

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE CUATRO
ARBOLES NATIVOS DE GUATEMALA

TESIS

PRESENTADO POR

ANA ESPERANZA HERNANDEZ GIRON

PARA OPTAR AL TITULO DE

QUIMICO BIOLOGO

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

GUATEMALA, NOVIEMBRE 1995

R
06
(1688)
E3

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

Decano:	Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Secretaria:	Licda. Eleonora Gaitán Izaguirre
Vocal I:	Lic. Miguel Angel Herrera Galvez
Vocal II:	Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Vocal III:	Lic. Miguel Orlando Garza Sagastume
Vocal IV:	Br. Ana María Rodas Cardona
Vocal V:	Br. Hayro Oswaldo García García

DEDICO ESTA TESIS

A MI PATRIA GUATEMALA
A COLEGIO EL SAGRADO CORAZON
A UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
A FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
A LA ESCUELA DE QUIMICA BIOLOGICA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

A MIS PADRES

Hugo Adolfo Hernández Leonardo
Sonia Estela Girón Guillén

A MI HERMANO

Hugo Adolfo

A MI ABUELA

Esperanza Leonardo Asturias

**A MIS TIOS
Y SOBRINOS**

**A MIS CATEDRATICOS
EN ESPECIAL A**

Licda. Thelma Alvarado de Gallardo
Licda. María del Carmen Bran

A MIS COMPANEROS Y AMIGOS

AGRADECIMIENTOS

- A **Lic. Armando Cáceres,**
Por su valiosa colaboración, constante
ayuda y acertada asesoría en el presente
trabajo.
- A **Lic. Elsa Jauregui,**
Por su valiosa colaboración y asesoría en
el desarrollo de esta tesis.
- A **Jose Perez,**
Por su gran colaboración.
- A **Todas las personas que, en una u otra**
forma, colaboraron en la realización de
esta tesis.
- A **Laboratorio y Droguería de Productos**
Fitofarmacéuticos, FARMAYA, S.A.
- A **Clínicas de Especialidades punto 10. En**
especial al Dr. Enrique Urruela.

INDICE

	páginas
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	2
3. ANTECEDENTES	
3.1 Estudios sobre Actividad Antimicrobiana Vegetal de Guatemala	3
3.2 Descripción general de los árboles en estudio	5
3.3 Descripción general de los microorganismos en estudio	13
3.4 Demostración de la actividad <i>in vitro</i>	22
4. JUSTIFICACIONES	26
5. OBJETIVOS	27
6. HIPOTESIS	28
7. MATERIALES Y METODOS	29
7.1 Universo de trabajo	29
7.2 Muestra	29
7.3 Recursos	30
7.4 Procedimientos	31
7.5 Diseño Estadístico	35
8. RESULTADOS	37
9. DISCUSION DE RESULTADOS	41
10. CONCLUSIONES	47
11. RECOMENDACIONES	48
12. REFERENCIAS	49

1. RESUMEN

El presente estudio determinó la actividad antimicrobiana de cuatro árboles nativos de Guatemala que han sido considerados por la población como plantas que ayudan a aliviar sus enfermedades.

Para determinar la actividad antimicrobiana de *Brosimum alicastrum*, *Cassia alata*, *Quercus skinneri* y *Tabebuia rosea* se realizó un estudio de tamizaje en el cual se ensayaron la hoja y corteza de cada árbol, de los cuales se obtuvo un extracto etanólico. Para los ensayos se utilizó el método de Mitscher et al. para seis bacterias, que consistió en una dilución 1:10 del extracto etanólico en agar Müller Hinton. Para los hongos se utilizó la técnica de MacRae et al. en la cual también se utilizó una dilución 1:10 de extracto en agar Sabouraud, teniendo cuatro repeticiones por cada uno de los cinco hongos en estudio.

El estudio demostró que el extracto de la corteza de *Q. skinneri* es el que presenta mayor inhibición bacteriana, mientras que su actividad antimicótica es muy pobre. Con respecto a los otros tres árboles estudiados, su actividad antibacteriana es mínima, mientras que su actividad antimicótica muestra que si inhiben dos de los cinco hongos estudiados. *Streptococcus pyogenes* fue la bacteria más inhibida durante el estudio; siendo *Q. skinneri* (hoja y corteza) y *C. alata* (hoja) las plantas que presentaron dicha actividad. Las bacterias restantes son resistentes a todos los extractos ensayados. De los hongos ensayados los más inhibidos fueron *Microsporum gypseum* y *Trichophyton rubrum*, siendo *Aspergillus flavus* y *Candida albicans* los más inhibidos.

También se concluyó que la hoja es más activa contra los microorganismos ensayados que la corteza en los cuatro árboles que se utilizaron en el estudio.

2. INTRODUCCION

Guatemala está ubicada en un continente que a diferencia de otros cuenta con una enorme riqueza vegetal, con una diversidad botánica grande, la cual se encuentra bien distribuida a lo largo y ancho de todo el territorio y que representa una de las mayores riquezas biológicas con las que contamos los guatemaltecos para satisfacer muchas de las necesidades del diario vivir. Muchas son las formas de aprovechamiento de estas riquezas, abrigo, comida, ingresos y como medicina natural que, unido a una gran herencia cultural rica en tradiciones, representa para los pobladores una alternativa para el tratamiento de enfermedades con buenas posibilidades de éxito, ya que para éstos las medicinas se encuentran cada día más inaccesibles.

Por lo anterior se han venido realizando investigaciones dirigidas a la validación científica y a la búsqueda de sustancias medicinales naturales que estén al alcance de las poblaciones de escasos recursos. En Guatemala, desde hace varios años se están llevando a cabo estudios para validar el uso popular de plantas medicinales, demostrando la actividad antimicrobiana que ejercen algunas de estas plantas mediante métodos internacionalmente aceptados.

El presente estudio está encaminado a contribuir con el estudio de la actividad antimicrobiana *in vitro* de cuatro árboles nativos usados para el tratamiento de infecciones gastrointestinales, respiratorias y de la piel y mucosas. Así como determinar el órgano que posee mayor actividad inhibitoria contra los microorganismos causantes de las mismas.

3. ANTECEDENTES

3.1. ESTUDIOS SOBRE ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA VEGETAL EN GUATEMALA

Desde hace varios años se han venido realizando una serie de estudios dirigidos a validar el uso popular de plantas medicinales en el tratamiento de infecciones.

En base a datos recopilados por encuestas etnobotánicas y revisiones de literatura durante 1977-89 en diferentes departamentos del país se demuestra que por lo menos seiscientos veintitres plantas pertenecientes a ciento catorce familias son usadas para el tratamiento de las afecciones más comunes de los cuatro sistemas anatómicos fisiológicos, que afectan a la población con mayor frecuencia, con énfasis en procesos infecciosos. De las seiscientos veintitres plantas encontradas, cuatrocientos ocho son usadas popularmente para el tratamiento de afecciones gastrointestinales, doscientos noventa y tres para las afecciones de la piel y mucosas, doscientos treinta y nueve para afecciones del sistema genito urinario y doscientos treinta para las afecciones del sistema respiratorio (1).

Por estudios etnobotánicos se detectaron doscientas plantas usadas para el tratamiento de enfermedades dermatomucosas. De acuerdo con revisiones de literatura y encuestas, se seleccionaron ochenta y nueve para tamizaje *in vitro* de la actividad antimicrobiana contra los microorganismos causantes de infecciones de la piel y mucosas tales como *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. De las ochenta y nueve plantas, veintiocho mostraron alguna inhibición *in vitro* de los microorganismos en estudio (2).

En 1987 un estudio de setenta y una plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de vaginitis fueron probadas *in vitro* contra *C. albicans*. De éstas, ocho mostraron algún grado de inhibición; demostrándose actividad anticándida en una de ellas (3).

Estudios etnobotánicos y revisiones de literatura mostraron que trescientos ochenta y cinco plantas de noventa y cinco familias son usadas en Guatemala para el tratamiento de desórdenes gastrointestinales. De estas trescientos ochenta y cinco plantas, ochenta y cuatro fueron probadas *in vitro* contra cinco enterobacterias patógenas al hombre (*E. coli* enteropatógena, *Salmonella enteritidis*, *S. typhi*, *Shigella dysenteriae* y *S. flexneri*). Los resultados indicaron que treinta y cuatro plantas inhiben una o más de las enterobacterias en estudio (4).

Durante 1986-89 se hicieron estudios etnobotánicos y revisiones de literatura que mostraron que doscientos treinta y cuatro plantas de setenta y cinco familias usadas para el tratamiento de enfermedades respiratorias. De estas se seleccionaron sesenta y ocho para tamizaje *in vitro* contra tres bacterias Gram positivo causantes de infecciones respiratorias (*S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *S. pyogenes*). Veintiocho de ellas inhibieron el crecimiento de una o más de las bacterias en estudio (5).

Cinco plantas usadas popularmente en Guatemala para el tratamiento de diarrea fueron probadas contra cinco cepas de *Vibrio cholerae*. En la fase tamizaje *in vitro*, tres plantas dan resultados positivos contra *V. cholerae* 01 y contra enterobacterias (6).

En un estudio de cincuenta y dos plantas tamizadas para actividad antimicótica, el cincuenta por ciento mostró actividad contra dermatofitos. En este estudio se seleccionaron siete de ellas para ser probadas contra cuatro hongos patógenos (*A. flavus*, *Epidermophyton floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum*). La actividad antifúngica fue confirmada en todas las plantas pero no en todas las partes, los órganos más activos fueron las hojas y la corteza (7).

En 1991, se probaron cuarenta y seis plantas usadas popularmente en Guatemala para el tratamiento de enfermedades de transmisión sexual contra *Neisseria gonorrhoeae*. Los resultados mostraron que nueve de ellas inhibieron cinco cepas de *N. gonorrhoeae* (8).

3.2. DESCRIPCION GENERAL DE LOS ARBOLES EN ESTUDIO

3.2.1. *Cassia alata* Linn.

Pertenece a la familia Leguminosae y es conocida comunmente como Barajo o Bruja.

3.2.1.1. Descripción de la planta:

Arbusto de 1-2 metros de altura, algunas veces más alto, con raíces en la base del tronco. Las ramas son fuertes, glabradas; las hojas son grandes, eglandulares, 6-12 pares de hojillas membranosas ampliamente oblongas u oblongo-ovaladas, de 5-15 centímetros de largo, 3-8 centímetros de ancho, ampliamente redondeadas en el ápice y la base, escasamente puberulento o glabrado; flores amarillas, pedúnculos cortos, brácteas ovoides-

orbiculares, obtusas, de 1-1.5 centímetros de largo, caducos; separados de 1.5 centímetros de largo aproximadamente, pétalos unguiculados, de 2 centímetros de largo conspicuamente jaspeados; muy numerosos, transversos, compresados de 5 milímetros de largo (9-12).

3.2.1.2. Origen y distribución:

Crece silvestre en suelos húmedos y mojados; en Guatemala crece en Izabal y probablemente también otras regiones bajas. Al sur de México y Belice hasta Panamá; Caribe, América del Sur y trópicos del Viejo Mundo (9,10).

3.2.1.3. Usos medicinales:

En Perú la decocción de la raíz es un remedio para la fiebre; en Honduras, se bebe como purgante y emenagogo (12,13).

La infusión de la hoja es aplicada sobre las quemaduras de gusanos; los amentos de las ramas frondosas son vendidas como hierba en Costa Rica y su decocción es bebida para el tratamiento de reumatismo, problemas de los riñones y el hígado, para enfermedades de transmisión sexual y mordeduras de serpiente (14).

Muchas personas han optado por la práctica de beber té de hojas y proponen que dicho té alivia la artritis reumatoide. Estas personas ponen tres hojas (secas o frescas) en una taza de agua, la dejan por una hora, machacan y añaden suficiente agua, para reemplazar el agua que se va evaporando durante la cocción. La toma es de 1/2 taza en la mañana y la otra mitad por la noche (9).

La decocción de la semilla es tomada como purgante en algunos lugares de América. En Panamá la decocción de las hojas es tomada como purgante y es aplicada sobre la sarna de los perros (13).

Las mujeres de raza negra que son estériles, toman una decocción de 15 hojas durante un periodo de 6 meses con la esperanza de ser fértiles (9).

3.2.1.4. Composición Química:

Los principios activos que se encuentran en la hoja y la corteza son derivados de antraquinonas: aloe-emodina, crisofanol, emodina y reina (15).

3.2.2. *Tabebuia rosea* Bertol.

Pertenece a la familia Bignoniaceae y es conocida comunmente como Matilisquate.

3.2.2.1. Descripción de la planta:

Es un árbol que puede medir hasta 30 metros de alto, con un tronco recto, grueso, la copa extendida o redondeada, la corteza café claro, con fuertes y largas fisuras verticales, ramas glandular-lepidotas. Las hojas son opuestas, palmado-compuestas. Las flores tienen un cáliz bilabiado, de 1.5 - 2 centímetros de largo, cerrados en la yema, haciéndose fruto en antesis, densamente glandular lepidoto. Sus frutos son encapsulados, de cerca de 30 centímetros de largo y 1.2 centímetros de grueso, atenuada en cada extremo, densamente glandular-lepidota (9,13-16).

3.2.2.2. Origen y distribución:

La especie es nativa de Guatemala, crece comunmente en lugares húmedos o más bien secos, a menudo a lo largo de los caminos. Se encuentra desde México hasta Panamá, Venezuela y las Antillas (9,16-18).

3.2.2.3. Usos medicinales:

La decocción de las hojas y la raíz ha sido usada como febrífugo y la decocción de la raíz como un remedio para la anemia (19).

La decocción de flores, hojas o raíces, es bebida como antídoto de mordeduras de serpiente y en forma de fomentos para la parte afectada por la mordedura. La corteza pulverizada se ha empleado como antipirético. Con la infusión o decocción de la corteza, se ha hecho durante 7 días un tratamiento interno y externo en forma de baños para curar la rabia (9,19).

3.2.2.4. Otros usos:

La madera es utilizada como combustible, en construcciones, mangos para herramientas de labranza, yugos de bueyes y algunas veces, como ornamental por sus hermosas flores rosadas (18-21).

3.2.2.5. Composición Química:

La corteza es rica en taninos, la madera contiene lapachol, dihidrotectol, dihidro - α - lopachone, dihidro - iso - α - lopachone y sitosterol (15).

3.2.3. *Brosimum alicastrum* Swartz.

Pertenece a la familia Moraceae y es conocida comunmente como Ramón.

3.2.3.1. Descripción de la planta:

Es un árbol mediano o grande, de 18-40 metros de alto, su corteza es externamente lisa o más frecuentemente escamosa, en piezas grandes y cuadradas, gris claro o gris pardo. La parte interna es de color crema amarillento, fibrosa a granulosa, con abundante exudado lechoso, ligeramente dulce; el grosor total de la corteza es de 0.7 -1.2 centímetros. Las ramas son ascendentes y luego colgantes; las más jóvenes a veces son ovaladas (9-11, 17,20-22).

Sus hojas son alternadas, simples; laminada de 35.5 - 187.5 centímetros, oval-lanceoladas a oval-elípticas, con el margen entero, ápice agudo o notablemente acuminado, especialmente en las hojas jóvenes; base obtusa a aguda, verde oscuras y brillantes en el haz, verde grisácea y blanquecinas en el envés, por la presencia de numerosas escamas blancas entre el tejido de las nervaduras; glabras en ambas superficies; peciolo cortos de 2 - 12 centímetros de largo, glabros; generalmente perennifolios pero caducifolios en las partes más secas de su distribución (9,10,17).

3.2.3.2. Origen y distribución:

Es un árbol que crece en suelos húmedos o mojados en Petén, Alta Verapaz, Izabal, Escuintla, Guatemala (valle del Río Motagua), Retalhuleu, Quiché, Huehuetenango, Baja Verapaz. En el sur de

México y Honduras, El Salvador y el Caribe (9,23), Jamaica y Hawaii (22).

3.2.3.3. Usos medicinales:

La infusión de la corteza es usada como un excelente tónico (24). El látex es más utilizado como medicina, aunque el de la mayoría de especies de *Brosimum* es bebible (*B. alicastrum*, *B. utile*, *B. potabile*), el de *B. acutifolium* causa inconciencia cuando es tomado.

El látex de las especies de *Brosimum* tiene varios usos medicinales, puede ser utilizado en casos de asma, diabetes, tuberculosis y como diaforético, galactogogo y emenagogo (25).

3.2.3.4. Otros usos:

El uso de *B. alicastrum*, no se limita únicamente al medicinal, sino que tiene muchas formas de aprovechamiento, como alimento humano, su follaje se consume como cualquier otra hortaliza de hoja (22), sus flores son comidas por pobladores del Valle de Lancetilla, Honduras (12). Sus frutos son dulces y jugosos; por lo general son comidos como golosinas (22) o cocidos (26). Su semilla se utiliza para hacer tortillas, la cual es librada de la pulpa, cocida y molida (22) y para hacer pan (26), cuya harina presenta algunas ventajas sobre la harina de trigo, ya que el porcentaje de nutrientes es similar al de la harina de trigo y su costo es cincuenta por ciento menor que la harina de trigo. (26).

Como alimento animal, su follaje es la forma más común de uso en alimentación de ganado, equinos y asnos (22). Su uso también es

artesanal, su madera es fácilmente aserrable (17,23).

3.2.3.5. Composición química:

Las hojas contienen 10-14 por ciento de proteínas y las semillas hasta 20 por ciento, son muy alimenticias ricas en el aminoácido triptófano, hierro y vitamina C (17).

3.2.4. *Quercus skinneri* Berth.

Pertenece a la familia Fagaceae y se conoce comunmente como Encino.

3.2.4.1. Descripción de la planta:

Es un árbol mediano o muy grande, las ramitas de 2 - 4 centímetros de diámetro, glabras, al principio fulvosotomentosas y propiamente glabrado, café rojizo. Los retoños de 4 - 7 metros de largo, ovoides, obtusos, escasamente pubescentes; las hojas son delgadas y membranosas, de 8 - 12 centímetros de largo, 3 - 6 centímetros de ancho, ampliamente lanceoladas atenuada o acuminada, subcordada en la base, finalmente dentada con dientes atenuados. Los frutos son largos, solitarios sobre un pedúnculo de aproximadamente 5 metros de largo, muy polimórficos a diferentes estados de crecimiento. Las bellotas de 18 a 40 centímetros de largo, subglobosos, cortos-cilíndricos o globoso-ovoides, los extremos usualmente truncados o redondeados (11,27).

3.2.4.2. Origen y distribución:

Se encuentra usualmente en climas húmedos o mojados, bosques

montañosos, o muchas veces viven en plantaciones donde el bosque ha desaparecido; frecuentemente se observa en cafetales de las vertientes de el Pacífico. Algunas veces son plantas en regiones donde no son nativos, como por ejemplo Cobán. Se encuentra en Quetzaltenango, Alta Verapaz, Guatemala(sólo en cultivos), Baja Verapaz, Escuintla, Sacatepequez, Sololá, El Quiche, San Marcos. También en Chiapas, El Salvador y Honduras (12,27).

3.2.4.3. Usos medicinales:

La corteza de casi todas las especies de *Quercus* se utiliza con fines medicinales. En este estudio se escoge *Q. skinneri* por su abundancia y uso forestal en Baja Verapaz (28).

La decocción de la corteza y las hojas son frecuentemente utilizados como hemostático y antiséptico (13). El cocimiento de las bellotas se toma contra la excitación nerviosa y el cocimiento de la corteza se usa contra la diarrea (16,28,29). El mismo cocimiento se usa en buches para endurecer las encías, como cura del cáncer del estómago y los intestinos (28).

3.2.4.4. Otros usos:

La madera de los encinos es generalmente dura, resistente excelente para construcción, herramientas, postes, etc. Es muy buena para leña. Los frutos son generalmente utilizados para alimento de los cerdos. Algunos se comen tostados. Algunas especies se usan para el cultivo de gusano de seda. Son melíferas. Se plantan para cortinas rompe-vientos (17,28).

3.2.4.5. Composición química:

Las hojas contienen de 7 - 10 por ciento de proteínas crudas. La corteza de varias especies de *Quercus* contiene taninos (17).

3.3. DESCRIPCION GENERAL DE LOS MICROORGANISMOS EN ESTUDIO

3.3.1. Microorganismos causantes de enfermedades de la piel y mucosa

3.3.1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Es un bacilo recto o ligeramente curvo, Gram negativo, no productor de esporas, móvil, catalasa positiva. En general, los microorganismos del género *Pseudomonas* son bacterias que se hallan libres en la naturaleza y que se encuentran con gran frecuencia en el suelo y el agua; *P. aeruginosa* es un patógeno oportunista que produce enfermedades en la especie humana que en algunos casos son graves; son microorganismos no fermentadores, oxidasa positivo, estrictamente aerobios. Es uno de los agentes principales de infecciones hospitalarias, especialmente en individuos debilitados por procesos crónicos y en pacientes tratados con antibióticos de amplio espectro o con corticosteroides (30,31).

P. aeruginosa da lugar a infecciones del tracto urinario, quemaduras y heridas, pueden presentarse en casos de septicemia, abscesos y meningitis. También son frecuentes la bronconeumonía y la endocarditis bacteriana subaguda (30).

Debido a la resistencia de este microorganismo frente a numerosos antibióticos, no es raro que se convierta en dominante a

consecuencia de la supresión de la microbiota normal y de bacterias más sensibles. De ahí la introducción de antibióticos de amplio espectro o corticosteroides para su tratamiento (30).

3.3.1.2. *Staphylococcus aureus*

Es un coco inmóvil, Gram positivo, pero las células viejas y fagocitadas son gram negativo. En extendidos de pus, los cocos aparecen solos, en pares, en racimos o en cadenas cortas. En caldos de cultivo, son comunes las cadenas cortas y las formas diplocóccicas. Unas cepas producen una cápsula o capa mucosa que incrementa la virulencia del organismo (31).

Característicamente causa infección supurativa de la piel, raramente en pulmón, riñón, huesos y cerebro (31). Las infecciones que produce son: forúnculos (abscesos agudos en la piel y en los tejidos subcutáneos), carbúnculos (colección de furúnculos interconectados), infecciones de heridas en el pecho, neumonía, endocarditis, presentándose usualmente como una enfermedad aguda fulminante con fiebre alta, abscesos metastásicos y con daño letal a las válvulas del corazón, infecciones en la piel, tromboflebitis, bacteremia, osteomielitis, artritis séptica y parotiditis (30,31).

El principio básico en el tratamiento de las infecciones estafilocócicas localizadas, es el drenaje adecuado. Deben extraerse los cuerpos extraños ~~del sitio de infección~~ PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA los agentes antibacterianos pueden ~~controlar la contaminación~~ de los organismos desde los abscesos, son menos efectivos contra las bacterias dentro de los abscesos y no facilitan su resolución (31). En infecciones cutáneas, el tratamiento oral con una

penicilina semisintética, como cloxacilina o dicloxacilina, habitualmente es eficaz. Si el paciente es alérgico a la penicilina, pueden usarse cefalosporinas, eritromicina o clindamicina por vía oral (30).

3.3.1.3. *Candida albicans*

Es el agente causal de candidiasis, es esencialmente un organismo unicelular, que además de producir levaduras, produce pseudomicelio y micelio verdadero. Se observan levaduras pequeñas, ovoides de pared delgada. Hay producción de tubos germinales en un medio rico en proteína como el suero luego de ser incubado (32,33).

La infección es principalmente superficial de las áreas cutáneas húmedas del cuerpo (31). La infección más común es la candidiasis superficial que se presenta en la cavidad bucal, tracto gastrointestinal y la piel. Las lesiones consisten en placas blancas, confluentes sobre una extensión inflamatoria roja húmeda. La infección localmente invasiva es más severa manifestándose como neumonía, cistitis, esofagitis, endocarditis y pielonefritis. Finalmente la sistémica o generalizada es de peor pronóstico produciéndose lesiones comúnmente en el cerebro, riñones, bazo, hígado, pulmón y corazón (31).

El tratamiento de elección es el ketoconazol, los alternativos son anfotericina B para la piel y lesiones cutáneas, para infecciones del tracto urinario la anfotericina B con o sin fluorocitosina (31).

3.3.2. Dermatofitos

3.3.2.1. *Epidermophyton floccosum*

Crece lentamente en agar Sabouraud; el crecimiento primario aparece como puntos blanco-amarillentos, que se convierten en colonias polvorientas o aterciopeladas con surcos en forma de rayos desde el centro, con un definido color amarillo verdoso. El lado inverso de la colonia es de color amarillo cobrizo. Después de varias semanas, la colonia desarrolla un micelio aéreo blanco (pleomórfico) que la cubre completamente (32).

Microscópicamente, se observan numerosos macroconidios lisos, de paredes delgadas, multiplicadas (2-4), redondeadas en la punta y adheridos a las hifas individualmente o en grupos de 2-3. Los microconidios están ausentes, son raras las hifas de una semana; su identificación microscópica es por macroaleuriosporas grandes, de paredes lisas multitabicadas, clavadas y aisladas o en grupos de 2-3, esta especie no forma microaleuriosporas (32).

Este hongo afecta la piel y uñas, pero no pelo. Es el causante de tiña pedis y tiña manum, produce prurito en áreas perianales y perineales. Es antropofílico, puede ser transmitido de persona a persona o por toallas o ropa contaminada (32).

3.3.2.2. *Microsporum gypseum*

Es un saprófito del suelo (geófilo) de vida libre, que sólo raramente ocasiona infección en el hombre o en los animales. Generalmente los pelos infectados no tienen fluorescencia bajo lámpara de Wood. El examen microscópico de los pelos infectados

los muestra cubiertos en forma irregular por racimos de esporas (de 5-8 micrómetros), algunas en cadenas. Estas artrosporas del tipo ectotrix son mucho más grandes que las de otras especies de *Microsporum* (32).

En agar Sabouraud el *M. gypseum* crece rápidamente formando una colonia aplanada de bordes irregulares con una superficie áspera y polvorienta de color de piel castaño canela. El reverso de la colonia es pigmentado, con un color anaranjado a castaño. Se ven macroconidios en gran cantidad y en forma característica, son grandes, elipsoidales y multicelulares (3-9) con superficie equinulada. Aunque tienen forma de huso, estos macroconidios no son tan puntiagudos en su extremo distal como los de *Microsporum canis*; los micronidios son raros (32).

Su identificación microscópica es a través de macroaleuriosporas de paredes gruesas elípticas y multitabicadas. Microaleuriosporas escasas o ausentes. Su tiempo de crecimiento es de una semana (34). Es una especie geofílica que produce tiña esporádica en niños y adultos. Se ha aislado del suelo en el mundo entero (32).

3.3.2.3. *Trichophyton rubrum*

Es una especie de crecimiento lento, que produce una colonia aplanada o elevada, con una superficie blanca o rojiza, algodonosa o aterciopelada. El característico color rojizo cereza se observa mejor sobre el lado inverso de la colonia, comenzando en el borde o extendiéndose en forma concéntrica; el color puede desaparecer en el subcultivo. A veces falta en algunas cepas la pigmentación roja

intensa en el primer aislamiento. En la mayoría de las cepas blandas son raros los microconidios y más comunes en las cepas aterciopeladas o granuladas, en las que se presentan como esporas en forma de glóbulo o de clava, de 2-4 micrómetros, y que crecen en racimos sobre las caras laterales de micelio. Raramente se ven macroconidios, si bien son más comunes en las cepas granuladas, en las que aparecen como células de paredes delgadas, en forma de salchicha, con extremos romos, y que contienen de 3-8 tabiques (34).

En la identificación microscópica por lo general se observan microaleuriosporas en forma de lágrima; casi siempre nacen de los lados de la hifas. Generalmente faltan las macroaleuriosporas, pero cuando existen son lisas, de paredes finas y en forma de lápiz. Su crecimiento se observa en dos semanas (34).

Es una especie antropofílica, su invasión es ecto-endo-trix; es el principal dermatofito de tiña manum, ataca a nivel del cuerpo no de cabeza. También es el responsable de tiña pedis, tiña cruris, tiña unguium y tiña barbae (32).

El tratamiento de elección para la dermatofitosis son los derivados de imidazol y ácido benzoico (35).

3.3.3. Microorganismos causantes de infecciones respiratorias

3.3.3.1. *Streptococcus pyogenes*

S. pyogenes pertenece al género *Streptococcus* y es clasificado dentro del grupo A de Lancefield (30,31,35). Es una bacteria de

forma cocoide, Gram positivo, agrupada predominantemente en cadenas largas. Es anaerobia facultativa y el principal producto de su metabolismo es el ácido láctico, los medios de crecimiento habitualmente contienen sangre o sus productos y su crecimiento se estimula reduciendo la tensión de oxígeno, produce hemólisis beta (ruptura completa de los eritrocitos) (30).

S. pyogenes es causa común de faringitis aguda, con frecuencia presenta complicaciones en órganos cercanos, provocando lesiones supurativas, como adenitis cervical, otitis media, mastoiditis, abscesos periamigdalinos y neumonía. La infección por *S. pyogenes* puede ocasionar secuelas graves como fiebre reumática y glomerulonefritis aguda (35).

Es universalmente susceptible a la penicilina G, por lo que debe hacerse la prueba de susceptibilidad antimicrobiana únicamente en casos en que el paciente sea alérgico a la penicilina. En tal caso, el tratamiento de elección es la eritromicina o tetraciclina, pero de las cepas, se encuentra que un 3-5 por ciento son resistentes a estos antibióticos (35)

3.3.3.2. *Aspergillus flavus*

El género *Aspergillus* son hongos ubicuos; pueden encontrarse la mayor parte de materiales orgánicos y son comúnmente encontrados sobre granos y vegetales podridos (35). Los miembros de este género son microorganismos ambientales que esporulan libremente; sus conidias son pequeñas, por lo que al ser inhaladas, logran alcanzar las partes distales del pulmón (33). De las muchas especies de *Aspergillus* sólo cuatro son comúnmente encontrados como causa de enfermedades: *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus* (35).

La colonización del género *Aspergillus* ocurre, principalmente en áreas vulnerables dentro del tracto respiratorio. Otras áreas incluyen el canal auditivo, uñas y raramente otros sitios (31). La capacidad invasora de *Aspergillus* se manifiesta en pacientes inmunodeprimidos, diabéticos, con traumas extensos, en quemados y en aquellos con otras alteraciones de base; estos mohos pueden producir lesiones en piel, senos nasales y paranasales. En general, tales lesiones progresan y se diseminan salvo en aquellos casos en los cuales las defensas del huésped están aún activas. (33).

La nistatina es un agente antimicótico útil en el tratamiento de infecciones no sistémicas y está restringida a levaduras y otros hongos como: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Candida* (36). La aspergilosis en sus formas alérgicas han sido tratadas con corticosteroides y tratamientos antimicóticos. El aspergiloma es tratado según su severidad (35).

3.3.4. Microorganismos causantes de infecciones gastrointestinales

3.3.4.1. *Escherichia coli* enteropatógena

E. coli es la única especie del género considerada patógena al hombre (35). Las cepas de *E. coli* que causan diarrea en el hombre, están agrupadas en cuatro categorías principales, dentro de ellas se tiene la cepa enteroinvasiva (ECEI), enterohemorrágica (ECEH), enterotoxigénica (ETEC) y la enteropatógena (EPEC); ésta última es importante como agente causal de diarreas, mayormente en niños. El mecanismo a través del cual provoca la diarrea es desconocido hasta el momento (37).

Clínicamente, la enfermedad caracterizada por fiebre, malestar general, vómitos y diarrea con gran cantidad de moco, pero sin trazas de sangre y es más severa en infantes, persistiendo los cuadros de diarrea hasta 14 días (31,37).

Se considera susceptible a la mayoría de antibióticos usados comunmente contra bacilos gram negativo, sin embargo existe la posibilidad de que la cepa sea resistente a la ampicilina, cefalotina, neomicina y trimetroprim sulfametoxazole (35).

3.3.4.2. *Salmonella typhi*

S. typhi no produce gas de la fermentación de la glucosa y la producción de ácido sulfhídrico puede ser muy pobre (31). El género *Salmonella* 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 cual es una enfermedad severa, debilitante y de alto riesgo causada por *S. typhi* (30,31).

Es el agente causal de la fiebre tifoidea, la cual es la más severa de las fiebres entéricas. El único huésped conocido es el hombre. La transmisión es a través de alimentos o agua contaminada por individuos enfermos o portadores. El inicio de la enfermedad es insidioso, luego de un período de 7-14 días de incubación, con malestar, anorexia, cefalea y fiebre. Puede haber o no diarrea, si se presenta es de consistencia líquida, conteniendo gran número de leucocitos polimorfonucleares (38).

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

El cloranfenicol o la ampicilina son las drogas de elección para el tratamiento de la fiebre tifoidea, también se ha reportado el uso de otras drogas tales como: ampicilina, trimetoprimisulfametoxazole y furazolidona como tratamiento alternativo (31).

3.3.4.3 *Shigella flexneri*

Las especies del género *Shigella* son las principales causas de disentería bacilar, una enfermedad caracterizada por la eliminación frecuente y dolorosa de poco volumen de materia fecal que contiene sangre y moco. *S. flexneri*, es un microorganismo que tiene capacidad de invadir las células epiteliales de la mucosa del intestino delgado, donde prolifera, provocando muerte celular. La diseminación ocurre de hombre a hombre y los reservorios son portadores que eliminan los microorganismos en sus heces (31).

Las deposiciones son líquidas, malestar general y cólicos son las manifestaciones clínicas más leves; en casos graves hay manifestaciones de fiebre alta, cólicos abdominales intensos, toxemia, tenesmo y disentería (35).

Por lo general las shigelas son susceptibles a la tetraciclina, ampicilina, kanamicina, sulfamida, estreptomina, colistina, cloranfenicol y ácido nalidixico; sin embargo se han reportado cepas resistentes (31,35).

3.4. DEMOSTRACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *In Vitro*

En la actualidad son dos los métodos empleados para el estudio de la actividad antimicrobiana de plantas medicinales, métodos de

dilución y difusión. Estas técnicas han sufrido una serie de modificaciones para obtener mejores resultados. Algunos de estos factores son: composición del medio de cultivo, pH, microorganismos estudiados, método de extracción, etc., los cuales pueden cambiar los resultados.

3.4.1. Método de dilución

Las técnicas de dilución son aquellas que requieren una dispersión homogénea de la muestra en agua. Este método es usado para determinar, principalmente la concentración inhibitoria mínima (CIM) de un extracto, aceite esencial o una sustancia pura. Este puede ser usado en el tamizaje de actividad antimicrobiana.

En el método de dilución líquido, la turbidez es tomada como indicador de la densidad bacteriana. Cuando no hay crecimiento el medio permanece claro; cuando la muestra es inactiva frente al germen estudiado y hay crecimiento, este aparece turbio. El grado de inhibición es relacionado a la turbidez del medio que es medido por espectrofotometría (39).

Recientemente MacRae y colaboradores utilizan un método de dilución en agar modificado (40). Para hongos en este método se preparan cultivos de esporas a partir de cultivos maduros y se transfiere una alícuota al agar Sabouraud que contiene el extracto de la planta. Las placas se incuban a 20°C durante 14 días, luego se mide el diámetro de la colonia (40). Para bacterias y levaduras se utiliza el método de ensayo de discos de papel. En este método cultivos de una noche de incubación son aplicados en los discos de papel filtro Whatman No.1, de 6 milímetros de diámetro en alícuotas de 10 microlitros. Las placas son incubadas

a 30°C durante 24-48 horas y se mide el diámetro de inhibición de los discos (40).

Mitscher y colaboradores utilizan el método de estrias en dilución de agar para la determinación de la actividad antimicrobiana. En este método se preparan cajas de agar nutritivo conteniendo el extracto vegetal y se inocula una asada de la bacteria a ensayar, siguiendo un patrón de ocho partes iguales con una zona clara en el centro de la placa. Se incuba a 35°C por 24 horas. Los resultados se interpretan de la siguiente manera:

Crecimiento	+	=	Resistencia o no actividad
No Crecimiento	-	=	Inhibición o actividad antibacteriana (41).

3.4.2. Método de difusión

Una técnica que no requiere de dispersión homogénea en agua es el método de disco incrustado en el agar, agujero o cilindro como depósito. El depósito contiene la muestra a estudiar y se pone en contacto con un medio inoculado, después de incubado, el diámetro de la zona clara alrededor del depósito es medido. Este método fue originalmente usado para monitorear una serie de antibióticos en extractos puros.

En el orden de límite de detección más bajo, el sistema de inoculación puede ser guardado a bajas temperaturas antes de ser incubados, el cuál favorece la difusión a través del medio de cultivo y este incrementa el diámetro de inhibición. Esta técnica puede ser usada para obtener biogramas (39).

4. JUSTIFICACIONES

Guatemala es un país en el que predomina una población indígena, de aquí que la mayoría de la población se encuentra ubicada en las áreas rurales, que dependen principalmente de la agricultura y de los recursos existentes en el lugar. Por esta razón se observa que la biósfera del país se ve cada día más dañada a causa de la tala inmoderada de árboles, los cuales son una parte importante de la existencia humana, y que no sólo pueden servir como un medio para satisfacer necesidades de vivienda, alimentación y combustible, sino que además, éstos son usados como una forma de aliviar sus enfermedades y dolencias. Por esta razón se debe concientizar a la población en general de la importancia de preservar los bosques y sus productos que se encuentran tan escasos día a día e informar sobre el uso de las diferentes partes de un árbol, que en muchos casos son desechados como basura, sin saber que en éstas se encuentra la riqueza medicinal necesaria para aliviar sus males.

Por otra parte, en Guatemala como en muchos otros países de Latinoamérica, uno de los problemas de mayor importancia es el elevado índice de mortalidad por enfermedades infecciosas, siendo la población de escasos recursos la más afectada. Por tradición y accesibilidad, esta población frecuentemente recurre a la medicina natural para aliviar sus dolencias, como un sustituto de las medicinas del mercado, las cuales cada día resultan más inaccesibles por su elevado costo. Por esta razón es necesario realizar estudios que encaminen a la validación científica de la actividad antimicrobiana que a muchas de estas plantas se les atribuye y así beneficiar a los usuarios.

5. OBJETIVOS

5.1. GENERAL

Validar científicamente las plantas popularmente usadas en Guatemala en el tratamiento de infecciones.

5.2. ESPECIFICOS

5.2.1. Demostrar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos de *B. alicastrum*, *C. alata*, *Q. skinneri* y *T. rosea*.

5.2.2. Demostrar la actividad antimicótica *in vitro* de los extractos etanólicos de *B. alicastrum*, *C. alata*, *Q. skinneri* y *T. rosea*.

5.2.3. Establecer si las hojas o corteza tienen la actividad antimicrobiana atribuída.

6. HIPOTESIS

6.1. Por lo menos dos de los árboles en estudio, tienen acción inhibitoria *in vitro* sobre los microorganismos escogidos.

6.2. El mayor espectro de acción antimicrobiana de los árboles se encuentra en la corteza.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1. UNIVERSO DE TRABAJO

Cuatro árboles nativos de Guatemala a los que popularmente se les atribuye propiedades antimicrobianas: *Brosimum alicastrum*, *Cassia alata*, *Quercus skinneri* y *Tabebuia rosea*.

7.2. MUESTRA

Hojas y corteza de cuatro árboles nativos de Guatemala: *B. alicastrum*, *C. alata*, *Q. Skinneri* y *T. rosea*.

Cepas de seis bacterias:

- <i>Escherichia coli</i> enteropatógena	ATCC	9637
- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC	27853
- <i>Salmonella typhi</i>	ATCC	14028
- <i>Shigella flexneri</i>	INCAP	706608
- <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	6538
- <i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC	19615

Cepas de cinco hongos:

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

7.3. RECURSOS

7.3.1. Recursos Humanos

AUTOR: Ana E. Hernández Girón

ASESOR: Lic. Armando Cáceres

7.3.2. Recursos Materiales

7.3.2.1. Institucionales:

- Laboratorio y Droguería de Productos Fitofarmacéuticos, FARMAYA, S.A.
- Departamento de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

7.3.2.2. Materiales:

Jeringas de 60 mililitros
Frascos color ámbar
Varillas de vidrio
Embudos de vidrio
Pipetas automáticas calibradas
Cajas de petri
Tubos de ensayo
Asa calibrada
Mechero
Mangueras
Papel filtro Whatman No.1
Gasa

7.3.2.3. Reactivos:

Etanol al 50 por ciento
Agar Müller Hinton
Agar Sabouraud
Agar Mac Conkey
Agar Sabouraud para producción de esporas
(Takashio)
Agar Tripticasa soya
Caldo Tripticasa soya
Agar Sangre de Carnero al 5 por ciento

7.4. PROCEDIMIENTO

7.4.1. Extractos Vegetales

7.4.1.1. Recolectar las plantas en los departamentos de Escuintla, Baja Verapaz y Guatemala, para su posterior clasificación.

7.4.1.2. Secar las hojas y corteza de las plantas, cortar en pedazos pequeños y luego molerlos hasta que la estructura alcanzada sea homogénea. Almacenar en bolsas plásticas selladas.

7.4.1.3. Para la obtención de la tintura vegetal, se estandarizó el siguiente procedimiento:

7.4.1.3.1. Pesar 10 gramos de materia seca vegetal pulverizada y medir 40 mililitros de etanol al 50 por ciento, dejar reposar durante 24 horas.

7.4.1.3.2. Al día siguiente exprimir y recolectar el extracto.

Agregar a la materia húmeda 30 mililitros de etanol al 50 por ciento, dejar reposar 24 horas.

7.4.1.3.3. Exprimir al siguiente día y recolectar el extracto, agregar 30 mililitros de etanol al 50 por ciento, dejar reposar 24 horas.

7.4.1.3.4. Exprimir y recolectar. Juntar los extractos obtenidos durante los dos días anteriores para obtener el extracto total. Filtrar con papel filtro Whatman No.1

7.4.2. Antibacterianos

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

7.4.2.1. Preparar 9 mililitros de agar Müller Hinton + 1 mililitro del extracto vegetal de cada planta. Verter en una caja de Petri para su confrontación microbiana. Incubar a 35°C durante 24 horas para observar si hay crecimiento bacteriano, almacenar las cajas libres de contaminación a 4°C en bolsas plásticas.

7.4.2.2. Purificar el microorganismo a ensayar e inocular en un tubo con 8 mililitros de agar Tripticasa Soya inclinado, incubar a 35°C durante 24 horas (para bacterias) y 48 horas (para levaduras). Inocular una asada del cultivo puro microbiano en un tubo con 5 mililitros de Caldo Tripticasa Soya. Incubar a 35°C durante 24 horas, en el caso de bacterias diluir 100 microlitros de la suspensión en 10 mililitros de solución salina estéril (SSE) y en el caso de levaduras 1 mililitro de la suspensión en 10 mililitros de SSE.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Estéril

7.4.2.3. Inocular 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, dejar reposar durante 5-10 minutos e incubar a 35°C durante 24 horas, hacer cada muestra en cuádruplicado.

7.4.2.4. Observar la aparición de un crecimiento homogéneo en las zonas de incubación e interpretar de la siguiente forma:

Si hay crecimiento, (- = negativo) actividad negativo.

Si hay alteraciones morfológicas, (parcial = P).

Si hay apareamiento de colonias a lo largo del inóculo (resistencia = R).

Presencia de microorganismos fuera de las inoculaciones, (contaminación = C).

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

7.4.3. Antimicóticos

Preparación del medio (Método Takashio) para hongos (42).

7.4.3.1. Preparar agar Sabouraud modificado según la técnica de Takashio para la mayor producción de esporas (Agar-agua hecho de agar Difco 2 gramos y agua q.s. 100 mililitros, dilución 1:10), inocular los hongos a estudiar, incubar a 27°C durante 15 días. Agregar 3 mililitros de agua estéril a cada tubo y raspar con una varilla de vidrio para hacer una suspensión homogénea del hongo, mezclar esta suspensión con un Vortex. Hacer un conteo de esporas en una cámara de Neubauer para llevar a una concentración de 100 esporas/mililitro. Almacenar en viales a -4°C, hasta su utilización (42).

7.4.3.2. Preparar el agar-planta para hongos según la técnica de MacRae et al. (40) en la cual hay que preparar tubos de ensayo conteniendo 13.5 mililitros del medio Sabouraud estéril, aproximadamente a 50°C. Aún líquido el medio, agregar 1.5 mililitros del extracto del órgano a ensayar (dilución 1:10). Verter este agar-planta en cajas de petri estériles, esperar a que solidifique y posteriormente guardar en refrigeración durante 24 horas.

7.4.3.3. Perforar cuatro pocitos en el agar-planta, con la boca de una campanilla de Durham (3 milímetros de diámetro), inocular 30 microlitros de la suspensión de esporas preparada previamente, guardar en incubadora a 27°C durante 24 horas, posteriormente dar vuelta a las cajas petri, e incubar a 27°C durante 15 días.

7.4.3.4. Después de 15 días de incubación, medir los diámetros de crecimiento de las colonias alrededor de cada inóculo. Calcular el porcentaje de inhibición de crecimiento comparando el diámetro de crecimiento de las colonias control con el de las colonias en cajas con agar y planta. Tomar como positivos aquellos órganos de la planta que tengan un diámetro menor del 75 por ciento al del control.

7.4.4. Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM).

- Ensayar el órgano de la planta que demuestre mayor actividad en tres concentraciones (10, 7.5 y 5 miligramos/mililitro), en el caso de bacterias y levaduras confrontar los extractos con una bacteria Gram positivo y una Gram negativo (la que resulte más inhibida) y *Candida albicans*. En el caso de hongos confrontar los

extractos con el hongo que presente mayor inhibición en tres concentraciones (15, 10 y 5 miligramos/mililitro).

7.5. DISEÑO ESTADÍSTICO

Los resultados se analizaron por medio de una prueba binomial. Para la realización de la parte experimental se hizo un tamizaje para bacterias y uno para hongos para determinar el mejor órgano de los cuatro árboles en estudio, para cada árbol se probaron dos órganos, hoja y corteza, realizando cuatro repeticiones para cada uno.

7.5.1. Tamizaje para Bacterias

Se hizo un diseño de bloques al azar con un α de 0.1.

La prueba de hipótesis binomial fue:

Ho: El extracto no tiene efecto inhibitorio

Ha: El extracto si tiene efecto inhibitorio

Ho: Se rechaza si la probabilidad de error es menor a α
0.1 (Error tipo I)

Variable binomial

éxito = inhibición (+)

fracaso = no inhibición (-).

7.5.2. Tamizaje para Hongos

Se hizo un diseño al azar.

El criterio de clasificación fue:

Diámetro de crecimiento del control: 100 por ciento.

Diámetro de crecimiento de la planta: ?

Efecto inhibitorio:

Inhibición (+) el diámetro de crecimiento es $<$ o igual al 25 por ciento del diámetro del control.

No inhibición (-) el diámetro de crecimiento es $>$ 26 por ciento del diámetro del control.

Si hay inhibición el diámetro es $>$ o igual al 75 por ciento; inhibición (+). No hay inhibición el diámetro será $<$ o igual al 25 por ciento; no inhibición (-).

Variable binominal:

éxito = inhibición (+)

fracaso = no inhibición (-)

En el ensayo antibacteriano y antimicótico si las cuatro repeticiones son éxito entonces $p=0.062$ se concluye que la planta si tiene efecto.

7.5.3. CIM

Se utilizaron el o los órganos que presenten mayor actividad y tres concentraciones (10, 7.5 y 5 miligramos/mililitro) para bacterias y (15, 10 y 5 miligramos/mililitro) para hongos.

El diseño fue el mismo utilizado en el tamizaje de hongos y bacterias según fuera el caso.

8. RESULTADOS

En este estudio se seleccionaron cuatro árboles nativos de Guatemala usados popularmente para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales, respiratorias y de piel y mucosas. Los resultados del tamizaje de la actividad de hoja y corteza de *B. alicastrum*, *C. alata*, *Q. skinneri*, *T. rosea* se muestran en la Tabla 1.

TABLA 1
TAMIZAJE DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA
VEGETAL

PLANTA/PARTE 10 miligramos/mililitro	BACTERIAS					
	A	B	C	D	E	F
<i>B. alicastrum</i> (hoja)	-	-	-	-	-	-
<i>B. alicastrum</i> (corteza)	-	-	-	-	-	-
<i>C. alata</i> (hoja)	-	-	-	-	-	+
<i>C. alata</i> (corteza)	-	-	-	-	-	-
<i>T. rosea</i> (hoja)	-	-	-	-	-	-
<i>T. rosea</i> (corteza)	-	-	-	-	-	-
<i>Q. skinneri</i> (hoja)	+	-	-	-	+	+
<i>Q. skinneri</i> (corteza)	-	+	+	+	+	+

NOTA;

- A: *Escherichia coli*
 B: *Pseudomonas aeruginosa*
 C: *Salmonella typhi*
 D: *Shigella flexneri*
 E: *Staphylococcus aureus*
 F: *Streptococcus pyogenes*

+ = Inhibición (p=0.062)
 - = No Inhibición

La bacteria más inhibida fue *S. pyogenes*, mientras que el extracto que presentó mayor inhibición contra bacterias fue la corteza de *Q. skinneri*

La Tabla 2 muestra los resultados de la actividad antimicótica vegetal en la que se observa que *C. albicans* y *A. flavus* no son inhibidos por ninguno de los extractos ensayados, siendo *M. gypseum* y *T. rubrum* los más inhibidos.

TABLA 2
TAMIZAJE DE ACTIVIDAD ANTIMICOTICA
VEGETAL

PLANTA/PARTE 15 miligramos/mililitro	HONGO				
	A	B	C	D	E
<i>B. alicastrum</i> (hoja)	-	-	+	+	+
<i>B. alicastrum</i> (corteza)	-	-	-	+	+
<i>C. alata</i> (hoja)	-	-	+	+	+
<i>C. alata</i> (corteza)	-	-	+	+	-
<i>T. rosea</i> (hoja)	-	-	+	+	+
<i>T. rosea</i> (corteza)	-	-	+	+	+
<i>Q. Skinnerii</i> (hoja)	-	-	+	+	+
<i>Q. Skinnerii</i> (corteza)	-	-	-	-	+

NOTA:

A: *A. flavus*

B: *C. albicans*

C: *E. floccosum*

D: *M. gypseum*

E: *T. rubrum*

+ = Inhibición (p=0.062)

- = No Inhibición

Los resultados del tamizaje de bacterias con CIM se presentan en la Tabla 3. Puede observarse que no hubo inhibición en los extractos ensayados.

TABLA 3
DETERMINACION DE LA CIM PARA EL TAMIZAJE
DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA VEGETAL

BACTERIAS	PLANTA/miligramos/mililitro (parte)					
	<i>C. alata</i> (hoja)		<i>Q. skinneri</i> (hoja)		<i>Q. skinneri</i> (corteza)	
	7.5	5	7.5	5	7.5	5
A	nr	nr	-	nr	nr	nr
B	nr	nr	nr	nr	-	-
C	nr	nr	nr	nr	-	-
D	nr	nr	nr	nr	-	-
E	nr	nr	-	-	-	-
F	-	-	-	-	-	-

NOTA:

- | | | |
|----|----------------------|--------------------------|
| A. | <i>E. coli</i> | |
| B. | <i>P. aeruginosa</i> | nr = no se realizó |
| C. | <i>S. typhi</i> | + = Inhibición (p=0.062) |
| D. | <i>S. flexneri</i> | - = No inhibición |
| E. | <i>S. aureus</i> | |
| F. | <i>S. pyogenes</i> | |

La tabla 4 presenta los resultados del tamizaje de hongos con concentración inhibitoria mínima. Se puede observar que la concentración de 10 miligramos/mililitro aún muestra inhibición contra algunos hongos, mientras que a la concentración de 5 miligramos/mililitro no hay inhibición en ninguno de los casos.

TABLA 4
CIM PARA TAMIZAJE DE ACTIVIDAD ANTIMICOTICA
VEGETAL

PLANTA/miligramos/mililitro (parte)	HONGO		
	A	B	C
<i>B. alicastrum</i> (hoja)	10 5	+ -	- nr
<i>B. alicastrum</i> (corteza)	10 5	- nr	- nr
<i>C. alata</i> (hoja)	10 5	+ -	+ -
<i>C. alata</i> (corteza)	10 5	+ -	- nr
<i>Q. skinneri</i> (hoja)	10 5	+ -	+ +
<i>Q. skinneri</i> (corteza)	10 5	- nr	+ -
<i>T. rosea</i> (hoja)	10 5	+ -	- nr
<i>T. rosea</i> (corteza)	10 5	+ -	- nr

NOTA:

A. *A. floccosum* + = Inhibición (p=0.062)
 B. *M. gypseum* - = No Inhibición
 C. *T. rubrum* nr = no se realizó

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Para la realización de este estudio se efectuó la prueba de dilución en agar de Mitscher et al (41), que consiste en la elaboración de un agar-planta con dilución 1:10 sobre el cual se inocula mediante una estria las bacterias a ensayar. Esta prueba se hizo en sustitución de la prueba Bauer Kirby (41), la cual era más elaborada puesto que tenía que hacerse una impregnación de discos de papel con el extracto y sembrar la bacteria en toda la superficie de la caja de Petri, luego la lectura se hacía mediante la medición del halo de inhibición, el cual se comparaba con el control. Debido a lo expuesto anteriormente se hace muy difícil su aplicación por lo que desde hace ya varios estudios se utiliza la prueba de Mitscher et al (41).

Para los hongos se utilizó un agar modificado según la técnica de Takashio (42), para la mayor producción de esporas. El ensayo se hizo según la técnica de MacRae et al (40), la cual consiste en la elaboración de un agar-planta con dilución de 1:10, en el cual se inocula la suspensión de esporas en cuatro pocitos para luego ser confrontados con el crecimiento del hongo control estableciéndose un porcentaje de inhibición o no inhibición por parte de cada uno de los extractos ensayados.

La tabla 1 muestra el tamizaje de la actividad antibacteriana vegetal en la cual se observa que la hoja de *B. alicastrum* no inhibe ninguna de las bacterias ensayadas, por lo cual se puede decir que dicho órgano no tiene acción antibacteriana. La corteza tampoco muestra ninguna acción antibacteriana.

LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

C. alata (hoja), mostró una inhibición positiva con respecto a *S. pyogenes* mientras que la inhibición es negativa para el resto de las bacterias ensayadas, por lo que se puede decir que es activa contra microorganismos Gram positivo. La corteza no mostró ninguna inhibición contra las bacterias probadas.

La hoja de *Q. skinneri* muestra inhibición contra *E. coli*, *S. aureus* y *S. pyogenes*, por lo que se puede decir que es activa en un 50 por ciento en el presente estudio. La corteza de esta misma planta es el órgano que mayor acción antibacteriana presentó durante el estudio ya que la única bacteria que no fue inhibida fue *E. coli*, para la cual podría hacerse un nuevo estudio con una concentración mayor que la ya ensayada en el presente trabajo.

Para la hoja y corteza de *T. rosea* se observó que no poseen ninguna acción inhibitoria contra las bacterias ensayadas, por lo que deberían ser estudiadas con otro solvente o a concentraciones más altas del extracto.

El tamizaje de la actividad antimicótica vegetal se muestra en la tabla 2, en la cual se observa que *B. alicastrum* (hoja) presenta una inhibición micótica mayor del 50 por ciento ya que inhibió tres de los cinco hongos ensayados. La corteza, inhibió únicamente a *M. gypseum* y *T. rubrum*, observándose en el presente estudio que la hoja tiene mayor acción antimicótica que la corteza.

En cuanto a *C. alata* (hoja), también mostró una mayor acción positiva, ya que inhibió a tres de los cinco hongos ensayados (*E. floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum*), la corteza se observó que inhibió dos de los hongos (*E. floccosum* y *M. gypseum*), por lo que

también se destaca que la hoja tiene mayor acción antimicótica que la corteza.

En el tamizaje de la hoja de *Q. skinneri* hay una inhibición de tres hongos y en la corteza únicamente hay inhibición de un hongo (*T. rubrum*), este dato confirma aún más que la hoja es más activa que la corteza, lo que invalida la hipótesis postulada en un principio que trata de confirmar que la corteza tiene mayor acción inhibitoria que la hoja.

En cuanto a la hoja y corteza de *T. rosea* ambas mostraron una acción antimicótica mayor del 50 por ciento ya que ambas inhibieron tres de los cinco hongos ensayados. Por lo anterior puede decirse que la hoja de los cuatro árboles tiene la existencia de algún principio activo contra hongos.

En general durante el tamizaje de hongos se observó que *A. flavus* y *C. albicans* no fueron inhibidos por ninguno de los extractos ensayados, esto puede decirse que se debe a que la concentración del extracto es más baja que la que puede inhibir a dichos hongos, mientras que *M. gypseum* y *T. rubrum* fueron los hongos mayormente inhibidos durante el estudio.

Para la CIM del tamizaje de la actividad antibacteriana vegetal se efectuaron ensayos con los órganos que resultaron positivos durante el tamizaje, del cual se observó que la hoja de *C. alata* es activa contra *S. pyogenes* únicamente a concentraciones de 10 miligramos/mililitro, por lo cual puede probarse un nuevo solvente o hacer un estudio de CIM con concentraciones entre 10 y 7.5 miligramos/mililitro. En cuanto a la hoja de *Q. skinneri* se

observó que es activa hasta la concentración de 10 miligramos/mililitro contra *E. coli*, *S. aureus* y *S. pyogenes*, por lo que podría hacerse también un estudio a estas mismas concentraciones pero con un solvente diferente, mientras la corteza mostró un comportamiento similar, inhibición hasta 10 miligramos/mililitro.

La actividad antimicótica de los árboles es más alta, pues al observar la determinación de la CIM para el tamizaje, Tabla 4, se observó que la hoja de *B. alicastrum*, aún es activa a concentraciones de 10 miligramos/mililitro sobre *A. flavus* y *M. gypseum*, mientras que ya no es activa contra *T. rubrum*. La concentración de 5 miligramos/mililitro ya no es activa contra dichos hongos.

La corteza de *B. alicastrum* mostró acción a una concentración de 10 miligramos/mililitro, únicamente contra *M. gypseum*.

La hoja de *C. alata* se observó que aún es activa a concentración de 10 miligramos/mililitro contra los tres hongos ensayados, mientras que a la concentración de 5 miligramos/mililitro ya no lo es. La corteza es activa contra *E. floccosum* y *M. gypseum* a concentración de 10 miligramos/mililitro, mientras que para *T. rubrum* ya no es activa. La concentración de 5 miligramos/mililitro del extracto no mostró inhibición contra los hongos ensayados.

En relación a *Q. skinneri* se observó que la CIM de la hoja es hasta 5 miligramos/mililitro activa, en lo que respecta a la inhibición de *T. rubrum*, mientras que *E. floccosum* y *M. gypseum* son

inhibidos hasta la concentración de 10 miligramos/mililitro. La corteza es menos activa a una CIM de 10 mg/ mililitros, ya que únicamente inhibió a *T. rubrum*, mientras que a 5 miligramos/mililitro no lo inhibió.

La hoja y corteza de *T. rosea* tuvieron un comportamiento igual ya que ambos inhibieron a una CIM de 10 miligramos/mililitro a *E. floccosum* y *M. gypseum*, mientras que a 5 miligramos/mililitro no hubo inhibición alguna.

Según revisiones de estudios anteriores se observó que *T. rosea* fue ensayada contra *E. coli* y *S. aureus* obteniéndose que únicamente hay inhibición contra *S. aureus* cuando fue probado el extracto etanólico al 50 por ciento de la hoja, mientras que en el presente estudio se determinó que la hoja no posee acción antibacteriana contra ninguna de las bacterias ensayadas, por lo que se debería efectuar un nuevo estudio para confirmar la actividad de la hoja de *T. rosea* (43).

En lo que respecta a *B. alicastrum* también se efectuaron estudios con extracto etanólico al 50 por ciento acerca de la acción antimicótica de la hoja, obteniéndose que no tiene acción inhibitoria contra *E. floccosum*, *M. gypseum*, *T. rubrum* y *A. flavus*, mientras que en el presente estudio la hoja si muestra acción contra *E. floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum*, esto nos conduce a recomendar se hagan estudios posteriores con diferentes concentraciones nuevamente para verificar la acción de ésta (44).

Revisiones de estudios anteriores sobre *C. alata* muestran que el extracto etanólico de la hoja es un excelente antimicótico, mientras que en el presente estudio es únicamente activa contra *E. floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum* (45).

10. CONCLUSIONES

- 10.1. Las bacterias mayormente inhibidas fueron las Gram positivo, *S. aureus* y *S. pyogenes*.
- 10.2. La corteza de *Q. skinneri* es la que presenta mayor acción antibacteriana, aunque presenta ligera acción antidermatofítica.
- 10.3. *A. flavus* y *C. albicans* no fueron inhibidos por ninguno de los extractos etanólicos utilizados durante el estudio.
- 10.4. Todos los extractos demostraron actividad antidermatofítica; los extractos de las hojas tienen mas acción que los de las cortezas.
- 10.5. *T. rubrum* y *M. gypseum* son los dermatofitos inhibidos por la mayoría de los extractos utilizados a excepción de la corteza de *C. alata* y la corteza de *Q. skinnerii*.
- 10.6. En todos los casos de inhibición de dermatofitos la CIM es 10 miligramos/mililitro.
- 10.7. El tamizaje antimicrobiano *in vitro* demuestra la acción de estos arboles, por lo que se valida científicamente su uso popular.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

11. RECOMENDACIONES

11.1. Seguir utilizando las técnicas de Mitscher y MacRae para la validación científica del uso popular de las plantas medicinales.

11.2. Efectuar un estudio de fraccionamiento y separación para elucidar la molécula que posee la actividad antimicrobiana.

11.3. Enfocar a otros puntos farmacológicos que apoyen el uso popular de estas plantas.

11.4. Evaluar la toxicidad de los extractos con bioactividad.

12. REFERENCIAS

- 12.1. Cáceres A, Girón LM, Freire V. Plantas de uso medicinal en Guatemala: 1. Detección etnobotánica y bibliográfica. *Revista de la Universidad de San Carlos de Guatemala* 1990;9:55-61.
- 12.2. Cáceres A et al. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *J Ethnopharmacol* 1987;20:223-237.
- 12.3. Girón LM et al. Anticandidal activity of plants used for the treatment of vaginitis in Guatemala and clinical trial of a *Solanum nigrescens* preparation. *J Ethnopharmacol* 1988;22:307-313.
- 12.4. Cáceres A et al. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *J Ethnopharmacol* 1990;30:55-73.
- 12.5. Cáceres A et al. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against gram positive bacteria. *J Ethnopharmacol* 1991;31:193-208.
- 12.6. España SM, Cáceres A, Velez P. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 5. Vibriocidal activity of five american plants used to treat diarrhea. *Fitoterapia* 1994;65:273-4.
- 12.7. Cáceres A et al. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. II. Evaluation of antifungal activity of 7 american plants. *J Ethnopharmacol*

1993;40:207-213.

- 12.8. Cáceres A et al. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. *J Ethnopharmacol* (enviado a publicación), 1993.
- 12.9. Morton JF. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. USA: Charles C. Thomas, 1981. 1420p.
- 12.10. Guzmán D. Especies Útiles de la Flora Salvadoreña Médico-Industrial. Colección Biblioteca del Maestro. El Salvador: Ministerio de Educación. Tomo 1 No. 6, 1975. 300p.
- 12.11. Alvarez AH. Diccionario herbolario; Plantas curativas de la A a la Z. 2 ed. México: Posada, 1986. 310p.
- 12.12. Hardy C, Sutherland N. Plantas comunes de Honduras. Honduras: Editorial Universitaria. Universidad autónoma de Honduras, Tomo II, 1986. 922p.
- 12.13. Kozel C. Guía de Medicina Natural. Plantas medicinales. 6 ed. México: Editorial Omedin. Vol. 2, 1981. 413p.
- 12.14. Ocampo RA, Maffioli A. El Uso de Algunas Plantas Medicinales en Costa Rica. Costa Rica: Vol. 1, 1985. 95p.
- 12.15. Glasby JS. Dictionary of plants containing secondary metabolites. Londres: Taylor & Francis, 1991. 488p.
- 12.16. Standley PC, Williams LO. Flora de Guatemala. *Fieldiana: Botany*. 1952,24(10): 225-226.

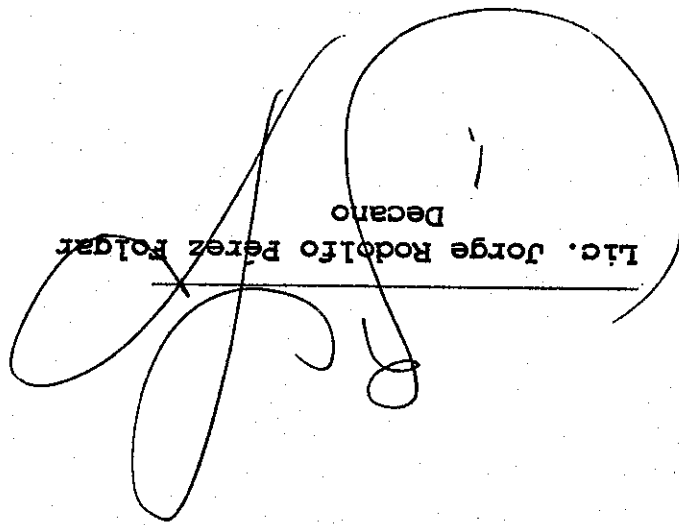
- 12.17. Geilfus F. El Arbol al Servicio del Agricultor. Manual de Agroforestería para el Desarrollo Rural. 2. Guía de especies. Santo Domingo, R.D.: Editorial Enda-Caribe y Catie, 1989. 778p.
- 12.18. Escobar N. Flora tóxica de Panamá. Richard Evans Schults, PhD. Panamá: Eupan, 1972. 780p.
- 12.19. Ronquillo M et al. Colecta y descripción de especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y medicina de las zonas semiáridas del nororiente de Guatemala, Cuadernos de investigación No. 7-88, USAC-DIGI. 1988. 249P.
- 12.20. Niembro A. Arboles y arbustos útiles de México. México: Limusa, 1990. 206p.
- 12.21. Martínez M. Las plantas medicinales de México. 5 ed. México: Botas, 1969. 656p.
- 12.22. Aragón UR. Caracterización preliminar del ramón (*Brosimum alicastrum* Swartz) *in situ*, en el bosque muy húmedo sub-tropical cálido del Péten. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Agronomía) 1990. 123p.
- 12.23. Póll E. Plantas comestibles y tóxicas de Guatemala. 2 ed. Guatemala: USAC, Centro de estudios conservacionistas CECON, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Serie de documentos ocasionales No. 1. 42p.
- 12.24. Pérez Toro A. Plantas forrajeras de Yucatán. México: Sisal, 1950. 38p.

- 12.25. Aguilar JI. Relación de unos aspectos de la flora útil de Guatemala. 2 ed. Guatemala: Tipografía Nacional de Guatemala, 1966. 383p.
- 12.26. Lepe L. Pan dulce de harina de semilla del árbol ramón (*Brosimum alicastrum* Swartz) Guatemala, s.n. 1984. 3p.
- 12.27. Standley PC, Williams LO. Flora de Guatemala. *Fieldiana: Botany*. 1952,24(3):394-395.
- 12.28. Martínez M. Las plantas medicinales de México. 3 ed. México: Botas, 1992. 657p.
- 12.29. Mendieta RM. Plantas medicinales del estado de Yucatán. Instituto Nacional de Investigación sobre Recursos Bióticos. México: Editorial Continental, S.A. de c.v., 1981. 224p.
- 12.30. Dubelcco R, Bernard D. Tratado de microbiología. 2 ed. México: Salvat, S.A., 1979. 1559p.
- 12.31. Jonklik W, Willet H, Amos B. Microbiología de Zinsser. 18 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1987. 1453p.
- 12.32. Logemann H, Herías M, Quevedo JC. Manual de enfermedades infecciosas IV. USAC: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Química Biológica, Departamento de Microbiología. 1991.

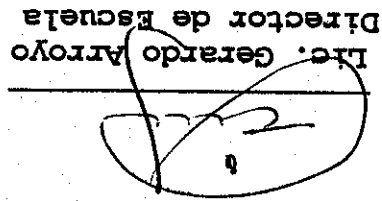
- 12.33. Restrepo A. Micosis asociadas al paciente inmunocomprometido; aspergilosis. Memorias I Congreso Centroamericano, I Congreso Nacional de Micología, Guatemala, 1992. pp. 55-56.
- 12.34. Sidney F, William M. Bailey-Scott Diagnóstico Microbiológico. 6 ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 1983. 670p.
- 12.35. Lennette E et al. Manual of clinical microbiology. Washington: American society for microbiology, 1985. 1149p.
- 12.36. Pelczar M, Reid R, Chan ECS. Microbiología. 2 ed. México: McGraw-Hill, 1982. 825p.
- 12.37. Levine MM. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic and enteroadherent. *J Infect Dis* 1987; 155(3):377-387.
- 12.38. Roy SK et al. Diarrhea associated with typhoid fever. *J Infect Dis* 1985; 151(6):1138-1142.
- 12.39. Ríos JL, Recio MC, Villar A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *J Ethnopharmacol* 1988;23:127-149.
- 12.40. Macrae WD, Hudson JB, Towers GHN. Studies on the pharmacological activity of *Abutilon* Euphorbiaceae. *J Ethnopharmacol* 1988;22:143-172.

- 12.41. Mitscher LA. *et al.* A modern look at folkloric use of anti-infective agents. *J Nat Prod* 1987;50(6):1025-1040.
- 12.42. Vanbreuseghem R, De Vroey C, Takashio M. Production of macroconidia by *Microsporium ferrugineum* OTA 1922. *Sabouraudia* 1970;7:252-256.
- 12.43. Reyes EM. Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la Flora Salvadoreña. El Salvador: Planter, 1989(1):92.
- 12.44. Mendiá, BP. Actividad Antifúngica de Tinturas de Plantas de uso Popular en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduacion, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1994. 68p.
- 12.45. Posset, JL. Plantas Medicinales Africanas. France: Utilisation Pratique Agence de Cooperation Culturelle et Technique, 1987. 105p.

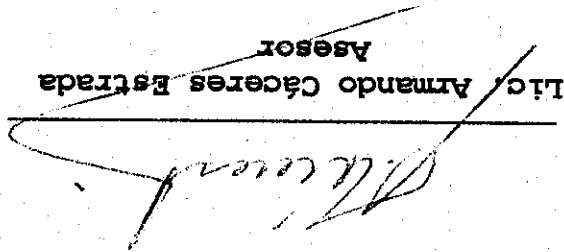
Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano



Lic. Gerardo Arroyo
Director de Escuela



Lic. Armando Cáceres Estrada
Asesor



Br. Ana Esperanza Hernández Giron
Testista

