los últimos años ha surgido un renovado interés por la medicina natural y se han establecido métodos y técnicas experimentales para valorar científicamente su aplicación en el tratamiento de diversas condiciones patológicas.

En Guatemala en los últimos años se han realizado diversas investigaciones de laboratorio sobre las propiedades antimicrobianas de diversas plantas nativas de las diferentes regiones del país (1).

En el listado nacional de plantas de uso medicinal en Guatemala se mencionan por lo menos 623 plantas pertenecientes a 114 familias que son usadas en la región con fines medicinales, con énfasis en el tratamiento de procesos infecciosos de sistemas como el digestivo, respiratorio, genitourinario, piel y mucosas. Las familias más frecuentemente utilizadas son: Compositae (10.4%), Leguminosae (9.9%), Euphorbiaceae (5.6%), Labiatae (4.3%), Solanaceae (3.2%), Malvaceae (3.1%), Verbanaceae (2.2%), Rosaceae (1.9%) y Boraginaceae (1.8%) (1).

La mayoría de plantas se usan para el tratamiento de afecciones de más de uno de los sistemas anatómico y fisiológico escogido por afectar con mayor frecuencia a la población general, ya que (9.8%) de las plantas se usan para los cuatro sistemas, (19.1%) son usadas para tres, (23.6%) para dos y (47.5%) únicamente para un sistema. El sistema para el que se detectó que se utilizan el mayor número de plantas fue el gastrointestinal ya que (65.5%) de las plantas fueron utilizadas para el tratamiento de afecciones de este sistema, (47.0%) para las afecciones de la piel y mucosas, (38.4%) para afecciones del sistema genitourinario y (36.9%) para afecciones del sistema respiratorio (1).

La actividad de 190 plantas de 66 familias fue investigada contra bacterias, levaduras, dermatofitos, helmintos y protozoos patógenos al hombre. Por métodos de difusión de disco en placa se demostró la actividad de extractos hidroalcohólicos contra tres bacterias Gram positivo,

seis Gram negativo y *Candida albicans*. Por métodos de dilución en tubo se demostró la actividad de extractos acuosos contra seis dermatofitos, trofozoitos de *Trichomonas vaginalis* y huevos de *Ascaris lumbricoides*. Se demostró que existe actividad antimicrobiana en cuando menos 44.7% de las plantas; las plantas nativas con más amplio espectro de actividad contra los microorganismos estudiados son: *Byrsonima crassifolia*, *Cassia grandis*, *Cassia occidentalis*, *Gnaphalium viscosum*, *Piscidia piscipula*, *Physalis philadelphica*, *Psidium guajava*, *Smilax lundelii*, *Solanum americanum*, *Solanum nigrescens* y *Tagetes lucida* (2).

Por encuestas y revisión de literatura se han detectado 240 plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones dermatomucosas y de éstas se han realizado estudios de susceptibilidad antibiótica por el método de Bauer y Kirby modificado de 117 plantas contra levaduras, de las cuáles el 9.4% demostró halos de inhibición evidente, 2.6% halos intermedios y 88% no demostró inhibición. Los datos de esta investigación evidencian que en Guatemala se usan varias plantas para el tratamiento de infecciones dermatomucosas (3).

Por la misma metodología se detectaron 100 plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de dermatofitosis. Se tamizó la actividad de 52 plantas y la actividad se demostró por dilución en tubo contra los siguientes dermatofitos: *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* var *algononosa* y *granular* y *Trichophyton rubrum*. El 50% de las plantas ensayadas mostraron actividad contra dermatofitos patógenos al hombre; por lo que de no demostrarse toxicidad, se podría estimular su uso por la población dentro de la medicina tradicional (4,5).

Por encuestas y revisiones de literatura se han detectado 150 plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de gonorrea. La demostración de la actividad antineiseria se realizó en dos fases; en la primera fase se estudiaron 44 plantas de las cuáles, el (27.3%) demostró inhibición evidente, el (18.2%) inhibición intermedia y el (54.4%) no demostró actividad. En la segunda fase se trabajó con 16 plantas, las que produjeron resultados diferentes al tamizaje anterior; se demostró que en nueve plantas el espectro de inhibición fue de (100%), en cuatro plantas parcial (80%) y tres plantas no mostraron actividad (6).

Los datos presentados validan preliminarmente el uso popular de éstas plantas y sugieren la necesidad de proseguir estudios para determinar el órgano con mayor actividad, el disolvente que mejor extrae la actividad y medir la CIM de los extractos más activos, de dos arbustos que han presentado actividad antimicrobiana *in vitro* como lo son *B. orellana* (achiote) y *W. urens* var. *caracasana* (chocón).

## 3.2 Descripción de las plantas en estudio

### 3.2.1 *Bixa orellana* L.

Pertenece a la familia *Bixaceae* y es conocida comúnmente como achiote o achiotío.

#### 2.2.1.1 Descripción de la planta

Arbol pequeño hasta 5 m de altura, en Guatemala ha llegado alcanzar 12 m. Hojas alternas acorazadas, 15 cm de largo por 10 cm de ancho. Flores grandes, 4 cm de diámetro, con 5 pétalos, de color blanco o rosado. Estambres numerosos de color morado. El fruto es una cápsula de 3 cm, de color café y completamente cubierta con espinas. En la cápsula se encuentran muchas semillas rodeadas de una pulpa de color rojo (7-10).

#### 3.2.1.2 Origen y distribución

Planta nativa del continente americano, se ha descrito desde México hasta Bolivia en alturas de hasta 1,000 m. En Guatemala se cultiva por su producción de colorante en los siguientes departamentos: Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, El Progreso, Jutiapa, Zacapa, Chiquimula, Santa Rosa, Escuintla, Suchitepéquez, Retalhuleu, San Marcos, Sacatepéquez, Quetzaltenango y Chimaltenango. Se han encontrado algunas variedades en Guatemala y Centroamérica, tales como: *B. orellana* var *urucurana* (Willd), distribuída en El Petén, Retalhuleu, Jutiapa, Santa Rosa y Escuintla; *B. orellana* var *leicocarpa* (Kutze), frecuentemente se cultiva en Guatemala; se ha encontrado en El Petén, Santa Rosa, Sololá y Sacatepéquez pero probablemente se encuentra en todos los departamentos agrícolas. Ambas variedades son diferenciables por el fruto, la primera tiene un fruto globoso de medidas variables y densamente cubierto de espinas flexibles y la segunda variedad tiene un fruto con cubierta uniforme, espinosa y dura. Florece en noviembre y se cosecha en marzo y abril (7-9,11).

#### 3.2.1.3 Usos

Se utiliza toda la planta en tratamiento de disentería, diarrea, vómitos, dolor de estómago, gastritis, hemorroides, indigestión, estreñimiento, flatulencia, para tonificar el apetito, afecciones hepáticas, inflamación de la garganta, asma, pleuresía, diabetes, oliguria, dolor de oído, dolor de cabeza, infecciones del ombligo; la parte roja que recubre las semillas se emplea contra erupciones de la piel, salpullido y quemaduras; la decocción de la raíz se utiliza en tratamientos contra enfermedades de transmisión sexual como gonorrea y también en leucorreas y en hemorragias postparto (7,11-15).

El extracto acuoso de la raíz posee actividad hipotensora y antisecretora gástrica en ratas; en el ratón muestra actividad depresiva del sistema nerviosos central. Los extractos acuoso y

clorofórmico de las semillas tiene actividad hipoglicemiante. El alto contenido de vitamina A podría explicar su acción sobre diversas afecciones de la piel y quemaduras (16).

#### 3.2.1.4 Otros usos

La población utiliza la semilla como colorante de las comidas. Los indígenas se pintaban el cuerpo con achiote durante los ritos y como repelente de insectos (7,8,14,17).

#### 3.2.1.5.1 Estudios farmacológicos

El extracto acuoso de la raíz administrado en ratas a dosis de 50 g/kg produce hipoglicemia. El extracto de la raíz con n-hexano tiene esta misma actividad al administrarse glucagón, no así si previamente las ratas son tratadas con aloxano (22,23).

#### 3.2.1.5.2 Estudios de actividad antimicrobiana

Las ramas tienen propiedades antimicrobianas contra *Staphylococcus aureus* y *Clostridium botulinum* (18,19).

La infusión de la hoja presentó acción inhibitoria *in vitro* contra *Trichomonas vaginalis* y el extracto etanólico de la hoja presentó actividad contra *Neisseria gonorrhoeae* (20,21).

La maceración etanólica de la raíz posee actividad contra *Salmonella typhi*, no así contra *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella dysenteriae* y *Shigella flexneri* (15).

#### 3.2.1.6 Composición química

El extracto acuoso de la pulpa roja de la semilla contiene 1,000-2,000 UI de vitamina A por gramo, proteínas, beta caroteno y otros carotenoides, entre los cuáles los más abundantes son la bixina y la norbixina. El tamizaje fitoquímico indica la presencia de aminas, flavonoides, leucoantocianinas, triterpenos y taninos (8,11,12).

### 3.2.2 *Wigandia urens* var. *caracasana* HBK

Pertenece a la familia *Hydrophyllaceae* y es conocida comúnmente como chocón o tabaco bobo.

#### 3.2.2.1 Descripción de la planta

Arbusto o pequeño árbol de 2 a 5 m. de altura, con un tallo suave leñoso o herbáceo y ramas densamente cubiertas por pelusa suave, generalmente blanquecina. Las hojas son alternas, de forma ovalada, dentadas en la base, haz áspero y envez con pelusa blanca, miden

frecuentemente 50 cm de largo y 35 cm de ancho. Las flores son de color púrpura, de 1 a 2 cm de largo y de 3 cm de ancho, con 5 estambres prominentes (8,24).

#### 3.2.2.2 Origen y distribución

Crece como matorral en la zona central y sur de México, Centro América, Panamá, Colombia y Venezuela. En Guatemala es frecuente encontrarla en los departamentos de Huehuetenango, San Marcos, Quetzaltenango, Totonicapán, Sololá, Chimaltenango, Sacatepéquez, Alta Verapaz, Santa Rosa y en la ciudad capital (8,25).

#### 3.2.2.3 Usos

En Guatemala se usa la infusión de las hojas y las flores para detener la diarrea, contra las afecciones nerviosas y la tos ferina. En Venezuela es utilizada para los casos de retención de orina y para controlar la diarrea. En México la usan para el tratamiento de trastornos estomacales (8,24,26,27).

#### 3.2.2.4 Estudios de actividad antimicrobiana

Se comprobó que los extractos etanólicos y cetónicos inhibieron el crecimiento de la cepa de *S. typhi* y *Streptococcus pyogenes*, y los extractos con disolventes como etanol, acetona y n-hexano inhibieron el crecimiento de *Streptococcus pneumoniae*; la concentración inhibitoria mínima en disco fue de 1.25 mg para *S. pyogenes* y *S. pneumoniae*, y de 5 mg para *S. typhi*. El extracto de las hojas no presentó acción antibacteriana *in vitro* contra *Candida albicans* (28,29).

#### 3.2.2.5 Composición química

No se conocen estudios fitoquímicos sobre esta planta.

### 3.3 Descripción de los microorganismos en estudio

#### 3.3.1 Enfermedades de la piel

En Guatemala, las infecciones de la piel constituyen un problema de salud en la población, principalmente en los niños del área rural debido a factores climatológicos, socioeconómicos y culturales que favorecen el desarrollo de éstas infecciones (30).

La piel puede ser afectada por una gran variedad de microorganismos como bacterias, levaduras y hongos. Las infecciones producidas por bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* y *S. aureus* varían en su gravedad desde las apenas detectables hasta aquellas que ponen en peligro la vida. Algunos microorganismos infectan la piel directamente, mientras que otros

necesitan que existan traumatismos para poder infectar. Las consecuencias de la infección dependerán del tipo de microorganismo, de las características del hospedero y de la eficacia del tratamiento. Las infecciones producidas por levaduras son causadas por condiciones que dan como resultado la maceración crónica de las áreas afectadas, cambios fisiológicos en el hospedero o un estado inmune comprometido. Las infecciones producidas por hongos dermatofitos son muy frecuentes; existen tres géneros principales (*Microsporium*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*) a los que sus características queratinofílicas les permiten parasitar la piel, pelo y uñas, causando enfermedades conocidas como dermatofitosis o tineas (30,31).

#### 3.3.1.1 *Pseudomonas aeruginosa*

La especie del género *Pseudomonas* más frecuentemente asociada con enfermedad humana es *P. aeruginosa*, que es un bacilo Gram negativo de 0.5 a 1.0  $\mu\text{m}$  por 3.0 a 4.0  $\mu\text{m}$ . Habitualmente posee un único flagelo polar, pero ocasionalmente pueden encontrarse dos o tres flagelos (30).

*P. aeruginosa* es un microorganismo extremadamente adaptable que puede utilizar más de 80 compuestos orgánicos diferentes para su crecimiento y el amoníaco puede servir como fuente de nitrógeno. Puede crecer en los medios utilizados para el aislamiento de enterobacterias y su capacidad para tolerar condiciones alcalinas también le permite crecer en medios para aislamiento de vibriones. Aunque se trata de un microorganismo aerobio puede utilizar nitrato y arginina como aceptores de electrones y crecer en forma anaerobia. La temperatura óptima para el crecimiento es de 35 °C, pero puede crecer a 42 °C (30).

Es la única especie del género *Pseudomonas* que produce el pigmento piocianina, el cuál es soluble en cloroformo, aunque un cierto número de cepas de esta especie no producen este pigmento. El empleo de medios especializados (agar *Pseudomonas* P) incrementa la producción de pigmento. Además de la piocianina también se produce un cierto número de pigmentos fluorescentes solubles en agua (30).

##### 3.3.1.1.1 Significado clínico

Las infecciones por *P. aeruginosa* se producen en individuos cuyo sistema inmunitario está alterado. Estos incluyen pacientes con quemaduras, personas con enfermedades malignas o metabólicas o aquellos que han sido sometidos a instrumentación o manipulación. El tratamiento prolongado con drogas inmunosupresoras o antimicrobianos y la radioterapia también predisponen a las infecciones por *Pseudomonas* (30).

*P. aeruginosa* puede infectar casi cualquier tejido o sitio del cuerpo; las lesiones localizadas se producen en el sitio de quemaduras o heridas, en el tejido corneal, vías urinarias o pulmones (30).

#### 3.3.1.1.2 Tratamiento

Muchos agentes antimicrobianos son inefectivos para el tratamiento de infecciones por *P. aeruginosa*. La prevención de la colonización y control de la enfermedad primaria son los principales factores en la sobrevivencia de los pacientes con infecciones por *P. aeruginosa*. La mayoría de cepas son susceptibles a los antibióticos amikacina, gentamicina, tobramicina y colistina (30,32).

#### 3.3.1.2 *Staphylococcus aureus*

Es un coco Gram positivo, inmóvil, que no forma esporas y no posee cápsula; suele agruparse en pares, tétradas, cadenas cortas, y en racimos. Las cepas patógenas suelen ser coagulasa y catalasa positivo, hemolíticas y fermentar el manitol (30).

La virulencia de *S. aureus* se debe en gran parte a su capacidad de resistir o sobrevivir a la fagocitosis. La toxina alfa de *S. aureus* tiene diversas propiedades que aumentan su virulencia. Esta proteína mata las células fagocíticas, constriñe los músculos lisos, paraliza las paredes de los vasos sanguíneos, es dermonecrotica y en dosis suficiente mata a los animales de experimentación (30).

##### 3.3.1.2.1 Significado clínico

El factor más importante para que *S. aureus* produzca enfermedad puede ser la disminución de las defensas del hospedero. El recién nacido es rápidamente colonizado por este microorganismo y las infecciones estafilocócicas son frecuentes durante la infancia y la pubertad (30).

##### 3.3.1.2.2 Tratamiento

En las infecciones estafilocócicas localizadas el principio básico del tratamiento es el drenaje adecuado y la extracción de los cuerpos extraños del sitio de infección.

Las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos son importantes en la selección del antibiótico apropiado y en la evaluación de su efectividad durante el curso de la infección. La eritromicina y la novobiocina son los antibióticos de elección (30).

Las enfermedades estafilocócicas serias, como bacteremia, neumonía, endocarditis y osteomielitis, requieren de la rápida administración de grandes dosis de antibióticos durante un período prolongado y debe comenzarse con un antibiótico penicilinasa resistente, como meticilina, oxacilina o cefalotina (30).

### 3.3.1.3 *Candida albicans*

Forma parte de la microbiota normal de la piel, mucosas y tracto gastrointestinal. Es capaz de producir levaduras, pseudohifas e hifas verdaderas. Como parte de la microbiota normal, el microorganismo crece como una levadura con brotes; las hifas se producen sólo durante la invasión de tejidos. No se conoce con certeza la regulación de la morfogénesis de *C. albicans*; la producción de hifas *in vitro* de *C. albicans* se logra luego de incubar durante 90 minutos en suero a 37°C. Esta reacción se manifiesta por la aparición de un tubo germinal, el cuál es un apéndice elongado que crece hacia afuera y tiene aproximadamente la mitad del ancho y el doble del largo de la célula levaduriforme (30).

*C. albicans* se caracteriza por formar clamidosporas en medios deficientes de substratos rápidamente metabolizables (33).

#### 3.3.1.3.1 Significado clínico

Aunque el epitelio adulto intacto normalmente es impermeable a la invasión por *C. albicans*, ciertas condiciones aumentan la oportunidad para una candidosis superficial. Cuálquier traumatismo, abrasión o desgarre en la integridad epitelial de la piel o intestino proporciona una oportunidad para que *C. albicans* invada el tejido cutáneo, mucoso o subcutáneo. La humedad, la temperatura y la fricción, incrementan el número de levaduras en la piel (30).

Ciertos cambios fisiológicos en individuos sanos, proporcionan el medio para una candidosis oportunista. Habitualmente los niños desarrollan aftas bucales, infecciones perianales y genitales, gastroenteritis con diarrea severa, o dermatitis de pañal prolongada y dolorosa. Muchas discrasias sanguíneas predisponen a candidosis sistémica, así como en caso de inmunodeficiencia celular o en menor grado humoral. Las alteraciones endocrinas como diabetes mellitus, hipoparatiroidismo y la enfermedad de Addison dan como resultado, una mayor predisposición a la candidosis (34).

Los pacientes tratados con inmunosupresores, como adyuvante de trasplante o tratamiento anticáncer, disminuyen la resistencia a *C. albicans* (34).

#### 3.3.1.3.2 Tratamiento

La candidosis cutánea puede tratarse con antimicóticos (nistatina, miconazol) o soluciones químicas (violeta de genciana) de uso tópicos. Para candidosis sistémica se utiliza anfotericina B o 5 fluorocitosina (36).

#### 3.3.1.4 *Mycrosporium gypseum*

Es un hongo geofílico, que se aísla frecuentemente de animales y es de distribución mundial (31).

Al examen directo con hidróxido de potasio al 10%, se observan pequeñas esporas. En cultivo la colonia es de color canela, de aspecto pulverulento y superficie áspera; en el reverso es de color tostado claro (36,37).

Es una colonia de crecimiento rápido (una semana); su identificación microscópica se basa en la observación de macroconidias en cadena de pared delgada, rugosa, elípticas y multitabicadas (de 4 a 6 tabiques). Las microconidias son escasas o ausentes (36,37).

##### 3.3.1.4.1 Significado clínico

Es el causante principal de la infección llamada tinea capitis, la cuál presenta invasión endothrix en el pelo, con pápulas eritematosas alrededor, alopecia severa e inflamada, con la formación de erupciones ulcerosas llamadas "kerion" (37).

Las especies del género *Microsporium* atacan solamente la piel y el pelo; la infección humana es causada por el contacto con perros u otros animales (37).

En Guatemala, este hongo ocupa el quinto lugar de frecuencia entre las micosis cutáneas según su etiología como causante de tinea, pero es el más frecuente de las especies del género *Microsporium* (38).

#### 3.3.1.5 *Trichophyton rubrum*

Por su habitat es un hongo antropofílico, difundido por todo el mundo (38). Al examen directo con hidróxido de potasio al 10%, se observan conidias, las cuáles forman una vaina o cadenas aisladas en la superficie. En cultivo la morfología de la colonia es aplanada o elevada, de color blanco, concéntrico y presenta en su mayoría una pigmentación roja oscura en el reverso (36,37).

Es una colonia de crecimiento lento (dos semanas), su identificación microscópica se basa en la observación de microconidias piriformes y rara vez macroconidias variables; las microconidias son alargadas en forma de una lágrima y casi siempre nacen a los lados de las hifas que son lisas, de paredes finas y de extremos redondeados sin pecólos (37).

Al realizar cultivos en lámina presenta un micelio fino, las microconidias alternas, dando la apariencia de focos de navidad; las macroconidias tienen forma de salchicha (la cuál es redondeada en sus bordes) y contienen de tres a ocho tabiques (38).

#### 3.3.1.5.1 Significado clínico

Es el causante de las infecciones que se presentan con mayor frecuencia: tinea pedis, tinea corporis y onicomycosis; rara vez invade el pelo, pero cuando lo hace causa una invasión ectothrix con pápulas escamosas, eritematosas y vesículas granulomatosas (37).

En Guatemala ocupa el primer lugar de frecuencia entre las micosis cutáneas según su etiología como causante de tinea (38).

#### 3.3.1.6 *Epidermophyton floccosum*

Por su habitat es un hongo antropofílico difundido por todo el mundo, especialmente en las regiones húmedas y cálidas (37). Al examen directo con hidróxido de potasio al 10%, se observan finos filamentos ramificados, que forman cadenas delgadas en las lesiones más recientes. En cultivo, la morfología de la colonia es de color amarillo verdosa, con un centro en forma de penacho blanquecino, micelio fino, delgado; el reverso de la colonia es de color castaño amarillento y se observan pliegues (36,37).

Es de crecimiento rápido (una semana), su identificación microscópica se basa en la observación de macroconidias grandes de pared lisa, multitabizada, en forma de clava, aisladas o en grupos de dos o tres, no presenta microconidias y además forma clamidosporas (36).

#### 3.3.1.6.1 Significado clínico

Se ha aislado de humanos como causante principal de las infecciones tinea cruris y tinea pedis, la cuál se desarrolla sólo en la epidermis y a menudo en las áreas interdigitales de la región inguinal y las de los pies respectivamente (38).

En Guatemala ocupa el cuarto lugar de frecuencia entre las micosis cutáneas, según etiología como causante de tinea (38).

### 3.3.1.7 Tratamiento de micosis cutáneas

#### 3.3.1.7.1 Tratamiento tópico no antimicótico

Existen sustancias dermatológicas que son inertes y que pertenecen a los grupos de silicatos de origen mineral como el aluminio hidratado, kaolín, bentonita, compuestos insolubles en cinc y compuestos orgánicos, como el almidón el trigo o el maíz (39).

#### 3.3.1.7.2 Tratamiento antimicótico

Los antimicóticos se clasifican en naturales y sintéticos, poseen acción fungicida y/o fungistática (39).

##### 3.3.1.7.2.1 Naturales

La griseofulvina es un ejemplo de ellos; su espectro de acción es reducido en las micosis superficiales pero en las cutáneas es efectivo, especialmente en la onicomicosis. Inhibe a los géneros *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton* (39).

##### 3.3.1.7.2.2 Sintéticos

Los compuestos ácidos y sales de ácidos grasos, como el ácido propiónico saturado y sus sales de sodio y zinc, son fungistáticos y fungicidas para los géneros *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton* y en menor actividad contra *C. albicans* (39).

Los compuestos de azufre, como los benzotiazoles y tiocarbamilos poseen actividad fungistática *in vitro* contra *Microsporum* y *Trichophyton* (39). También son efectivos para el tratamiento de dermatofitosis sustancias fungicidas como el ácido benzoico, ácido salicílico y clotrimazol (canestén, miconazole) (39).

### 3.3.2 Enfermedades gastrointestinales

En Guatemala las infecciones gastrointestinales constituyen la principal causa de morbimortalidad, sobre todo en la población infantil en la cuál alrededor del 60 al 70% de los niños con diarrea muere a causa de la deshidratación (40,41).

Los principales agentes causales de infecciones gastrointestinales son: enterovirus y rotavirus, además juegan un papel importante las enterobacterias (*Salmonella* sp. *Shigella* sp. y *E. coli* enteropatógena) y parásitos (helminths y protozoos) (40,41).

### 3.3.2.1 *Escherichia coli* enteropatógena

Las cepas de *E. coli* que causan diarrea en el hombre están agrupadas actualmente en cuatro categorías principales; dentro de ellas se tiene la cepa enterotoxigénica, que causa la diarrea del viajero y diarrea en niños de países de menor desarrollo, la cepa enteroinvasiva que es causante de disentería, la cepa enteropatógena que ocasiona la diarrea infantil y la cepa enterohemorrágica que produce colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Estas categorías difieren en su epidemiología, patogénesis y en sus serotipos O:H. Una quinta categoría menos definida es *E. coli* enteroadherente, hasta ahora identificable sólo por su patrón de adherencia a las células Hep-2 en cultivos tisulares (42).

#### 3.3.2.1.1 Significado clínico

Clínicamente la enfermedad provocada por *E. coli* enteropatógena se caracteriza por fiebre, malestar general, vómitos y diarrea con gran cantidad de moco, pero sin trazas de sangre y tiende a ser más severa que muchas otras infecciones diarreicas en infantes, desarrollando cuadros de diarrea que persisten por más de 14 días. El mecanismo a través del cuál provoca la diarrea es desconocido hasta el momento. Se considera a esta cepa como una causa esporádica de diarrea en niños menores de un año y responsable de brotes de diarrea observados en salas de hospitales de recién nacidos (41,42).

#### 3.3.2.1.2 Tratamiento

Las cepas de *E. coli* aisladas de infecciones adquiridas en comunidad habitualmente son susceptibles a la mayoría de los antimicrobianos utilizados en el tratamiento de infecciones por microorganismos Gram negativo. Sin embargo, aparecen formas resistentes, especialmente en pacientes con antecedentes de tratamiento antibiótico previo. El mejor tratamiento para la diarrea parece ser la normalización del equilibrio hidroelectrolítico (43).

En la infección por *E. coli* en niños de corta edad se utiliza la administración oral de colistina, gentamicina y kanamicina, aunque se han detectado microorganismos resistentes a estos fármacos (43).

### 3.3.2.2 *Salmonella typhi*

Existen un gran número de serotipos y variantes que son potencialmente patógenos para animales y el hombre. Recientemente el género *Salmonella* ha sido clasificado en tres especies primarias: *S. typhi*, *S. choleraesuis* y *S. enteritidis*. Las dos primeras especies tienen sólo un serotipo cada una, mientras que *S. enteritidis* posee aproximadamente 1700 serotipos (30).

Este género causa un amplio rango de enfermedades entéricas humanas, desde una gastroenteritis autolimitada con síntomas leves de corta duración, hasta una gastroenteritis severa con o sin bacteremia, incluyendo la fiebre tifoidea, la cuál es una enfermedad severa, debilitante y de alto riesgo, causada por *S. typhi* (44).

#### 3.3.2.2.1 Significado clínico

La fiebre tifoidea es la más severa y prototípica de las fiebres entéricas. El hombre es el único hospedero conocido de *S. typhi* y la transmisión ocurre por alimentos o aguas contaminadas por individuos enfermos o portadores. El inicio de la enfermedad es insidiosa, tras un período de incubación de siete a catorce días, con malestar, anorexia y cefalea, seguida de fiebre. En cuanto a la presencia de diarrea existe controversia al respecto, ya que algunos afirman que por lo general no existe y otros que se manifiesta en aproximadamente el 50% de los casos (44).

#### 3.3.2.2.2 Tratamiento

En casos de fiebre entérica o septicemia, como la fiebre tifoidea, la ampicilina o el cloranfenicol son las drogas de elección; sin embargo, en 1972 una epidemia en México fue causada por una cepa de *S. typhi* resistente al cloranfenicol. También se observó resistencia a ampicilina en algunos microorganismos aislados (30).

En varios estudios realizados en diferentes países se observó que los niveles de resistencia para el cloranfenicol son bajos, por lo que se tiene como antibiótico de primera elección (30).

#### 3.3.2.3 *Shigella* sp

El género *Shigella* se divide en cuatro grupos específico: A, B, C y D, que corresponden a *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* y *S. sonnei* respectivamente. Estos grupos se dividen a su vez, sobre bases serológicas, en varios tipos y subtipos, existiendo alrededor de 30 serotipos del género *Shigella*. Sin embargo, los serotipos predominantes en la mayoría de las áreas exográficas son dos o tres tipos de *S. flexneri* y *S. sonnei*. Por otro lado, *S. dysenteriae* no causa una proporción importante de casos en áreas endémicas, pero puede ser responsable de epidemias de gran magnitud, como el caso de la epidemia en Guatemala en el año de 1969, que se extendió a El Salvador y Honduras en el mismo año y a Nicaragua en 1970 (43,45).

En los países con malas condiciones de saneamiento ambiental y prácticas higiénicas pobres, la shigelosis es usualmente endémica, siendo una causa importante de la morbimortalidad en ellos. También es endémica en instituciones caracterizadas por el

hacinamiento y las malas prácticas higiénicas, siendo ésta la situación epidemiológica más común en los países desarrollados (43).

#### 3.3.2.3.1 Significado clínico

En sus formas clínicas más leves la infección por organismos del género *Shigella* se manifiesta por deposiciones líquidas, fiebre baja, malestar general y cólicos. Los casos más graves de shigelosis se manifiestan mediante fiebre alta, toxemia, cólicos abdominales intensos, tenesmo y disentería, que en general es precedida por un período de deposiciones líquidas (43).

#### 3.3.2.3.2 Tratamiento

Generalmente las bacterias del género *Shigella* son susceptibles a la ampicilina, tetraciclina, estreptomycin, sulfamida, kanamicina, cloranfenicol, ácido nalidíxico y colistina; sin embargo, las cepas resistentes aparecen con rapidez, por lo que se hace necesario determinar el patrón de susceptibilidad del microorganismo. En la actualidad el trimetoprim-sulfametoxazole se considera el fármaco de elección (30).

#### 3.3.3 Enfermedades respiratorias

En Guatemala las infecciones respiratorias son la segunda causa de muerte; los agentes patógenos más importantes de infecciones agudas son los virus. Las infecciones virales son factores predisponentes para infecciones bacterianas, las cuáles ocurren a menudo durante el período de incubación (46-48).

Las infecciones respiratorias agudas constituyen un grupo de condiciones que incluye influenza, sinusitis, otitis media aguda, nasofaringitis, laringitis, bronquitis aguda, neumonía, etc. (46,47).

Los factores que influyen estas infecciones son múltiples e incluyen la virulencia del microorganismo, nutrición inadecuada, ambiente contaminado y hacinamiento (46,47).

El hongo *Aspergillus flavus* es uno de los microorganismos patógenos ocupacionales más comunes para el hombre. Ciertos factores del hospedero claramente predisponen a algunos individuos a una aspergilosis broncopulmonar especialmente en pacientes inmunocomprometidos o que presenten alguna alteración del sistema inmunitario debido a cáncer, leucemia o al tratamiento médico utilizado para combatir estas enfermedades (49).

### 3.3.3.1 *Streptococcus pyogenes*

*S. pyogenes* o estreptococo beta hemolítico del grupo "A" de Lancefield, es una bacteria de forma cocoide, Gram positivo, agrupada predominantemente en cadenas largas (30). Este microorganismo es anaerobio facultativo, su metabolismo es fermentativo y el principal producto del mismo es el ácido láctico. Es catalasa negativo y oxidasa negativo. Su crecimiento es óptimo con un pH de 7.4 a 7.6 y a una temperatura de 37°C (30).

#### 3.3.3.1.2 Significado clínico

*S. pyogenes* es una causa común de faringitis aguda en el tracto respiratorio superior; con frecuencia presenta complicaciones, ocasionando lesiones supurativas en órganos cercanos, como adenitis cervical, otitis media, mastoiditis, abscesos periamigdalinos y neumonía. La infección debida a *S. pyogenes* puede ocasionar secuelas graves como fiebre reumática y glomerulonefritis aguda (46).

#### 3.3.3.1.2 Tratamiento

*S. pyogenes* es universalmente susceptible a la penicilina G; en caso de que el paciente sea alérgico a la penicilina el tratamiento de elección puede ser eritromicina o tetraciclina; sin embargo, de 3 a 5% de las cepas son resistentes a estos antibióticos (30).

### 3.3.3.2 *Aspergillus flavus*

Es un hongo de naturaleza ubéca y es un contaminante frecuente del laboratorio. Crecen rápidamente en muchos sustratos naturales y medios de cultivo de laboratorio. El abundante micelio aéreo se hace pulverulento y pigmentado a medida que producen conidias de color amarillo o verde; el conidióforo mide aproximadamente 1 mm y presenta una o dos esterigmas (30,49,50).

#### 3.3.3.2.1 Significado clínico

La inhalación de esporas o fragmentos miceliales de *A. flavus* puede provocar, en ciertos individuos, una respuesta de hipersensibilidad inmediata sin invasión del cuerpo; en ocasiones se observan infecciones clínicas como aspergilosis broncopulmonar, especialmente en pacientes que reciben hormonas esteroideas o antibióticos, en los que sufren enfermedades debilitantes y en individuos expuestos a cereales o a otras sustancias intensamente contaminadas por las esporas del *Aspergillus* (50).

En otros pacientes la aspergilosis se caracteriza por una colonización no invasiva de tejido expuesto, como la cavidad pulmonar, conducto auditivo externo o córnea. Ciertos metabolitos secundarios producidos por especies de *Aspergillus* son tóxicos y carcinógenos (49).

#### 3.3.3.2.2 Tratamiento

Las formas alérgicas de aspergilosis se han tratado con corticosteroides y tratamiento antimicótico. El tratamiento del aspergiloma varía considerablemente según su severidad. Se ha aconsejado el uso de anfotericina B y 5-fluorocitosina. La aspergilosis superficial localizada se trata con nistatina (30,50).

#### 3.4 Demostración de la actividad antimicrobiana *in vitro*

Para el estudio de la acción antibacteriana en plantas medicinales se han utilizado métodos de dilución y difusión. Han surgido algunos problemas a causa de la diversidad de criterios, técnicas y propiedades lipofílicas de algunas muestras, por lo que se han realizado algunas modificaciones a los métodos iniciales (51).

Hasta el momento no existe un método estandarizado para expresar los resultados del tamizaje antimicrobiano; algunos autores utilizan el diámetro de los halos de inhibición y/o la cantidad mínima del extracto que inhibe el crecimiento del microorganismo (51).

Los métodos se clasifican en tres grupos: dilución, difusión y bioautográficos. Todos estos métodos se ven influenciados por factores como volumen del inóculo, método de extracción, composición del medio de cultivo y temperatura de incubación (51).

Los métodos de difusión se realizan en la superficie del agar, utilizan un disco, agujero, o un cilindro como reservorio y la muestra no requiere una dispersión en agua. El reservorio contiene la muestra a ser probada (antibiótico) y es puesto en contacto con el medio inoculado con la bacteria y luego de la incubación se mide el diámetro del halo de inhibición (51).

Los métodos de dilución requieren una dispersión homogénea de la muestra en agua. Se usan para determinar principalmente los valores de la CIM de extractos, aceites o sustancia pura. En la dilución líquida la turbidez se toma como indicador de densidad bacteriana, el grado de inhibición está relacionado con la turbidez del medio y se mide con un espectrofotómetro. Si se usa la dilución en agar, una cantidad determinada de la sustancia se mezcla con el agar, se deja endurecer y se agrega el microorganismo; si no hay crecimiento, la sustancia tiene actividad antimicrobiana (51).

Actualmente se está utilizando un nuevo método de estrías en dilución de agar utilizado por Mitscher y colaboradores para determinar la actividad antimicrobiana. (52). Los métodos bioautográficos se basan en la técnica de difusión en agar; en éstos métodos, el compuesto antibacteriano se transfiere de una capa de cromatografía a una caja de agar inoculado, las zonas de inhibición se visualizan por reactivos que detectan la actividad de deshidrogenasa. La ventaja principal es que se tiene una buena indicación sobre la naturaleza química del principio activo (51).

#### 4. JUSTIFICACIONES

Como consecuencia del clima tropical y de la fertilidad de sus suelos, Guatemala posee una amplia variedad de flora de la cuál sólo una pequeña parte se ha estudiado desde el punto de vista de la bioactividad. Debe considerarse que el clima tropical aunado a factores socioeconómicos y culturales predisponen a la población guatemalteca a una serie de infecciones respiratorias, gastrointestinales y de la piel, por lo que es importante encontrar tratamientos alternativos accesibles y confiables, tales como utilizar plantas medicinales.

El achiote es una de las plantas de América tropical que ha sido cultivada por muchos años; se produce tanto en latitudes altas como bajas, crece en forma silvestre en muchas áreas tropicales, en algunas de las cuáles se aprovecha para fines comerciales para la producción industrial de colorantes, pero no ha sido estudiada en forma adecuada por sus propiedades medicinales como antimicrobiano. Por este motivo es necesario evaluar con mayor profundidad su acción antimicrobiana, determinando el mejor órgano para el máximo aprovechamiento de las partes de la planta. El chocón es un arbusto que crece en forma silvestre, del cuál se pretende confirmar la posible acción curativa que se le atribuye en nuestra medicina popular para determinados tipos de enfermedades infecciosas para contribuir a disponer de medicamentos efectivos de administración sencilla y de bajo precio.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo General

5.1.1 Validar científicamente la actividad antimicrobiana de plantas a las cuáles se les atribuye popularmente propiedades curativas.

### 5.2 Objetivos Específicos

5.2.1 Determinar en qué órgano de *Bixa orellana* (achiote) y *Wigandia urens* var. *caracasana* (chocón) se encuentra la mayor actividad antimicrobiana *in vitro* contra siete cepas de bacterias y cuatro cepas de hongos.

5.2.2 Determinar el disolvente más adecuado para la extracción del principio activo en dichas plantas.

5.2.3 Medir la concentración inhibitoria mínima en los extractos vegetales que presenten mejor respuesta de actividad antimicrobiana.

## 6. HIPOTESIS

- 6.1 La mayor actividad antimicrobiana se encuentra en el extracto de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) y *Wigandia urens* var. *caracasana* (chocón).
- 6.2 El agua es el disolvente más adecuado para la extracción de los principios activos de *Bixa orellana* (achiote) y *Wigandia urens* var. *caracasana* (chocón).

## 7. MATERIALES Y METODOS

### 7.1 Universo

Plantas que han mostrado actividad antimicrobiana *in vitro*.

### 7.2 Muestra

7.2.1 Hojas, raíz y flor de *Wigandia urens* var. *caracasana*.

7.2.2 Hojas, raíz, semilla, madera y corteza de *Bixa orellana*.

### 7.3 Recursos

#### 7.3.1 Humanos

Autor: Br. Angélica Lorena Salvador Alvarado

Asesor: Lic. Armando Cáceres Estrada

#### 7.3.2 Materiales

##### 7.3.2.1 Recursos físicos

Laboratorio Depto. de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos FARMAYA.

##### 7.3.2.2 Cepas de seis bacterias

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena	ATCC 9637
<i>Salmonella typhi</i>	INCAP ST-001
<i>Shigella flexneri</i>	INCAP 706608
<i>Streptococcus pyogenes</i>	INCAP-90809

##### 7.3.2.3 Cepas de cinco hongos

<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Aspergillus flavus</i>	A-75 CCQQ
<i>Epidermophyton floccosum</i>	761 IGSS
<i>Microsporum gypseum</i>	M-71 CCQQ
<i>Trichophyton rubrum</i>	T-3.5 CCQQ

#### 7.3.2.4 Disolventes

Etanol al 50%

Etanol al 95%

Diclorometano Nanogrado 3023

Dimetil sulfóxido

Agua destilada

#### 7.3.2.5 Medios de cultivo

Agar Muller Hinton

Agar Tripticasa Soya

Caldo Tripticasa Soya

Agar Sabouraud

Agar Sabouraud Takashio

Agar Sangre de carnero al 5%

#### 7.3.2.6 Equipo y cristalería

Balanza analítica

Autoclave

Refrigerador

Incubadora

Mechero

Campana microbiológica

Unidad de filtración con bomba de vacío

Vortex o mezclador

Rotavapor

Papel filtro Whatman No. 1

Filtros Millipore 0.45 mm

Soporte con anillo de Gravesande

Tubos con tapón de rosca 10 por 150 mm

Pipetas serológicas de 10 ml y 5 ml en 1/10,

Probeta graduada de 50 ml y 100 ml

Erlenmeyer de 250 ml y 500 ml

Embudo de vástago corto

Cajas de Petri de 100 mm por 15 mm

Algodón

Gradilla para 24 tubos

Asa de nicromo calibrada  
Frascos color ámbar de 3 onzas fluidas  
Agitadores de vidrio  
Botella de vidrio oscuro, de 250 ml  
Estufa eléctrica  
Micropipetas de 5-40 ul, 40-200 ul y 1000 ul.

#### 7.4 Procedimiento

##### 7.4.1 Selección de plantas

Plantas que han presentado alguna acción antibacteriana *in vitro* en trabajos anteriores.

##### 7.4.2 Recolección y clasificación

Las plantas fueron recolectadas en los departamentos de Guatemala y Suchitepéquez, posteriormente clasificadas en el Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos Farmaya .

##### 7.4.3 Preparación de las plantas

Se colocaron las partes de las plantas en secadores solares especiales para el proceso durante 8 días a una temperatura aproximada de 40°C; posteriormente se picaron en pedazos pequeños y molieron hasta alcanzar estructuras de igual tamaño. Se almacenaron en bolsas plásticas selladas.

##### 7.4.4 Obtención de las tinturas vegetales

Para la obtención de la tintura vegetal se utilizó 10 g de materia vegetal y se mezcló con 100 ml de etanol al 50% durante tres días y después se filtró con membranas de papel filtro Whatman No. 1.

##### 7.4.5 Ensayo de la actividad antimicrobiana (tamizaje)

###### 7.4.5.1 Preparación del medio (Método de Mitscher et al, 1972) para bacterias y levaduras (52).

Se preparó 9 ml de agar Muller Hinton y se le agregó 1 ml del extracto vegetal de cada planta (dilución 1:10) y se vertió en una caja de Petri para su confrontación microbiana. Para comprobar que el medio este libre de contaminación, se incubó a 35°C durante 24 hrs y se observó el crecimiento bacteriano, las cajas libres de contaminación se almacenaron a 4°C en bolsas plásticas hasta su utilización.

#### 7.4.5.1.1 Preparación del inóculo

Se purificó el microorganismo a ensayar se inoculó en un tubo con 8 ml de agar Tripticasa Soya inclinado, se incubó a 35°C durante 24 hrs (para bacterias) y 48 hrs (para levaduras). Se inoculó una asada del cultivo puro microbiano en un tubo con 5 ml de Caldo Tripticasa Soya, se incubó a 35°C durante 24 hrs; en el caso de bacterias diluir 0.1 ml de la suspensión en 10 ml de agua destilada estéril (ADE) y para las levaduras se incubó durante 48 horas y luego se agregó 1 ml de la suspensión en 10 ml de ADE.

#### 7.4.5.1.2 Demostración de la actividad antibacteriana

Se inoculó en las cajas con extracto crudo una asada de cada uno de los microorganismos siguiendo un patrón de ocho partes iguales con una zona clara en el centro de la caja, se dejó reposar durante 5 a 10 min y se incubó a 35°C durante 24 hrs.

#### 7.4.5.1.3 Interpretación de resultados

Se observó la aparición de un crecimiento homogéneo en las zonas de inoculación y se interpretó de la siguiente forma:

Si hay crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo, (- = negativo) actividad negativa.

Si hay alteraciones morfológicas, (parcial = P)

Si hay crecimiento de algunas colonias a lo largo del inóculo, (resistencia = R)

Presencia de microorganismos fuera de la inoculación, (contaminación = C).

Si no hay crecimiento (+ = positivo) actividad positiva.

#### 7.4.5.2 Preparación del agar-planta para hongos, técnica de MacRae et al (53).

Se prepararon tubos con tapón de rosca conteniendo 13.5 ml del medio Sabouraud estéril; estando aún líquido, aproximadamente a 50°C, se agregó 1.5 ml del extracto del órgano a ensayar (dilución 1:10). Se vertió el agar planta en cajas de Petri estériles, se esperó a que solidificaran y posteriormente se almacenaron en refrigeración durante 24 horas.

#### 7.4.5.2.1 Preparación del medio (Método Takashio) para la esporulación de hongos (54)

Se preparó agar Sabouraud modificado según la técnica de Takashio para la mayor producción de esporas, se inocularon los hongos a estudiar y se incubaron a 27°C durante 15 días. Se agregó 3 ml de agua estéril a cada tubo y se raspó con una varilla de vidrio estéril para hacer una suspensión homogénea del hongo; luego se mezcló ésta suspensión con un Vortex durante un minuto.

Se realizó un conteo de esporas en una cámara de Neubauer para llevar a una concentración de 300 esporas/ml. Se almacenó en viales a 4°C hasta su utilización.

#### 7.4.5.2.2 Demostración de la actividad antimicótica

Se perforaron cuatro pocitos en el agar-planta con la boca de una campanilla de Durham de 5 mm de diámetro; se inocularon 30 ul de la suspensión de esporas preparada previamente. De igual manera se preparó la caja con agar Sabouraud para realizar el ensayo de las colonias control (hongos en estudio), luego se incubaron a 27°C durante 24 horas. Posteriormente se les dio vuelta a las cajas de Petri y se incubaron a 27°C durante 15 días.

#### 7.4.5.2.3 Interpretación de resultados

Después de 15 días de incubación, se midieron los diámetros del halo de crecimiento de las colonias alrededor de cada inóculo, se calculó el porcentaje de inhibición comparando el diámetro de crecimiento de las colonias control (hongos en estudio) con el de las colonias en cajas con agar-planta, se tomaron como positivos aquellos órganos de la planta que redujeron el diámetro de la colonia control en un 75%.

#### 7.4.6 Selección del mejor disolvente

Una vez determinado los órganos con mayor actividad antimicrobiana, se obtuvieron extractos con diclorometano, etanólicos y acuosos por medio de una percolación en frío. Para ello se utilizaron 10 g de materia seca vegetal y 100 ml de cada disolvente, se colocó la materia seca vegetal en una botella sin fondo invertida con capacidad de 250 ml, y se le vertieron los disolventes mencionados en el siguiente orden: Primero el diclorometano, luego el etanol al 80% y por último el agua estéril a 80°C. Luego se concentró cada extracto en rotavapor hasta alcanzar una consistencia de miel y finalmente se resuspendió cada extracto en su respectivo disolvente para obtener una dilución 1:10, se almacenaron en frascos color ámbar hasta el momento de la prueba.

Para probar el mejor disolvente, se utilizó el mismo procedimiento empleado para la demostración de actividad antimicrobiana (tamizaje), utilizando los órganos que mostraron mayor actividad.

#### 7.4.7 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mfñima, CIM (52)

En el caso de bacterias y levaduras se ensayaron a diferentes concentraciones (50 mg/ml, 25 mg/ml y 12.5 mg/ml) los extractos de los órganos de las plantas que presentaron mayor actividad antimicrobiana, se confrontaron con cada una de los microorganismos que fueron

inhibidos. En el caso de hongos se confrontaron los extractos que presentaron mayor inhibición con los hongos estudiados en concentraciones de 10 mg/ml y 5 mg/ml).

#### 7.5 Diseño estadístico

El análisis estadístico de los resultados se realizó por medio de un análisis binomial.

Para la realización de la parte experimental se inició con un tamizaje para bacterias y un tamizaje para hongos para determinar el mejor órgano de las dos plantas en estudio. Luego se determinó el mejor disolvente y por último se encontró la concentración inhibitoria mínima del mejor disolvente.

##### 7.5.1 Diseño estadístico para tamizaje de bacterias

Diseño al azar

Para este estudio se realizaron cuatro repeticiones para cada ensayo. Además se usó un alfa de 0.1, la prueba de hipótesis binomial fue:

Ho: La planta no tiene efecto inhibitorio ( $p = 0.5$ )

Ha: La planta si tiene efecto inhibitorio ( $p > 0.5$ )

Ho. se rechazó si la probabilidad de error es menor a  $\alpha = 0.1$

Variable binomial: éxito = inhibición (+)  
fracaso= crecimiento (-)

##### 7.5.2 Diseño estadístico para tamizaje de hongos

Diseño al azar con cuatro repeticiones.

Criterio de clasificación

Si hay inhibición: el diámetro deberá ser menor o igual al 25% del diámetro del control.

No hay inhibición: el diámetro deberá ser mayor o igual al 26% del diámetro del control.

Variable binomial: éxito = inhibición (+)  
fracaso= crecimiento (-)

##### 7.5.3 Diseño estadístico para el mejor disolvente

Se trabajaron tres disolventes y el diseño fue el mismo utilizado en el tamizaje.

##### 7.5.4 Concentración Inhibitoria Mínima, CIM

Se trabajaron los órganos que presentaron mayor actividad a tres concentraciones (5 mg/ml, 2.5 mg/ml y 1.25 mg/ml) para el caso de bacterias y levaduras y para hongos se trabajó con (10 mg/ml y 5 mg/ml). El diseño fue el mismo utilizado en el tamizaje para bacterias y hongos según fuera el caso.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Tamizaje antimicrobiano (bacterias y levaduras)

Para determinar los mejores órganos de la planta, se realizó un tamizaje preliminar con extractos etanólicos (etanol al 50%) de las partes de cada planta confrontándolos contra seis bacterias y una levadura. Se escogieron dos órganos de *B. orellana* la hoja y corteza y dos de *W. urens* var *caracasana* la hoja y flor los cuáles mostraron mayor actividad antibacteriana. El órgano que mostró mayor actividad fue la corteza de *B. orellana* que inhibió a 5 bacterias y una levadura. La bacteria que no fue inhibida fue *S. pyogenes* (Tabla No. 1).

Tabla No. 1  
Tamizaje de la actividad antimicrobiana vegetal de  
*Bixa orellana* y *Wigandia urens* var *caracasana*

ORGANO	BACTERIA/LEVADURA**						
<i>B. orellana</i>	A	B	C	D	E	F	G
hoja	-	+	-	+	+	+	-
corteza	+	+	+	+	+	+	-
madera	-	-	-	-	-	-	-
semilla	-	-	-	-	-	+	-
raíz	-	-	-	-	-	-	-
<i>W. urens</i> var. <i>caracasana</i>							
hoja	-	-	+	+	+	+	-
flor	-	-	+	+	+	+	-
raíz	-	-	-	-	-	-	-
Microorganismos ensayados:	A= <i>E.coli</i> , B= <i>S. flexneri</i> C= <i>S.typhi</i> , D= <i>P. aeruginosa</i> , (+) = Actividad			E= <i>S. aureus</i> , F= <i>C. albicans</i> ,** G= <i>S. pyogenes</i>  (-)= resistencia			

### 8.2 Tamizaje antimicótico

Al igual que el tamizaje antibacteriano los órganos que mostraron actividad fueron: hoja y corteza de *B. orellana* y hoja y flor de *W. urens* var. *caracasana* contra tres dermatofitos y *A. flavus* (Tabla No. 2).

Tabla No. 2  
**Tamizaje de la actividad antimicótica vegetal de  
*Bixa orellana* y *Wigandia urens* var. *caracasana***

ORGANO	HONGO *			
	A	B	C	D
<b><i>B. orellana</i></b>				
hoja	+	+	+	+
corteza	+	+	+	+
madera	-	-	-	-
semilla	-	-	-	-
raíz	-	-	-	-
<b><i>W. urens</i> var. <i>caracasana</i></b>				
hoja	+	+	+	+
flor	+	+	+	+
raíz	-	-	-	-

\* Hongos ensayados: A= *A. flavus*,  
 B= *E. floccosum*,  
 C= *M. gypseum*,  
 D= *T. rubrum*.

Actividad Positiva (+): menor o igual al 25% del diámetro de crecimiento.

### 8.3 Selección del mejor disolvente

Una vez determinados los órganos con mayor actividad antimicrobiana, se obtuvieron extractos de cada órgano con tres disolventes mas, diclorometano, etanol al 80% y agua, para averiguar cuál disolvente extrae el principio activo responsable de la actividad antimicrobiana, se utilizó el mismo procedimiento empleado para el tamizaje.

Las diferentes especies de bacterias variaron en la respuesta a los extractos de los distintos órganos de las plantas ensayadas. Los extractos acuosos mostraron actividad sólo en el ensayo antibacteriano (corteza de *B. orellana* y hoja de *W. urens* var. *caracasana*) y ningún efecto en el ensayo antimicótico.

El extracto de diclorometano sólo mostró acción contra *S. aureus*. (flor de *Wigandia urens* var. *caracasana*) (Tabla No. 3).

**Tabla No. 3**  
**Confirmación de la Actividad Antimicrobiana Vegetal de**  
***Bixa orellana* y de *Wigandia urens* var. *caracasana***

ORGANO	BACTERIA*/LEVADURA**						
<i>B. orellana</i>	A	B	C	D	E	F	G
Hoja							
Etanol al 80%	-	+	-	+	+	-	-
Extracto acuoso	-	-	-	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-	-	-	-
Corteza							
Etanol al 80%	+	+	-	+	+	+	-
Extracto acuoso	+	+	-	+	+	-	-
Diclorometano	-	-	-	-	-	-	-
<hr/>							
<b><i>W. urens</i> var. <i>caracasana</i></b>							
Hoja							
Etanol 80%	+	+	-	+	+	-	-
Extracto acuoso	+	+	-	+	+	-	-
Diclorometano	-	-	-	-	-	-	-
Flor							
Etanol 80%	-	+	-	+	+	-	-
Extracto acuoso	-	-	-	-	+	-	-
Diclorometano	-	-	-	-	+	-	-

\*Microorganismo ensayadas: A= *E. coli*, E= *S. aureus*  
 B= *S. flexneri*, F= *C. albicans*\*\*  
 C= *S. typhi*, G= *S. pyogenes*  
 D= *P. aeruginosa*  
 (+)= actividad (-)= resistencia

Los extractos que mostraron mayor acción antimicrobiana fueron los etanólicos al 50%, seguidos de extractos etanólicos al 80% (Tabla No. 3 y No. 4).

**TABLA No. 4**  
**Confirmación de la actividad antimicótica vegetal de**  
*Bixa orellana* y *Wigandia urens* var *caracasana*

ORGANO	HONGO*			
	A	B	C	D
<b><i>B. orellana</i></b>				
Hoja				
Etanol al 80%	-	+	+	+
Extracto acuoso	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-
Corteza				
Etanol al 80%	-	+	+	+
Extracto acuoso	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-
<b><i>W. urens</i> var <i>caracasana</i></b>				
Hoja				
Etanol al 80%	-	+	+	+
Extracto acuoso	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-
Flor				
Etanol al 80%	+	+	+	+
Extracto acuoso	-	-	-	-
Diclorometano	-	-	-	-

\* Hongos ensayados: A= *A. flavus*, C= *M. gypseum*  
 B= *E. floccosum*, D= *T. rubrum*  
 Actividad positiva (+): menor o igual al 25% del diámetro de crecimiento.

#### 8.4 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mfínima (CIM)

A los extractos que mostraron actividad antimicrobiana se le determinó la CIM confrontándolos con cada microorganismo que inhibieron a diferentes concentraciones: en el caso de bacterias y levaduras a concentraciones de 5, 2.5 y 1.25 mg/ml y en el caso de hongos 10 y 5 mg/ml.

Los extractos de etanol al 50% (etanol 50) y etanol al 80% (etanol 80) de la hoja de *B. orellana* inhibieron a *S. aureus* hasta una concentración de 5 mg/ml, la corteza de *B. orellana* inhibió a *S. aureus* en concentraciones de 5 y 2.5 mg/ml (etanol 50) a *S. aureus*, *S. flexneri*, y

*P. aeruginosa* (etanol 50, etanol 80 y extracto acuoso) a *C.albicans* (etanol 80) y a *E. coli* (extracto acuoso) hasta una concentración de 5 mg/ml.

La hoja de *W. urens* var. *caracasana* inhibió a *S. aureus* en concentraciones de 5 y 2.5 mg/ml (etanol 50 y extracto acuoso) a *C. albicans* en concentraciones de 5 y 2.5 mg/ml (etanol 50), a *S. aureus* (etanol 80), *E.coli* (extracto acuoso) y a *P. aeruginosa* (etanol 80 y extracto acuoso) en concentraciones de 5 mg/ml.

La flor de *W. urens* var. *caracasana* inhibe a *S. aureus* en concentraciones de 5, 2.5 y 1.25 mg/ml y a *C. albicans* en una concentración de 5 mg/ml (etanol 50) a *S. aureus* (etanol 80 y diclorometano) y *P. aeruginosa* (etanol 80) hasta una concentración de 5 mg (Tabla No. 5).

Tabla No. 5  
**Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima  
de los extractos de *Bixa orellana* y *Wigandia urens*  
var. *caracasana* en el ensayo antimicrobiano**

ORGANO	BACTERIA*/LEVADURA**					
<i>B. orellana</i>	A	B	C	D	E	F
Hoja						
Etanol al 50% (5 mg/ml)	-	-	-	-	+	-
Etanol al 80% (5 mg/ml)	-	-	-	-	+	-
Corteza						
Etanol al 50% (5 mg/ml)	-	+	-	+	+	+
(2.5 mg/ml)	-	-	-	-	+	-
Etanol al 80% (5 mg/ml)	-	+	-	+	+	+
Extracto Acuoso (5 mg/ml)	+	+	-	+	+	-
<hr/>						
<i>W. urens</i> var. <i>caracasana</i>						
Hoja						
Etanol al 50% (5 mg/ml)	-	-	-	-	+	+
(2.5 mg/ml)	-	-	-	-	+	+
Etanol al 80% (5 mg/ml)	-	-	-	+	+	-
Extracto Acuoso (5 mg/ml)	+	-	-	+	+	-
(2.5 mg/ml)	-	-	-	-	+	-
Flor						
Etanol al 50% (5 mg/ml)	-	-	-	-	+	+
(2.5 mg/ml)	-	-	-	-	+	-
(1.25 mg/ml)	-	-	-	-	+	-
Etanol al 80% (5 mg/ml)	-	-	-	+	+	-
<hr/>						
*Microorganismo ensayadas:	A= <i>E. coli</i> ,		D= <i>P. aeruginosa</i>			
	B= <i>S. flexneri</i> ,		E= <i>S. aureus</i>			
	C= <i>S. typhi</i> ,		F= <i>C. albicans</i> **			
	(+) = actividad		(-) = resistencia			

El extracto de etanol al 50% de hoja de *W. urens* var. *caracasana* inhibe a *A. flavus* hasta una concentración de 12.5 mg/ml.

Los extractos etanólicos al 50% y 80% de hoja y corteza de *B. orellana* y hoja y flor de *W. urens* var *caracasana* inhiben a *E. floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum* en una concentración de 10 mg/ml.

Tabla No. 6  
**Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima**  
**de los extractos de *Bixa orellana* y *Wigandia urens***  
**var *caracasana* en el ensayo antimicótico.**

ORGANO	HONGO*			
	A	B	C	D
<b><i>B. orellana</i></b>				
Hoja				
Etanol al 50% (10 mg/ml)	-	+	+	+
Etanol al 80% (10 mg/ml)	-	+	+	+
Corteza				
Etanol al 50% (10 mg/ml)	-	+	+	+
Etanol al 80% (10 mg/ml)	-	+	+	+
<b><i>W. urens</i> var. <i>caracasana</i></b>				
Hoja				
Etanol al 50% (10 mg/ml)	-	+	+	+
Etanol al 80% (10 mg/ml)	-	+	+	+
Flor				
Etanol al 50% (10 mg/ml)	+**	+	+	+
Etanol al 80% (10 mg/ml)	-	+	+	+

\* Hongos ensayados: A= *A. flavus*, C= *M. gypseum*  
 B= *E. floccosum*, D= *T. rubrum*

\*\* concentración de (12.5 mg/ml)

Actividad positiva (+): menor o igual al 25% del diámetro de crecimiento

(-) = resistencia.

Todos los ensayos que se presentan como actividad positiva (+), representan las cuatro repeticiones, lo que indica que hay una actividad antimicrobiana estadísticamente significativa (P < 0.1)

## 9. DISCUSION DE RESULTADOS

Como consecuencia de su abundancia por ser un cultivo comercial y a las características medicinales de *B. orellana* (achiote) y la amplia distribución de *W. urens* var. *caracasana* (chocón), en el que se ha demostrado la existencia de cierta actividad antimicrobiana, con éste estudio se confirmaron los hallazgos de estudios anteriores referentes a la actividad antibacteriana y se pone en evidencia la acción antimicótica presentada contra *A. flavus* y los tres dermatofitos ensayados.

Este estudio se realizó en tres fases, la primera consistió en un tamizaje antimicrobiano utilizando cinco órganos de *B. orellana* y tres de *W. urens* var. *caracasana*, la metodología utilizada para bacterias y levaduras fue la técnica de Mitscher et al (52).

Se determinó que la hoja y la corteza de *B. orellana* mostraron mayor actividad que la madera, la raíz y la semilla siendo éste último su principal producto industrial, cuya composición química ha sido bastante estudiada particularmente los carotenos (bixina y norbixina), como colorantes. Previamente se demostró que la raíz tiene propiedades farmacológicas como hipoglucemiante (22,23), actividad que no se encuentra en las semillas. En ésta oportunidad se confirmó que la hoja tiene acción antibacteriana contra *S. aureus* (18,19), que la raíz no inhibe a *E. coli* y *S. flexneri*, pero no se confirmó el efecto contra *S. typhi* (15).

La hoja y la flor de *W. urens* var. *caracasana* mostraron mayor actividad que la raíz. Se confirmó la acción de la hoja contra *S. typhi*, no así para *S. pyogenes* (28,29) éste estudio demostró la acción de la hoja contra *C. albicans* que en estudios anteriores no se había demostrado (28,29). Debe tomarse en cuenta que las cepas no son las mismas que las utilizadas en estudios anteriores, ya que en el presente estudio se utilizaron cepas tipificadas.

El órgano con mayor actividad antibacteriana vegetal fue la corteza de *B. orellana* que inhibe a cinco de las bacterias ensayadas, además también inhibe a *C. albicans*. Este hallazgo es interesante, ya que al demostrarse que las semillas no tienen actividad, se demuestra indirectamente que no es la bixina el principio activo responsable de la actividad antimicrobiana. Es posible que el responsable de dicha actividad sea un alcaloide presente en mayor proporción en la corteza y las hojas.

Con relación a las bacterias se observó diversidad de resultados, siendo las más inhibidas *S. aureus* y *P. aeruginosa*. La bacteria que no fue inhibida por ninguno de los órganos de las plantas ensayadas fue *S. pyogenes*.

En el ensayo antimicótico se utilizó la técnica de MacRae et al. (53) utilizando una suspensión de esporas de cada hongo preparadas según la técnica de Takashio (54). Se observó que aunque la corteza y hoja de *B. orellana* y la hoja de *W. urens* var. *caracasana* mostraron alguna actividad antimicótica, es la flor de *W. urens* var. *caracasana* la que demostró mayor actividad.

Hasta el momento no se han realizado estudios fitoquímicos que permitan deducir la estructura química responsable de dicha actividad.

Con los resultados obtenidos en la primera fase se demuestra que en las hojas de las dos plantas ensayadas hay actividad antimicrobiana, pero éste no es el órgano con mayor actividad, ya que en el caso de *B. orellana* la mayor actividad se encontró en la corteza y en *W. urens* var. *caracasana* en la flor.

En la segunda fase se determinó el mejor disolvente, en la que se pudo observar que el extracto acuoso (corteza de *B. orellana* y hoja de *W. urens* var. *caracasana*) y el extracto con diclorometano de la flor *W. urens* var. *caracasana* sólo mostraron actividad antibacteriana y ningún efecto en el ensayo antimicótico lo que indica que el principio activo antimicótico no es extraíble por un disolvente muy polar como el agua ni uno demasiado apolar como el diclorometano sino se encuentra en disolventes con polaridad intermedia como el etanol, en este estudio se utilizó etanol al 50% en la fase de tamizaje y etanol al 80% en la fase del mejor disolvente, los resultados mostraron mayor acción antimicrobiana del etanol al 50%, esto debe darse a conocer ya que popularmente las plantas son usadas en forma de infusiones y debe tomarse en cuenta para estudios posteriores que se realicen in vivo.

En ésta parte del estudio se confirma que el agua no fue el mejor disolvente, porque ésta sólo extrajo el principio activo contra bacterias, y no mostró ningún efecto antimicótico.

En la tercera fase se determinó la CIM de los extractos que mostraron actividad con cada uno de los microorganismos inhibidos, en el ensayo antibacteriano se observó que la bacteria con CIM mayor fue *S. aureus*. En el ensayo antimicótico los extractos etanólicos al 50% y al 80% de los cuatro órganos ensayados mostraron una CIM de 10 mg/ml para *E. floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum* y el extracto etanólico al 50% de la flor de *W. urens* var. *caracasana* mostró una CIM de 12.5 mg/ml para *A. flavus*.

Los resultados indican que dos órganos de cada planta ensayadas tienen actividad antimicrobiana y en alguno de los casos hay inhibición de crecimiento hasta un 75% de todos los microorganismos ensayados. Estos hallazgos experimentales son alentadores, por lo consiguiente las plantas deberán ser estudiadas farmacológica y toxicológicamente por procedimientos *in vitro* e *in vivo*, para validar científicamente la medicina tradicional en Guatemala, así como elucidar la estructura del principio activo para estudiar a profundidad el responsable de la actividad antimicrobiana.

## 10. CONCLUSIONES

- 10.1 Los órganos con actividad antimicrobiana son para *B. orellana*, la hoja y corteza y para *W. urens* var. *caracasana*, la hoja y flor.
- 10.2 La corteza de *B. orellana* demostró la mayor acción antibacteriana contra: *E. coli*, *S. flexneri*, *S. typhi*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* y acción antimicrobiana contra *C. albicans*.
  - 11.1 Determinar la toxicidad de las plantas estudiadas.
- 10.3 En el ensayo antibacteriano las bacterias más inhibidas fueron: *S. aureus* y *P. aeruginosa*.
  - 11.2 Estudios in vivo para comprobar la actividad antimicrobiana de estas plantas.
- 10.4 La flor de *W. urens* var. *caracasana* demostró la mayor acción antimicótica contra: *A. flavus*, *E. floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum*.
  - 11.3 uso popular
- 10.5 Los extractos acuosos (corteza de *B. orellana* y hoja de *W. urens* var. *caracasana*) sólo mostraron acción antibacteriana. El extracto con diclorometano de la flor de *W. urens* var. *caracasana* sólo mostró efecto antibacteriano contra *S. aureus*.
- 10.6 El etanol (50% y 80%) es el disolvente que mejor extrae el principio activo responsable de la actividad antimicrobiana de los órganos de *B. orellana* y *W. urens* var. *caracasana*.
  - 11.4 son usadas en forma de infusiones y se concluyó que el disolvente que extrae el principio
- 10.7 El extracto etanólico al 50% de la flor de *W. urens* var. *caracasana* mostró una CIM de 1.25 mg/ml para *S. aureus* y 12.5 mg/ml para *A. flavus*.
- 10.8 Los extractos etanólicos al 50% y 80% de la hoja y corteza de *B. orellana* y la hoja y flor de *W. urens* var. *caracasana* mostraron una CIM de 10 mg/ml contra *E. floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum*.
- 10.9 Los resultados obtenidos proporcionan validez científica al uso popular de *B. orellana* (achiote) y *W. urens* var. *caracasana* (chocón) en enfermedades por algunos de los microorganismos ensayados.

## 12. REFERENCIAS

- 12.1 Cáceres A, Girón L, y Freire AV. Plantas de uso medicinal en Guatemala: I Detección etnobotánica y bibliográfica. *Revista de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. 1990. 5-60p.
- 12.2 Cáceres A, Samayoa B y Logemann H. Plantas de uso medicinal en Guatemala: Tamizaje de la actividad antimicrobiana. *Revista de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. 1990. 48-60p.
- 12.3 Cáceres A, et al. Plants used in Guatemala for treatment of dermatomucosal infection. I Screening of 38 plants extracts for anticandidal activity. 1991 *J Ethnopharm*. 33:277-283p.
- 12.4 Cáceres A, et al. Actividad antimicótica de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de dermatofitosis. *Revista Mexicana de Micología*. 7, 21-38p.
- 12.5 Cáceres A, et al. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. II. Evaluation of antifungal activity of 7 American Plants. (presented in part at the I Central American and National Congress of Mycology) Guatemala. August 1992.
- 12.6 Cáceres A, Menéndez H, Méndez E, Cohobón E, Jauregui E. Actividad antineiseria de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de gonorrea. IV Congreso de Microbiología. Asociación Guatemalteca de Microbiología: Memorias 1991, 135p.
- 12.7 Robineau L. Scientific research and popular use of medicinal plantas in the Caribbean. Work Shop Tramil-4 Tela, Honduras, November 1989, 474p.
- 12.8 Morton JF. Atlas of medicinal plants of Middle America. Illinois: Charles Thomas Publishers, 1981. XXVII+1420p.
- 12.9 Standley P, Williams LO. Flora de Guatemala. *Fieldiana: Botany* vol 24:(7), 1962. 29p.

- 12.10 Handy C, Satherland N. Plantas comunes de Honduras, Tegucigalpa, Honduras. Editorial Universitaria. Universidad Autónoma de Honduras 1986, 438p. Tomo I.
- 12.11 Niembro A. Arboles y arbustos útiles en México. Limusa, México DF. 1990. 206p.
- 12.12 Orellana S. Indian medicine in highland Guatemala. The prehispanic and colonial periods Mexico: University of New México, 1987, 308p.
- 12.13 Díaz JL. Usos de las plantas medicinales de México, Monografía Científica II. México: IMEPLAN, 1976, XI+329p.
- 12.14 Sabiduría y Ciencia al servicio de la salud: Primer Congreso de plantas medicinales. Chile, Santiago de Chile, Prisma Chile Ltda. 1990, 99p.
- 12.15 Cáceres A, Samayoa B. Tamizaje de la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Cuaderno de investigación No. 6-89. Dirección General de Investigación Universidad de San Carlos de Guatemala. 1989. 138p.
- 12.16 Orellana AM. Recopilación botánica y análisis químico cuantitativo de algunas especies de plantas medicinales de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1979 63p.
- 12.17 Aguilar JI. Aspectos de la flora útil de Guatemala, Guatemala: Ministerio de Agricultura 1966. 400p.
- 12.18 Alvarado SR. Confirmación de la actividad antibacteriana de algunos extractos vegetales. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1986, 42 p.
- 12.19 Verporte R, et al. Medicinal Plants of Suriname I: antimicrobial activity of some medicinal plants. J Ethnopharm. 1982, 5:221-226p.
- 12.20 Morales, AS. Inhibición *in vitro* de *Trichomonas vaginalis* por extractos acuosos vegetales de uso popular. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1990, 89p.

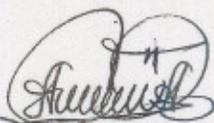
- 12.21 Menéndez HC. Actividad Antineiseria de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de gonorrea. IV Congreso Nacional de Microbiología. Asociación Guatemalteca de Microbiología. 1991, (pp134).
- 12.22 Palma LE. Contribución al estudio farmacológico de *Bixa orellana* (achiote) como hipoglicemiante. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1981, 31p.
- 12.23 Lara SP. Contribución al estudio fitoquímico y farmacológico de *Bixa orellana* (achiote). Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1983, 34p.
- 12.24 House P, Lagos-Witte S. Manual popular de 50 plantas medicinales de Honduras: López S. de RL,1989. 82p.
- 12.25 Standley PC, Williams LO. Flora de Guatemala. Fieldiana: Botany. 1970, 24(9):210p.
- 12.26 Cáceres A, Samayoa B, Fletes L. Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones comunes. Cuaderno de investigación No. 4-90. Guatemala: Dirección General de Investigación Universidad de San Carlos, 1990. 138p.
- 12.27 Núñez E. Plantas medicinales de Puerto Rico. Puerto Rico. Universidad de Puerto Rico, 1964, 245p.
- 12.28 Fletes LM. Confirmación de la acción antibacteriana *in vitro* de 4 plantas de la flora silvestre de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1990, 75p.
- 12.29 Ayala NE. Demostración de la inhibición de *C. albicans* por extractos de ocho vegetales que tienen acción antibacteriana. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala,(Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1992, 69p.
- 12.30 Joklik, Willett, Amos. Zinsser Microbiology. 17 ed. New York: Appleton Century Croffts. 1980, 1413p.

- 12.31 Logemann H, Herías MV, Quevedo JC. Manual de Enfermedades Infecciosas IV. Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. 1991, 53p.
- 12.32 Mac Arthur RD, et al. The epidemiology of gentamicin resistant *Pseudomonas aeruginosa* on an intermediate care unit. Am J Epidemiol. 1988 Oct. 128:(4) 821-27 p.
- 12.33 Lennette E, et al. Manual of Clinical Microbiology. 4ed. Washington: American Society for Microbiology 1985, 1449p.
- 12.34 Ness MJ, Vaugham L, Woods G. Candida antigen latex test for detection of invasive candidiasis in inmuno compromised patients. J Infect Dis. 1989, 159:459-502.
- 12.35 Shadomy S, Ingroff E, Cartwright RY. Laboratory studies with antifungal agents: Suceptibility test and bioassays 991-998p. In Lennette EH et al. Manual of clinical Microbiology. 4a. ed Washington, American Society for Microbiology. 1985. 1449p.
- 12.36 Finegold SM, Martin WJ. Diagnóstico Microbiológico. 3a Ed. Argentina: Médica Panamericana, 1983. 405-416p.
- 12.37 Rippon JW. Medical Mycology: pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. 2 ed. Philadelphia: Saunders Company, 1982, 843p.
- 12.38 Logemann HE. Incidencia dermatofítica en Guatemala y Actualización de Micología Médica. Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, I y III Congreso Nacional de Microbiología. Memorias 1983 y 1986. 220p. y 218p.
- 12.39 Speller D. Antifungal chemotherapy, USA: John Willy and Sons. 1990. 446p.
- 12.40 Cáceres A, et al. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. Screening of 84 plants against enterobacteria. 1991. J Ethnopharm. 30:55-73p.

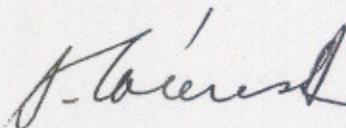
Memorias III Congreso Nacional de Microbiología. Guatemala: Asociación Guatemalteca de Microbiología, 1986. 218p. (42-53pp).

- 12.42 Levine MM. *Escherichia coli* that cause diarrhea: Enterotoxigenic, Enteropathogenic, Enteroinvasive Enterohemorrhagic and Enteroadherent. *J Infect Dis.* 1987; 115: 337-388.
- 12.43 Organización Panamericana de la Salud. Manual de tratamiento de la diarrea, Washington: copyright, 1987.
- 12.44 Roy SK, et al. Diarrhea associated with typhoid fever. *J Infect Dis.* 1985, 151:1138-1143p.
- 12.45 Prado V, et al. Resistencia de bacterias enteropatógenas a antimicrobianos de uso habitual. *Rev Chil Pediatr.* 1983, 55:308-312.
- 12.46 Organización Panamericana de la Salud. Infecciones respiratorias agudas en los niños. Washington: Publicaciones Científicas, 1985.
- 12.47 Narain JP. Epidemiology of acute respiratory infections. *Indian J Pediatr.* 1987. 54:153-160.
- 12.48 Cáceres A, et al. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases, Screening of 68 plants against Gram positive bacteria. *J Ethnopharm.* 1991, 31:55-71.
- 12.49 Restrepo A. Micosis asociadas al paciente inmunocomprometido Aspergilosis. I Congreso Centroamericano, I Congreso Nacional de Micología: Memorias 1992. 55p.
- 12.50 Swatek F, et al. *Aspergillus* Species and other opportunistic saprophytic hyaline, Hyphomycetes. in Lennette EH, et al. *Manual of Clinical Microbiology.* 4ed. Washington: American Society for Microbiology 1985, 1449p.
- 12.51 Ríos JL, Recio MC, Villar A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: A review of the literature. *J Ethnopharm.* 1988;23:127-149.

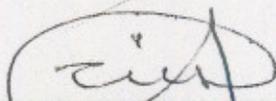
- 12.52 Mitscher A, et al. A modern look a folkloric use or antiinfective agents. J Nat Prod 1987;50:1025-1040.
- 12.53 MacRae WD, Hudson JB, Towers GHN. Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. J Ethnopharm. 1988;22:143-172.
- 12.54 Takashio M, Vroey CD, and Danvanbreoseghem R. Production of macroconidia to *Microsporium serruginium*. Sabouraud, 1970;7:252-256.



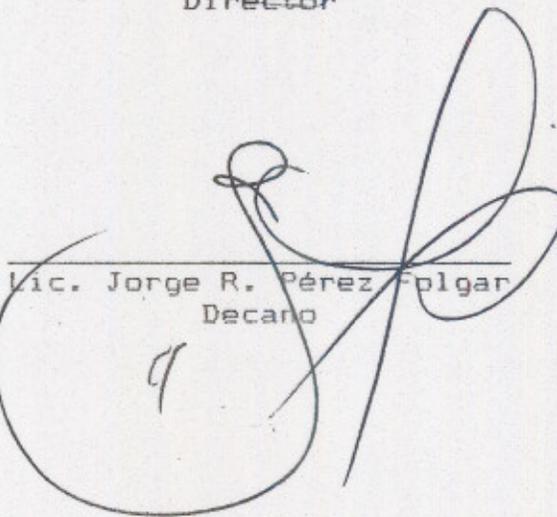
Br. Angélica Lorena Salvador A.  
Tesisista



Lic. Armando Cáceres E.  
Asesor



Lic. Gerardo Arroyo Catalán  
Director



Lic. Jorge R. Pérez Folgar  
Decano

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central