

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

**“ INHIBICION DEL CRECIMIENTO DE
Gardnerella vaginalis POR SEIS PLANTAS DE USO MEDICINAL DE
LA FLORA SUROCCIDENTAL GUATEMALTECA “**



**Informe de Tesis
Presentado por**

MARIA DEL CARMEN PALACIOS VILLATORO

**Para optar al título de
QUIMICA BIOLOGA**

GUATEMALA, NOVIEMBRE 2004

INDICE

CONTENIDO	PAGINAS
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	2
III. ANTECEDENTES	3
IV. JUSTIFICACION	20
V. OBJETIVOS	21
VI. HIPOTESIS	22
VII. MATERIALES Y METODOS	23
VIII. RESULTADOS	29
IX. DISCUSION DE RESULTADOS	32
X. CONCLUSIONES	34
XI. RECOMENDACIONES	35
XII. REFERENCIAS	36
XIII. ANEXOS	42

I. RESUMEN

La vaginosis causada por la bacteria *Gardnerella vaginalis* es la infección vaginal que con mayor frecuencia se presenta en ginecología y es responsable del 40 al 50% de los casos. El tratamiento de elección es el metronidazol pero no se recomienda porque puede causar efectos colaterales en las pacientes. En el suroccidente de Guatemala *Acalypha pseudoalopecuroides*, *Hypericum uliginosum*, *Salvia lavanduloides*, *Solanum americanum*, *Tithonia diversifolia* y *Vernonia deppeana* son plantas conocidas popularmente para tratar infecciones vaginales por lo que el propósito de este estudio es comprobar la actividad que poseen los extractos etanólicos de dichas plantas en presencia de la bacteria, conocer el valor de la menor concentración a la que inhiben su crecimiento y validar con ello las propiedades curativas que se les atribuyen.

Para la obtención de cada uno de los extractos etanólicos se recolectaron las plantas, fueron secadas, molidas y pesadas. Se realizó la extracción de cada extracto utilizando alcohol al 95% y luego se concentró cada uno en el rotavapor utilizando para ello evaporación al vacío. A cada uno de los extractos etanólicos se les determinó su actividad en presencia de una cepa de *Gardnerella vaginalis*, la cuál se obtuvo a través de un muestreo realizado en mujeres con infección vaginal que asistieron a la consulta externa de tres instituciones públicas del país.

La actividad de las plantas se determinó preparando una mezcla de agar-extracto en cajas de petri obteniendo una concentración de extracto de 1 mg/ml, en éstas cajas se inoculó la cepa de *Gardnerella vaginalis* obteniéndose una inhibición del crecimiento de la bacteria en tres de los seis extractos utilizados *Salvia lavanduloides*, *Solanum americanum* y *Vernonia deppeana*. A estos extractos se les determinó el valor de la menor concentración a la que inhiben el crecimiento de la bacteria utilizando para ello 1, 0.5 y 0.25 mg/mL como valores de concentración de cada extracto. *Solanum americanum* inhibió el crecimiento de la bacteria a una concentración de 0.5 mg/mL por lo que su actividad biocida es intermedia de acuerdo al valor de las concentraciones utilizadas, además, presentó el mayor porcentaje de rendimiento 28.30% luego de su obtención por extracción.

Con éstos resultados el extracto de *Solanum americanum* se podrá utilizar como una alternativa natural para el tratamiento de afección vaginal ocasionada por *Gardnerella vaginalis*. Los extractos de *Salvia lavanduloides* y *Vernonia deppeana* demostraron actividad antigardnerella a una concentración de 1mg/mL, pero al no presentar ninguna actividad biocida en concentraciones lo suficientemente bajas, no se considera útil para el desarrollo de un producto fitofarmacéutico.

II. INTRODUCCION

Dentro de las infecciones ginecológicas, la vaginosis es uno de los problemas más comunes en mujeres en edad reproductiva y es causada principalmente por tres tipos de microorganismos: *Gardnerella vaginalis* (bacteria), *Trichomonas vaginalis* (protozoo) y *Candida albicans* (levaduras), en dónde la bacteria predomina ya que prevalece en 40 a 50% de las infecciones vaginales. Antiguamente se consideraba un proceso benigno pero en la actualidad y especialmente en mujeres embarazadas constituye un factor predisponente de cáncer, esterilidad, salpingitis aguda, aborto, embarazo ectópico, parto prematuro y complicaciones neonatales y perinatales.

Los derivados de los nitroimidazoles son las drogas de elección para el tratamiento de vaginosis bacteriana, de ellos el metronidazol es el fármaco más utilizado porque ha demostrado resultados satisfactorios, pero es poco seguro por ello no se recomienda administrarlo en madres lactantes, además de causar efectos secundarios como náuseas, vómitos, mareos, diarreas, sequedad de la boca y dolor de cabeza entre otros.

Guatemala por su condición de país en desarrollo y su ubicación tropical presenta un panorama epidemiológico en el que predominan las enfermedades infecciosas y parasitarias como causas principales de morbilidad y mortalidad. Por la gran diversidad de flora que se posee y la herencia cultural de nuestros antepasados se ha desarrollado una marcada influencia en el uso de la medicina tradicional con plantas, especialmente en áreas rurales se tiene un mayor acceso a ellas y por ello recurren al uso de las mismas, además porque se les atribuyen propiedades curativas contra muchas enfermedades pero en la mayoría de los casos no cuentan con un respaldo farmacológico que validen su utilización.

Por lo anterior, en este estudio se tuvo como objetivo principal comprobar el efecto inhibitorio y el valor de la concentración mínima *in vitro* que poseen los extractos etanólicos obtenidos, utilizando técnicas establecidas de extracción por percolación y concentración en rotavapor de seis plantas medicinales utilizadas con frecuencia en el suroccidente de Guatemala para el tratamiento de afecciones vaginales sobre el crecimiento de una cepa de *Gardnerella vaginalis*, obtenida luego de que en instituciones Guatemaltecas se tomaron muestras en mujeres con sintomatología de infección vaginal, y poder recomendar la utilización de las plantas como alternativa para el tratamiento de la infección.

III. ANTECEDENTES

A. Enfermedades de transmisión sexual.

Las enfermedades de transmisión sexual son un grupo diverso de infecciones, causadas por agentes microbianos biológicamente diferentes, que se agrupan por ciertas características clínicas y epidemiológicas comunes (1). Existe un gran número de enfermedades que se transmiten por contacto sexual y son muchos los organismos que las causan. La transmisión de estas enfermedades se efectúa sólo por contacto íntimo con una persona infectada, ya que los organismos que las producen mueren con rapidez si se les separa del cuerpo humano. Aunque las infecciones de transmisión sexual comienzan en los genitales externos, se pueden extender también al útero, ovarios, trompas de falopio, próstata, testículos y órganos cercanos. La mayoría de estas infecciones generalmente causan exudado vaginal, irritación vulvar, prurito y ligeros dolores.

El carácter epidémico de las enfermedades de transmisión sexual da testimonio de la dificultad de controlarlas. Algunos organismos oficiales de salud pública atribuyen el incremento de muchas de estas enfermedades al aumento de la actividad sexual (2), aunque no es la actividad sexual en sí; sino el número y tipo de diferentes compañeros sexuales lo que determina el riesgo de adquirirlas (1).

El tratamiento básico es mediante antibióticos, una de las formas existentes para prevenir su propagación es identificar a las personas con las cuales ha tenido contacto sexual la persona infectada y determinar si también lo necesitan. Por lo general esto se lleva a cabo en los centros de salud pública, que es donde se informa de la mayor parte de ellas (2).

B. Infección genito-urinaria.

Este tipo de infección es uno de los problemas más comunes en el área de Ginecología y es causada principalmente por tres tipos de microorganismos: *Gardnerella vaginalis* (bacteria), *Trichomonas vaginalis* (protozoo) y *Candida albicans* (levaduras). Otras causas menos frecuentes son por *Neisseria gonorrhoeae*, *Escherichia coli*, clamidias, estreptococos, estafilococos y herpes virus (3).

En los años reproductivos aparece una secreción vaginal normal que incluye varios componentes como agua, células epiteliales, compuestos de proteínas y carbohidratos,

microorganismos, electrolitos y ácidos grasos orgánicos. Dependiendo de su composición ésta puede ser blanca, lechosa, acuosa o mucoide y proviene principalmente del cuello del útero (cérvix) o de la descamación de las células vaginales. Por el contrario, en caso de una infección se presenta una secreción de aspecto grisáceo homogéneo y de baja viscosidad (4).

La vagina normalmente tiene que mantener un estado de acidez (pH 3.5 a 4.5) que da las condiciones naturales para que los microorganismos que la habitan estén en perfecto balance, si por algún motivo el ambiente natural de la vagina cambia; el nivel normal de acidez cambia y este balance se pierde, se producirán entonces las condiciones ideales para el crecimiento rápido y sin control de microorganismos y por ende la infección vaginal (4, 5).

Los síntomas que llevan a muchas mujeres jóvenes a la consulta del médico son: secreción vaginal aumentada, coloración anormal de la secreción, prurito vulvar, fetidez vaginal, sensación de irritación o quemazón, a menudo con disuria externa, dispareunia vulvar ó sangrado anormal (menorragia o metrorragia) (6). Estas infecciones pueden dejar secuelas graves y favorecer a veces la transmisión sexual del virus de inmunodeficiencia humana.

Las causas más frecuentes de infecciones en la mujer son estrés, debilidad general, mala nutrición, cambios hormonales (menopausia, embarazo), irritación vaginal, pastillas anticonceptivas, tratamientos con antibióticos y otros medicamentos que alteran la flora normal vaginal (7).

Dentro de las recomendaciones para el tratamiento de la infección vaginal se debe tomar en cuenta el uso de ropa interior de algodón, evitando fibras sintéticas. Es importante que los dos miembros de la pareja tomen el tratamiento siempre que se presente la infección ya que de esta manera se evitará la reinfección de un miembro de la pareja al otro. Una alimentación adecuada es importante y debe ser basada en granos, sopas y vegetales, preferiblemente evitar la carne, incluir limones y frutas en la dieta. Lo más prudente antes del tratamiento es visitar al médico para tener un diagnóstico correcto del tipo de microorganismo que esta produciendo la infección, estudiar la causa y corregirla, para evitar recurrencia de la enfermedad (2).

C. Citopatología cervicovaginal.

Banner (1974) menciona que la vagina es un excelente medio de cultivo por estar constantemente húmeda y caliente. El contenido vaginal inerte está constituido por una serie de productos de desecho, tanto orgánicos como inorgánicos. También forman parte de él: muco polisacáridos, sangre, células de las zonas altas del útero y trompas de falopio, así como

saprofitos que pululan en la vagina. Se ha comprobado que la vagina de la recién nacida no contiene gérmenes, pero a las 24 horas de vida se puebla de ellos, y es posible encontrar estreptococos no hemolíticos, difteroides y enterococos. A los 4 días penetran en la vagina lactobacilos del intestino, que desaparecen al cabo de una semana. En la niñez, mientras no hay tono estrogénico, se mantiene una flora mixta abundante, así como *Escherichia coli*, que vuelve a encontrarse de nuevo en la vejez. En proporción creciente van tomando parte lactobacilos acidófilos que representan la flora fisiológica ó barrera microbiológica durante la madurez sexual (8). Los lactobacilos acidófilos o de Döderlein son bacterias de tipo recto, semitransparentes, inmóviles que pueden alcanzar distintos tamaños, sólo pueden vivir en la vagina cuando las condiciones hormonales les son favorables es por ello, que el déficit hormonal, así como las distintas agresiones, pueden neutralizar de forma sustancial esa función autodefensiva depuradora biológica que posee la vagina (9).

Otra función interesante es la permeabilidad de su pared, se ha comprobado que a través de ella se pueden absorber sustancias, y también es posible que se eliminen. Este aspecto tiene una importancia grande en la aplicación local de productos terapéuticos, puesto que hay sustancias que no producen reacciones secundarias pero hay otras que sí lo hacen al penetrar e irrumpir en la vía general, pudiendo constituirse en tóxicos para el organismo (8).

D. Vaginosis bacteriana.

Este síndrome (al que previamente se llamó vaginosis inespecífica, por *Haemophilus*, anaerobia o secreción vaginal asociada a *Gardnerella*) es la infección vaginal más común que afecta cada 1 de 5 mujeres de la edad reproductiva además de ser responsable del 40 al 50% de los casos de vaginitis que se reportan (10). Es el tipo más frecuente de vaginosis infecciosa, se ha reportado en 20.1% de mujeres embarazadas, 13.5% de pacientes en planificación familiar y en 1.7% de adolescentes (11). Se caracteriza por mal olor vaginal, aumento ligero o moderado de leucorrea y aspecto homogéneo con escasa viscosidad que cubre de manera uniforme toda la mucosa vaginal (1, 3, 12-14). El líquido vaginal de las mujeres con vaginosis bacteriana se caracteriza por una prevalencia y concentración notablemente aumentadas de *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* y varias bacterias anaerobias (por ejemplo especies de *Mobiluncus*, *Prevotella* (antes llamada *Bacteroides*) y algunas especies de *Peptostreptococcus*). Por el contrario, no suele haber especies de *Lactobacillus* productoras de peróxido de hidrógeno, que constituyen la mayor parte de la flora vaginal y que contribuyen a la protección frente a determinadas infecciones cervicales y vaginales (12). Se ha asociado con aumento en la

concentración de elastasa, mucinasa y sialidasa en la vagina y en el cuello uterino (15). Los neutrófilos segmentados no constituyen un componente importante de la secreción vaginal, lo que sugiere que los microorganismos no invaden el tejido subepitelial. Por esta razón, el cuadro se denomina “vaginosis” en lugar de “vaginitis” (16).

1. Agente etiológico.

Gardner y Dukes en 1955 (17) ubicaron originariamente este microorganismo dentro del género *Haemophilus*. En 1963 (18), Zinneman y Turner recomendaron colocar el *Haemophilus vaginalis* dentro del género *Corynebacterium* porque era positivo en la coloración de Gram. Sin embargo, el análisis realizado de la pared celular, la relación de guanina más citosina y los estudios con el microscopio electrónico demostraron que el *Haemophilus vaginalis* era diferente del *Corynebacterium* y que tenía la morfología celular y la composición bioquímica de un verdadero bastoncillo gramnegativo. Por lo que se le ha ubicado dentro de un nuevo género, *Gardnerella* (9).

Gardnerella vaginalis es un microorganismo que desde el punto de vista morfológico tiene el aspecto de un bacilo pleomórfico de aproximadamente 0.5 μm de diámetro y 1.5-2.5 μm de longitud. Es gramnegativo a gramvariable y la retención de la tinción de Gram es más pronunciada en los cultivos jóvenes de 8 a 12 horas de incubación (16). A menudo se observan formas de palo de golf y gránulos metacromáticos. El microorganismo es inmóvil y no tiene cápsula. La mayor parte de las cepas son anaerobias facultativas y exigentes en cuanto a sus requerimientos nutricionales (19, 20) aunque puede cultivarse con éxito en medios enriquecidos parcialmente selectivos (1). A diferencia del género *Haemophilus*, los miembros del género *Gardnerella* no requieren hemina (factor X) ni nucleótidos de nicotinamida y adenina (factor V) por lo que en un agar adecuado y enriquecido con sangre humana se observa la producción de una β -hemólisis difusa ocasionada por el microorganismo (12-16).

2. Patología y sintomatología.

Los factores predisponentes para el desarrollo de vaginosis bacteriana en la mujer son: pH de la vagina menos ácido de lo normal, ausencia o disminución de la microbiota normal, principalmente bacilo de Döderlein y deficiencia de estrógenos que disminuyen el glucógeno de las células vaginales (1, 3, 8).

En más del 50% de mujeres con la infección no se presentan síntomas, en otros casos suelen ser leves pero en 95% de las pacientes se hacen evidentemente molestos (14, 15). Se produce una descarga vaginal purulenta con un olor característico mohoso ó a pescado que es desagradable posee un color grisáceo o blanco que se pega a las paredes de la vagina, posee viscosidad baja y homogénea, ocasiona molestias como prurito ó irritación vaginal porque el pH de la secreción vaginal se eleva (8, 12). Cuando la afección es antigua se afecta secundariamente la vulva por el contacto de la secreción patógena vaginal y da lugar a irritación de los labios y perineo por lo que es frecuente que la paciente manifieste tener ardor urinario y dispareunia (15).

Se pueden distinguir en el cuadro clínico de la enfermedad tres estadios: la fase aguda en la que hay flujo y signos de cervicitis (inflamación de cérvix), la fase subaguda que regularmente sólo manifiesta flujo y la fase crónica que es prácticamente asintomática (8). Es frecuente que la infección se presente en mujeres con vida sexual activa, por consiguiente la principal forma de transmisión es por contacto sexual. Aunque solo se ha aislado en 80% de varones parejas de mujeres contaminadas, se puede observar esta infección en adolescentes sin vida sexual (21). La tricomoniasis y la vaginosis bacteriana se relacionan con cuadros vaginales similares en donde principalmente se presenta prurito y secreción purulenta con mal olor. Antiguamente, la vaginosis se consideraba un proceso benigno pero hoy se sabe que es factor de riesgo de salpingitis aguda, parto prematuro, complicaciones neonatales y perinatales (22-24).

3. Diagnóstico.

El diagnóstico clínico se basa en datos subjetivos y en evidencias de infección, los síntomas varían de irritación y prurito moderado a un severo prurito vulvar con intenso dolor. El diagnóstico diferencial incluye gonorrea, candidiasis, tricomoniasis, endometriosis, infecciones estafilocócicas y enfermedad inflamatoria pélvica (1, 4). En las preparaciones citológicas en fresco con solución salina, se observa discreto número de leucocitos polimorfonucleares y abundantes cocobacilos adherentes (*Gardnerella vaginalis*) que cubren por completo la superficie de las células epiteliales las cuáles están punteadas y tienen aspecto granular (células clave) (1). La adición de una gota de KOH al 10% suele producir un desagradable olor a pescado del tipo de las aminas (prueba de Whiff). El pH de las secreciones vaginales casi siempre es mayor de 4.5 (9, 13, 14). La tinción de Gram permitirá la observación de bacilos pequeños gramnegativos intracelulares acompañados de poca flora normal (lactobacilos) y poca cantidad de leucocitos (10, 25, 26).

Gardnerella vaginalis no crece en agar-común ni en la mayoría de los medios usuales de laboratorio. Se recomienda la siembra del exudado en agar-vaginalis, agar-peptona-almidón-glucosa, agar Columbia con colistina, nalidíxico y anfotericina B con sangre humana en dos capas (agar HB); o en medio HBT, igual al anterior adicionado de Tween 80. Puede utilizarse también el agar V que contiene una base de Columbia CNA, con proteosa-peptona 3 y sangre humana (16). Los cultivos habitualmente necesitan más de 24 horas para desarrollarse, después de 24 a 48 horas de incubación a 35°C y en atmósfera de CO₂ al 7%, se obtienen unas colonias pequeñas que miden 0.5-1mm de diámetro, son lisas, redondas, opacas y β-hemolíticas (16, 27). Bioquímicamente las pruebas de oxidasa y catalasa son negativas, es sensible a 5 µg de trimetoprim sulfametoxazol en el medio de cultivo, lo que permite la diferenciación con otros géneros afines (9). La mayoría de las cepas hidrolizan el hipurato de sodio y producen ácido a partir de glucosa, maltosa, sacarosa y almidón pero no de manitol (16).

Habitualmente, el diagnóstico de la vaginosis bacteriana se establece mediante los Criterios de Amsel, consistentes en tres de las cuatro alteraciones clínicas que se mencionan a continuación: a) signos objetivos de mayor secreción blanquecina y homogénea, b) secreción vaginal con pH mayor de 4.5, c) desprendimiento de un claro olor a pescado (atribuible a aminas volátiles como la trimetilamina, cadaverina o putrescina) inmediatamente después de mezclar la secreción vaginal con una solución de KOH al 10% y d) la demostración microscópica de “células clave, guía ó indicadoras” en una preparación montada en fresco de la mezcla de la secreción vaginal con solución salina normal en proporción 1:1 (21, 22, 25, 26). En la actualidad una nueva tarjeta facilita la detección de un pH vaginal mayor de 4.5 y de trimetilamina en las secreciones vaginales, y una nueva tira reactiva permite demostrar la presencia de la aminopeptidasa de prolina, enzima asociada a éste síndrome (12).

Se ha demostrado, tras una tinción de papanicolaou, el aspecto detallado de la colonización celular por la *Gardnerella vaginalis*, aunque en menor grado se observan bacilos extracelulares. Las células intermedias se consideran patognomóticas de vaginitis por *Gardnerella vaginalis*. En general, las alteraciones celulares inflamatorias del frotis vaginal son muy discretas pero a través de la citología teñida por el método de Papanicolaou, el frotis presenta las siguientes características: a) En el aspecto general del frotis suelen observarse extensiones limpias aunque exista una leve infiltración leucocitaria, es curioso señalar que en ningún caso se ha detectado la coexistencia de bacilos de Döderlein. El dato fundamental es la presencia de *Gardnerella vaginalis* tanto sobre las células como extracelularmente, se presenta a

manera de cocobacilos apelotonados que dificultan la observación de las células. b) En las alteraciones sobre el núcleo es frecuente encontrar células intermedias con núcleos picnóticos y halos perinucleares. c) En el citoplasma lo más característico es encontrarlo completamente cubierto por los gérmenes, de tal forma que aparece la célula como rebozada (célula clave), a manera de croqueta, lo cual hace imposible observar el límite citoplasmático, que se pierde por completo (8).

4. Tratamiento.

El metronidazol es un derivado nitroimidazólico, sintético, fue utilizado por primera vez en Francia (28) e introducido en los Estados Unidos en 1960 para el tratamiento de infecciones producidas por *Trichomonas vaginalis* (29), sin embargo, una década más tarde fue reconocida su actividad frente a gérmenes anaerobios como *Gardnerella vaginalis* (30). Se investiga el tratamiento óptimo ya que éste es efectivo pero poco seguro, se recomienda el uso de 500 mg del medicamento dos veces al día durante siete días (1, 12), como alternativa se utiliza la dosis única de 2 g de metronidazol recomendada para la tricomoniasis ya que produce buenos resultados a corto plazo de vaginosis bacteriana. Para un tratamiento tópico intravaginal se utilizan óvulos de metronidazol por espacio de 7 a 10 días. La clindamicina en crema al 2% (5 g) es efectiva para vaginosis y se aplica durante siete noches (12), además, 500 mg diarios de azitromicina son efectivos durante tres días. Son ineficaces las cremas vaginales que llevan sulfamidas, y la tetraciclina. Es importante mencionar que el tratamiento de la pareja no parece evitar las recidivas por lo que no está indicado (22).

No se recomienda el uso del metronidazol en madres lactantes, ya que éste se excreta en la leche materna y algunos estudios realizados en animales de experimentación y en bacterias han demostrado que el medicamento es carcinogénico y puede producir efectos adversos en el lactante (30). Sin embargo, si es necesaria su utilización, durante el tratamiento, la leche materna debe ser extraída y desechada. La lactancia se puede reanudar en un periodo de 24 a 48 horas después de completar el tratamiento. El metronidazol es capaz de cruzar la placenta y la barrera hematoencefálica entre otros, por lo que se han probado gran cantidad de tratamientos; básicamente consisten en aumentar la acidez de la vagina por medio de cremas, preparados que incrementen el crecimiento de lactobacilos y agentes acidificantes como óvulos de ácido pícrico, medicamentos tóxicos para la bacteria como el antimonio sistémico y los arsenicales como la carbasona y la acetarsona (10, 31).

Existe controversia respecto al uso del metronidazol por los diversos efectos colaterales que causa, como: diarreas, náuseas, mareos, dolor de cabeza, dolor o calambres abdominales, irritación gástrica, sequedad en la boca, lengua pilosa, sabor desagradable, alteraciones electrocardiográficas, arritmias, neuropatías periféricas, cefalea, exantema y parestesias (31, 32). Hay ciertos indicios de que el microorganismo está desarrollando resistencia o tolerancia al fármaco (33), el mecanismo principal de resistencia se da por la aparición de mutaciones que producen una disminución en la reducción intracelular del fármaco y por lo tanto de producir sus derivados activos (30).

En un estudio realizado en la India se comprobaron actividades antibacterianas, antifúngicas, antiprotozoarias, antihelmínticas, antivirales, antiespiroquetales, contra la fertilidad, hipoglicémicas, cardiovasculares y anticancerosas; en éste se utilizaron alrededor de 157 plantas de familias diferentes con principios antimicrobianos y 285 plantas de uso popular con múltiples usos atribuibles (34).

En nuestro país se han realizado valiosos estudios que han demostrado la utilidad y efectividad farmacológica de una amplia gama de plantas medicinales, entre éstos, se comprobó la acción del *Solanum nigrescens* para el tratamiento de vaginitis causado por *Candida albicans* en 1988 (35). En 1990 se demostró la efectividad *in vitro* de extractos acuosos vegetales contra *Trichomonas vaginalis* (36). Se experimentó la actividad antibacteriana contra *Gardnerella vaginalis* en 1993, demostrando efectividad del *Solanum nigrescens* (5). El principio activo se demuestra por He y col. en 1994 (37). En un estudio de tamizaje antibacteriano, el espectro de inhibición demostró que 20% cepas de *Salmonella typhi*, 50% de *Staphylococcus aureus* y 15% de *Pseudomonas aeruginosa* son inhibidas por el extracto etanólico de *Solanum nigrescens* (38).

Estudios antimicóticos *in vitro* de *Acalypha guatemalensis* demuestran que la decocción de las hojas tiene actividad contra *Epidermophyton floccosum*, no así contra *Candida albicans* y otros dermatofitos ensayados (39, 40). Estudios antibacterianos *in vitro* demuestran que la maceración hidroalcohólica de las hojas de *Acalypha guatemalensis* inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Shigella flexneri* no así de otros microorganismos causales de infección de la piel y mucosas como *Candida albicans* y *Escherichia coli* (41). Las hojas y ramas colectadas en Panamá, no mostraron actividad citotóxica en los cultivos de células humanas CA-Colon-CO-115 (42). Estudios realizados en Guatemala demuestran que el extracto acuoso de las hojas produce una elevación del volumen urinario excretado en un modelo experimental farmacológico de tamizaje en ratas, pero no presenta una actividad uricosúrica significativa (43).

E. Plantas medicinales.

Son todas aquellas plantas que contienen, en alguno de sus órganos, principios activos, los cuales, administrados en dosis suficientes, producen efectos curativos en las enfermedades de los hombres y de los animales en general. Se calcula en unas 260,000 las especies de plantas que se conocen en la actualidad, de las que el 10% se pueden considerar medicinales, es decir, se encuentran recogidas en los tratados médicos de fitoterapia, modernos y de épocas pasadas, por presentar algún uso medicinal. Evidentemente, sobre todo en las regiones montañosas, la proporción de especies medicinales puede variar sensiblemente de este porcentaje, ya que ni siquiera se conoce la totalidad de la flora.

La fitoterapia tiene sus orígenes en los albores de la humanidad, desde que aparecen registros o referencias fiables. Al principio se utilizaba a través de rituales mágicos. El uso, desde tiempos antiguos, de las plantas para curar se pone de manifiesto por la existencia de herbarios desde la época de los sumerios, asirios, babilonios o fenicios. El *Papiro de Ebers* (1700a.C), con más de 20m de longitud, encontrado en las ruinas de Luxor, ya recoge, por ejemplo, el uso medicinal de 700 plantas, como el ajo o la adormidera. En China y el resto de Asia el uso de las plantas para tratar enfermedades se remonta a más de 10,000 años. Sin embargo, fueron griegos y romanos los primeros en sistematizar en Occidente, a través de sus escritos, el estudio de las plantas medicinales. Así, Dioscórides, en su obra *De Materia Medica*, describe más de 600 plantas de uso medicinal.

El estudio de los componentes de las plantas medicinales se centra en las sustancias que ejercen una acción farmacológica sobre el humano o los seres vivos en general. Los principios activos de las plantas pueden ser sustancias simples (como alcaloides) o bien mezclas complejas (resinas, aceites esenciales, etc.). Los compuestos más comunes son los azúcares y heterósidos (azúcar más un compuesto sin azúcar), que pueden ser glucósidos, galactósidos, etc. El primer heterósido que se descubrió fue la salicina (extraído de *Salix alba*). Otros componentes activos de las plantas son alcaloides, lípidos, gomas, mucílagos, principios amargos, taninos, aceites esenciales, resinas, bálsamos, oleorresinas, ácidos orgánicos, enzimas y vitaminas (44).

La recolección debe realizarse cuando los principios activos de la planta están maduros. Por lo general, se debe proceder al secado de los vegetales lo más rápido posible, de forma que no fermenten los azúcares que contienen, aunque hay que tener en cuenta que las hierbas secas poco a poco van perdiendo sus propiedades. Las flores deben recogerse recién abiertas y secarse con papel limpio; las hojas deben recolectarse antes y durante la floración y extenderse sobre un

papel o rejilla; las plantas enteras deben ser despojadas de las hojas marchitas y los restos de tierra; las semillas y frutos no suelen necesitar ningún tratamiento; y las cortezas y raíces se deben tomar de ejemplares jóvenes (44).

F. Plantas de uso medicinal de la flora suroccidental guatemalteca.

Las plantas que a continuación se detallan son utilizadas popularmente para el tratamiento de infecciones vaginales, fueron seleccionadas por su accesibilidad, frecuencia de uso y porque no han sido estudiadas.

1. *Hypericum uliginosum* HBK.

Nombres populares: Ruda de monte, Mil flores, Retij.

a. Descripción botánica:

Pertenece a la familia Clusiaceae. Es una planta esencialmente anual, pero a veces persiste por más de un año, deriva de la raíz perpendicular o de raíces firmes, erecta, simple o usualmente ramificada mayormente de 50 cm de alto o menos; sus hojas son lineares, de 1-2 cm de largo, agudas u obtusas y apiculadas, estrechas en la base, nervada, punticulada, pálida en el envés, expandiéndose o levantándose, usualmente aplanada pero a veces revoluta. Sus flores son usualmente numerosas, subcorimba, cortas o alargadas, sésiles o casi sésiles; sépalos lineares-lanceolados, estriado, epunctado, pétalos amarillo profundo, menos alargado que los sépalos; 20 estambres, 3 estilos, cápsula oblongada de 5-6 mm de largo, aguda, con 1 celda; posee semillas muy numerosas, ovales de color parduzco de 0.5 mm de largo, casi liso (45).

b. Ecología y distribución geográfica:

Se distribuye en México, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Panamá. Se puede encontrar en Guatemala, Chimaltenango, Sacatepéquez, Sololá, Quiché, Huehuetenango, Totonicapán, Quetzaltenango, San Marcos, Alta Verapaz, Baja Verapaz, El Progreso, Chiquimula, Zacapa, Jalapa y Jutiapa. Es común en toda Europa, en el norte de Asia, África y América. En Guatemala crece en campos abiertos y laderas, frecuentemente donde hay pino y roble. Se desarrolla a menudo en tierra pedregosa seca, en lugares húmedos y pantanosos a elevaciones medias, en alturas de 3,400 msnm (metros sobre el nivel del mar) o menos (45, 46).

c. Usos medicinales populares:

Se utiliza en la medicina doméstica en nuestro país contra padecimientos vaginales, para tratamiento de diarreas, disentería ligera y grave, dolor de oído, quemaduras en la piel, tónico del hígado, gripe, neumonía, antidiabético y antipirético (47). Se utiliza en el tratamiento del susto luego de una decocción (45, 48).

d. Composición química:

Hay reportes que contiene Benzenoides como la Uliginosina A y Uliginosina B (49-51).

e. Actividad farmacológica y biológica:

Un estudio realizado en 1969 reporta que el extracto etanólico de la planta entera es activo contra *Staphylococcus aureus* y *Trichophyton mentagrophytes* (51).

f. Toxicidad:

No se reportan efectos tóxicos de acuerdo a una revisión realizada en la base de datos NAPRALERT (52).

2. *Salvia lavanduloides* HBK.

Nombres populares: Salvia de monte (53), Alhucema, Salvia santa, Árnica, Hoja blanca, Sactzam, Salviona, Tepozán, Aguanda-tsitsiki, Altamiza, Alucena, Azulilla, Cenicilla, Chia cimarrona, Chía cimarrona, Cuetehton, Flor del cielo, K'uironi simarroni, Lucema, Lucuma, Mazorquilla, Poleo, Poxil obal, Salvia morada, Hierbabuenita (54).

a. Descripción botánica:

Árbol o arbusto perteneciente al reino Plantae, Filo Magnoliophyta, Clase Magnoliopsida, Orden Lamiales, Familia Lamiaceae y Género Salvia. Hierba perenne, tallos solitarios o en grupos, erecto, 1m de alto o menos, ramas simples o muy separadas, frondoso, puberulento, hojas cortas-pecioladas, elípticas-oblongas o lanceoladas, frecuentemente de 3-9 cm de largo, agudas u obtusas, agudas o atenuadas en la base, seruladas, venenosas, verde por arriba, densamente pubescente o raramente glabras, el envés densamente pubescente de gris a blanco, flores en verticilos cerca de 12, formando espigas densas de 3-12 cm de largo y 1.5 cm de diámetro, brácteas ovaladas-atenuadas, cáliz en flor de 4-5.5 mm de largo, raramente de 7 mm de

largo, densamente estrigosa, glabra, corola intensamente azul o púrpura, tubo de 3.5-4.5 mm de largo, labio superior de 2 mm de largo y densamente tormentosa, el inferior de 3-5 mm de largo.

b. Ecología:

Nativo desde México hasta Honduras. En Guatemala crece en Sacatepéquez, Chimaltenango, Sololá, Quiché, Huehuetenango, Totonicapán, Quetzaltenango, San Marcos, Escuintla, Izabal, Petén, Baja Verapaz, Alta Verapaz, Zacapa, Jalapa y Santa Rosa en alturas de 1500-3800 msnm. Se trata de una especie originaria de las regiones mediterráneas. Crece en todas partes, pero prefiere los terrenos secos y ligeros. Generalmente crece en los lugares bastante secos, entre céspedes altos como el pino y el roble pero a menudo se encuentra en terrenos rocosos a lo largo de ríos y arroyos o bordeando los campos de cultivo (53).

c. Usos medicinales populares:

Es común el uso contra padecimientos digestivos, de la vesícula, diarrea, dolor de estómago y de muelas, vómitos, se utiliza con frecuencia para contrarrestar la tos y la tos ferina, así como para la "frialidad" del niño. Se le emplea para controlar las hemorragias y flujos vaginales, enfermedades ginecológicas, parálisis, para lavar las heridas y disminuir la fiebre (54, 55). Se utiliza para disminuir el dolor de vientre para después del parto, flujo de sangre, dolores menstruales, aire, dolor de estómago (56).

d. Otros usos:

La parte aérea se utiliza para hacer limpias y "barrer" los "aires" en celebraciones ceremoniales religiosas. Las flores sirven para adornar hogares y altares religiosos. Las hojas secas se queman como incienso, las hojas secas y pulverizadas se usan para agregar al tabaco y hacer cigarrillos para fumar (54).

e. Composición química:

Se han identificado flavonoides (eupatorin, 5-hidroxitetrametoxiflavona, glucoférico, santín), triterpenos (ácidos oleanólico y ursólico), diterpenos (salviandulina A-D), esteroides β -sitosterol (57-60).

f. Estudios farmacológicos y de actividad biológica:

No se reporta información de acuerdo a la revisión realizada en la base de datos NAPRALERT (52).

g. Toxicidad:

No se reportan efectos tóxicos de acuerdo a una revisión realizada en la base de datos NAPRALERT (52).

3. *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray.

Nombres populares: Mirasol, k'onon, q'il, sun, quil, quil amargo y saján grande (61), tara, taro, flor amarillo, árnica, botón dorado, girasola, gamboa, girasol, botón de oro, margaritona o árnica de la tierra, wild sunflower, Mexican sun flower.

Sinonimias: *Mirasolia diversifolia*, *Tithonia diversifolia* var. *glabriuscula* Blake (62).

a. Descripción botánica:

Pertenece a la Familia Asteraceae. Planta herbácea o arbusto de 1.5-4 m de alto, hispidopilosa o subtomentosa, raramente glabra, hojas alternas, pecioladas, las hojas son más anchas en la parte de en medio, miden de 7-20 cm de largo y de 4-20 cm de ancho, usualmente presentan de 3-5 lóbulos, cuneadas o subtruncadas en la base, los márgenes crenados-serrados, tuberculadas-hispídulos arriba, usualmente densamente pilosas, más bien suaves, pedúnculos gruesos, generalmente de 5-20 cm de largo, involucros 1.5-4 cm de ancho; flores de 12-14 de color amarillo o anaranjado de 3-6 cm de largo, corolas de 8 mm de largo (61).

b. Ecología:

Crece entre los 200 y los 2300 msnm, en matorrales húmedos o secos, tolerando condiciones de acidez y baja fertilidad. Se encuentra creciendo espontánea a orillas de caminos y ríos. Es originaria de México, Centro América y Guatemala, se encuentra en Chimaltenango, Quetzaltenango, San Marcos, Sololá, Alta Verapaz, Chiquimula, Escuintla, Jutiapa, Sacatepéquez, Santa Rosa y Suchitepequez. También se registra en Honduras, Salvador, Costa Rica, Panamá, Cuba, Venezuela, y Colombia (61, 63).

c. Usos medicinales populares:

La decocción de las hojas en Guatemala se toma en casos de malaria y aplicada externamente en eczema y llagas; en Yucatán las hojas con alcohol se usan como linimento (63, 64). Usada para curar granos, llagas, heridas y otras afecciones de la piel, como sarna, barros, espinillas. Se utiliza contra padecimientos respiratorios como tos, asma y bronquitis. Las hojas hervidas en agua se usan contra vómitos, se bebe como agua de tiempo para calmar cólicos y

cortar diarreas se usa en forma de té, al igual que para aliviar la cefalea se usa en baños y lavados vaginales, cuando se siente dolor de cuerpo, contusiones, golpes, malaria, calentura, calambres, hinchazones. Se refiere que funciona como antiséptico. Para tratar hepatitis se utiliza la decocción de las hojas (55).

d. Actividad farmacológica y biológica:

La decocción de las hojas fue activa contra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella. flexneri* (65). El extracto etanólico (70%) presentó actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enteritidis* (66); el extracto etanólico al 95% presentó actividad contra *Artemia salina* (67). El extracto acuoso de hojas y tallos presentó débil actividad en la estimulación uterina. La decocción de las hojas presentó actividad antiinflamatoria a dosis de 1000 mg/kg (68). El extracto acuoso presentó actividad molusquicida (69).

e. Composición química:

Se han reportado sesquiterpenos: diversifolina, taginina A, togimina A, C y F y tirotundina; flavonoides: hispidina, sesquiterpenlactonas y aceite esencial (70, 71).

f. Toxicidad:

La evaluación toxicológica del extracto etanólico en ratón no demostró efectos patológicos.

4. *Vernonia deppeana* Less.

Nombres populares: Suquinay, Suquinay hembra, Semém (61), Sucunán, Flor de cuaresma, Rosa blanca (72).

a. Descripción botánica:

Perteneciente al reino Plantae, Filo Magnoliophyta, Clase Magnoliopsida, Orden Asterales, Familia Asteraceae, Género Vernonia (72). Arbusto o árbol pequeño, algunas veces de 9 m de alto, tallos pubescentes, hojas alternas oblongas, 15 cm de largo y de 2-7 cm ancho, redondeada en la base, los márgenes enteros serrulados, haz pubescente y envés blanco tomentoso. Sus flores son tubulares, blancas o rosadas de 18-21, involucros campanulados, 3 mm de alto dispuestas en una panícula grande. Fruta una semilla de 2 mm de largo (61, 72).

b. Ecología:

Se encuentra en México, El Salvador, Honduras y Costa Rica. En Guatemala crece en los departamentos de Chimaltenango, Huehuetenango, Quetzaltenango, Sacatepequez, San Marcos, Sololá, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chiquimula, Jalapa, Retalhuleu, Santa Rosa y Suchitepequez. Se desarrolla en bosques de 300-2000 msnm (61). Especie de hábito terrestre con variabilidad de humedad, crece en bosques de encino y pino-encino (72).

c. Usos medicinales populares:

Se utiliza para el tratamiento de cólicos, hemorragias vaginales, gripes, fiebre, cefaleas, constipado, empacho, diarreas, reumatismo, aire, heridas y para reducir la inflamación vaginal (56, 73).

d. Actividad farmacológica y biológica:

En 1987 su tintura presentó actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, e inactivo contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* (74).

e. Química y toxicidad:

No se reporta información de acuerdo a la revisión realizada en la base de datos NAPRALERT (52).

5. *Solanum americanum* Miller

Nombres populares: Macuy, Quilete, Hierba mora (75), Chichiquelite, Chichikarita (tarahumara), Pichecua (purépecha), Pitsekua blanca (purépecha), Pitsekua urapitu (purépecha), Quelite cimarrón, Pahalkan.

a. Descripción botánica:

Es una hierba que llega a alcanzar hasta 1m de altura, tallo pubescente, hojas en pares o solitarias de 3-14 cm de largo, lanceoladas, ápice agudo, inflorescencia internodal, racemiforme, pedunculadas y de pocas flores. Sus flores son en cálices de 1-2 mm de largo, con lóbulos ovalados agudos; corola blanca, limbo partido, 5-8 mm de ancho, estilo 2.5-3.5 mm de largo, más largo que los estambres con 1.5-2.2 mm de largo, ovario globoso. Sus frutos son globosos de color negro al madurar y verdes al inicio de su crecimiento de 4-8 mm de diámetro, sus semillas son pequeñas.

b. Ecología:

Se distribuye en toda la América, crece en matorrales y sembradíos de 350-1,500 msnm. En Guatemala se encuentra en Chimaltenango, Huehuetenango, San Marcos, Retalhuleu, Sacatepequez, Santa Rosa, Suchitepequez, Zacapa, Chiquimula, Escuintla, Jutiapa, Petén, Alta Verapaz y Baja Verapaz (75).

c. Usos medicinales populares:

En Guatemala las hojas maduras cortadas al final o después de fructificar, en decocción es útil en lavados vaginales. También se utilizan para tratamiento de anemia. El cocimiento de las hojas, frutos y semillas tiene amplio uso medicinal, son estupefacientes y desinfectantes por lo que se utilizan para tratar tópicamente afecciones dermatomucosas (leucorrea, vaginitis, abscesos, acné, dermatitis, eczema, erisipela, exantema, heridas, llagas, mezquinos, pústulas, tiña, úlceras y vaginitis) (73, 76-79); por vía oral se usa en el tratamiento de asma, amigdalitis, anemia, cirrosis (78), cólico, diarrea, dolor de muelas, escorbuto, estreñimiento, gastritis, hinchazón, meningitis, nerviosismo, paludismo, presión alta, retención urinaria, reumatismo, tos ferina y úlcera gástrica (76, 79). Se le atribuye propiedad aperitiva, calmante, depurativa, diurética, desinflamante, emoliente, febrífuga, mineralizante, reconstituyente, sedante y vulneraria (76, 79, 80).

d. Otros usos:

Las hojas se comen en caldo o fritas con huevo; es una hierba que se consume en grandes cantidades en el país y es frecuente encontrarla en los mercados, se acostumbra a comer para la convalecencia y recuperación de diversas enfermedades como la anemia (80).

e. Composición química:

Tiene composición compleja y poco estudiada. Contiene alcaloides: solanina, solasodina, glucoalcaloides y alcalinas (79).

f. Estudios farmacológicos y de actividad biológica:

Estudios en Guatemala por Cáceres *et al.* demuestran que la decocción de las hojas presenta actividad antibiótica frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (81).

6. *Acalypha pseudoalopecuroides* Pax & Hoffm.

Nombres populares: Hierba del cáncer, Ccul, Corrimiento, Gusanillo.

a. Descripción botánica:

Plantas monoicas herbáceas, usualmente perennes, pero algunas veces anuales; erectas o ascendentes, algunas veces de 1 m de alto, pero usualmente más bajas; simples o ramificadas, principalmente erectas, algunas veces decumbentes; cuando jóvenes puberulentas o pilulosas, con pelos ascendentes o subcomprimidos.

Hojas con pecíolos de 3 cm de largo o usualmente más cortos, redondeadas ovaladas o rómbico-ovaladas de 4-7 cm de largo, acuminadas o agudas, obtusas o ampliamente redondeadas en la base; crenadas, membranosas, de 5 inervaciones finamente pilosas a lo largo de las inervaciones y algunas veces con pubescencia densa y suave, en la madurez a menudo glabras. Festonadas en los márgenes, generalmente agujereadas por insectos o con protuberancias de color verde rojizo. Las flores poseen espigas principalmente androgíneas, terminales y axilares, numerosas, las mayores de 4-5 cm de largo, densas, con muchas flores, pedunculadas o subsésiles; la porción estaminada de la espiga corta y densa; las brácteas son pistiladas en el fruto, de 4 mm de ancho, de 5-7 lóbulos a la mitad, setosas y portando una glándula al final de los pelos, de 1-2 flores, los lóbulos lanceolados, ovario hírteloso; estilos de 6-10 lacíneas, rojo púrpura. Sus frutos poseen una cápsula tuberculada de 3 mm de diámetro. Posee semillas ovoides, lisas de 2 μ m de largo.

b. Ecología:

Especie que se encuentra en Guatemala (Zacapa), Sur de México y Honduras su zona de vida es el bosque seco subtropical. Es común en terrenos removidos, en la región nororiental es frecuente en matorrales secos o húmedos, se encuentra a veces como maleza en tierras subcultivadas y en vegetaciones densas de 200-500 msnm (82).

c. Usos medicinales populares:

Se utiliza para tratamiento de inflamaciones, infecciones, enfermedades venéreas y lavados para vaginitis.

d. Estudios farmacológicos, de actividad biológica y toxicidad:

No se reporta información de acuerdo a la revisión realizada en la base de datos NAPRALERT (52).

IV. JUSTIFICACION

El diagnóstico de las infecciones del tracto genital femenino son importantes tanto en el entorno clínico como en el social, ya que la mayoría de mujeres adultas experimentan un episodio de cervicovaginitis alguna vez en su vida y vaginosis es la más frecuente, causa molestias a la paciente y puede ocasionar complicaciones al diseminarse a otros órganos como el útero o trompas de Falopio, por lo que representa también un riesgo para el feto en la mujer embarazada. El tratar las infecciones con metronidazol, que es el fármaco de mayor uso para el tratamiento de vaginosis bacteriana, elimina efectivamente el microorganismo, pero se ha observado fracaso terapéutico por las frecuentes reinfecciones y cepas de *Gardnerella vaginalis* con extraordinaria resistencia al fármaco.

La utilización del metronidazol ha sido ampliamente discutido por los diversos efectos colaterales que causa a la paciente, la interacción con otros medicamentos y además no se recomienda su administración en madres lactantes ya que el medicamento se excreta en la leche materna y algunos estudios realizados en animales y bacterias, han demostrado que es carcinogénico y puede producir efectos adversos en el lactante, ocasionar partos prematuros, dar a luz un niño de bajo peso y tiende a incrementar el riesgo de otras complicaciones.

En el tratamiento de enfermedades infecciosas se emplean fármacos que en la actualidad son de difícil adquisición, por el costo elevado que poseen y siendo que en comunidades de escasos recursos es dónde existe mayor prevalencia de éstas (5), es necesario contar con opciones de menor costo, de fácil preparación, efectivos y sobre todo accesibles, ya que en muchas ocasiones por la vergüenza social que predomina en nuestra cultura no se busca atención médica y las enfermedades no son tratadas adecuadamente. En Guatemala el tratamiento de enfermedades con plantas medicinales es una práctica popular, resultado de la herencia cultural de nuestros antepasados, por lo que últimamente se han realizado estudios para confirmar la actividad farmacológica que popularmente se les atribuye y mejorar con ello el grado de atención primaria en salud.

Por lo expuesto anteriormente, resulta importante comprobar la actividad inhibitoria *in vitro* que poseen los extractos etanólicos de *Hypericum uliginosum*, *Tithonia diversifolia*, *Salvia lavanduloides*, *Acalypha pseudoalopecuroides*, *Vernonia deppeana* y *Solanum americanum* debido a que se utilizan en nuestro país de forma frecuente para tratar afecciones vaginales. Estas plantas se seleccionaron por ser conocidas como medicinales, su frecuente utilización, accesibilidad y porque no existen estudios que validen farmacológicamente su uso.

V. OBJETIVOS

A. General.

Comprobar la actividad y concentración mínima inhibitoria *in vitro* que poseen los extractos etanólicos obtenidos de seis plantas medicinales en el crecimiento de *Gardnerella vaginalis*, las cuales son utilizadas con frecuencia en el suroccidente de Guatemala para el tratamiento de afecciones vaginales y poder recomendar el uso de ellas como alternativa para el tratamiento de la infección.

B. Específicos.

1. Preparar los extractos de las plantas a estudiar utilizando las técnicas establecidas de extracción por percolación y concentración en rotavapor.
2. Obtener una cepa de *Gardnerella vaginalis* realizando un muestreo de secreción en mujeres con sintomatología de infección vaginal que asistan a la consulta externa de tres instituciones Guatemaltecas.
3. Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* de *Hypericum uliginosum*, *Salvia lavanduloides*, *Tithonia diversifolia*, *Vernonia deppeana*, *Solanum americanum* y *Acalypha pseudoalopecuroides* en el crecimiento de *Gardnerella vaginalis*.
4. Determinar el valor de la menor concentración a la que cada uno de los extractos inhibe el crecimiento de la bacteria.

VI. HIPOTESIS

Por lo menos una de las plantas de uso medicinal en estudio inhibe el crecimiento *in vitro* de *Gardnerella vaginalis*.

VII. MATERIALES Y METODOS

A. Universo:

Cien plantas de uso medicinal utilizadas popularmente en el suroccidente de Guatemala para el tratamiento de afecciones vaginales.

La selección de dichas plantas se llevó a cabo luego de recopilar datos incluidos en estudios etnobotánicos realizados en el país, los cuales proporcionan información sobre las plantas de uso medicinal utilizadas con frecuencia en nuestro país para tratar dicha afección.

B. Muestra:

Seis plantas de la flora suroccidental que además de no haber sido estudiadas, son utilizadas con frecuencia por su fácil adquisición: *Acalypha pseudoalopecuroides* Pax & Hoffm, *Hypericum uliginosum* HBK, *Salvia lavanduloides* HBK, *Solanum americanum* Miller, *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray y *Vernonia deppeana* Less.

C. Medios:

1. Recursos humanos:

Br. María del Carmen Palacios Villatoro, Asesor Lic. Armando Cáceres Estrada.

2. Recursos institucionales:

El laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos Farmaya, S. A. donó las plantas medicinales estudiadas, apoyó con asesoría humana, literatura, técnicas de trabajo y financiamiento.

El Hospital General San Juan de Dios, centro de Salud de enfermedades de Transmisión Sexual de la zona 3 y el Instituto guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) de la zona 12 colaboraron para la obtención de una cepa de *Gardnerella vaginalis*.

La Universidad de San Carlos de Guatemala en el Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia brindó su apoyo con préstamo de material y equipo, donación de reactivos y obtención de los extractos de las plantas medicinales.

D. Materiales:

1. Equipo e instrumentos:

Balanza analítica, estufa, autoclave, incubadora, refrigeradora, baño María, microscopio, cabina de bioseguridad, rotavapor, bomba de vacío, desecadora, percolador, termómetro, asas bacteriológicas, vortex.

Cristalería (tubos de ensayo de 5 y 3 mL, tubos de ensayo BD Vacutainer™ K₃ de 5 mL con EDTA, vasos de precipitar de diferente capacidad, varillas de vidrio, balón aforado, balón de fondo redondo, balón de fondo plano, refrigerante, erlenmeyer, pipeta de 1, 3, 5 y 10 mL), pipeta automática, hisopos estériles, frascos color ámbar con capacidad de 5 mL.

Cajas de Petri sencillas y cuadrilate, tips de diferente capacidad, jeringas desechables de 5 mL, filtros Millipore con 0.2 µm de diámetro.

2. Reactivos:

- Stuart (medio de transporte)
- Caldo Trypticasa soya
- Solución salina 0.85%
- Agar Base Columbia Marca ®Oxoid (CNA)
- Agar Mueller Hinton
- Sangre Humana con anticoagulante
- Suplemento para *Gardnerella vaginalis*
- Metronidazol (estándar de 500 mg y disco de 50 µg)
- Antibióticos: trimetoprima 5 µg, sulfonamida 1 µg, clindamicina 2 µg, ampicilina 10 µg.
- Tubos de ensayo BD Vacutainer™ K₃ de 5 mL con EDTA
- Etanol al 95%
- Etanol al 50%

E. Procedimientos:

1. Selección de las plantas en estudio:

Se llevó a cabo luego de recopilar información de estudios anteriores que proporcionan aproximadamente datos de cien plantas medicinales utilizadas popularmente en Guatemala para el tratamiento de vaginosis. Se seleccionaron seis de las cien plantas tomando en cuenta que son accesibles, utilizadas con frecuencia y además que no han sido ni están siendo estudiadas.

2. Técnicas de extracción por percolación para obtener el extracto.

La materia seca vegetal (MSV) (<10% de humedad), se trituró, molió, secó y rotuló perfectamente, utilizando como disolvente etanol al 95% como se especifica a continuación:

- Se rotuló la planta molida con nombre, fecha y parte utilizada.

- Luego se preparó el percolador colocando un pedazo de algodón no muy grande en el fondo del aparato de manera que sirva de filtro, se cortó un pedazo de papel filtro de forma circular y se colocó cubriendo el fondo del percolador. Luego se colocó un tapón de plástico en la parte inferior externa del percolador para tapar la punta del mismo.
- Se pesaron 100 g de las hojas y se colocó dentro del percolador (cuando se trata de corteza, rizoma o semilla se pesan 400 g de cada parte).
- Se colocó la tercera parte de la cantidad pesada de MSV y se cubrió con etanol al 80%.
- Se observó que no se formaran burbujas y para ello se hizo presión con una espátula.
- Luego se agregó el resto de MSV y se cubrió totalmente con otra parte de etanol.
- Finalmente se rotuló el percolador con nombre científico de la planta, nombre común, parte utilizada fecha y peso. Se dejó reposar por 12-24 horas para que reaccionara y se llevara a cabo la extracción.
- Luego de pasado el tiempo se quitó el tapón plástico y se dejó gotear hasta que saliera todo el disolvente. Todo el disolvente recuperado se agregó a la materia en extracción en el percolador, y se repitió esta operación cinco veces antes de comenzar a concentrar en el rotavapor. Se pasó el disolvente recogido al balón del rotavapor para llevar a cabo la concentración.

Para llevar a cabo la concentración de los extractos en el rotavapor se procedió de la siguiente manera:

- Se engrasaron todas las bocas esmeriladas del mismo y se armó el rotavapor según el instructivo específico del aparato. Se colocó el balón que contenía el disolvente recogido del percolador. Luego se conecta y se enciende tanto el rotador y como el baño de María del rotavapor llevando la temperatura a $40 \pm 1^\circ\text{C}$.
- Se inició la destilación del extracto, succionando (conectando la bomba de vacío) la solución obtenida del percolador (alcohol+planta) con recuperación del disolvente hasta llevar a una consistencia semisólida.
- Luego se vierte el extracto concentrado en una caja de petri de vidrio debidamente tarada y rotulada. Se colocó en una desecadora durante 7-15 días dependiendo del estado en que se encontraba cada una de las plantas.
- Cuando el extracto presentaba una consistencia sólida, cada uno de los extractos se guardó en recipientes herméticos ámbar a 4°C , tarados y rotulados.
- Se calculó el porcentaje de rendimiento de cada uno de los extractos.

3. Obtención de la cepa de *Gardnerella vaginalis*:

- Se llevó a cabo un muestreo en mujeres que presentaban síntomas de infección vaginal en el área de Ginecología del Hospital General San Juan de Dios, en mujeres que acudieron a la consulta externa del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS) de la zona 12 y del Centro de Salud de Enfermedades de Transmisión sexual de la zona 3.
- Para la toma de las muestras (Gráfica 1) se seleccionaron las pacientes que refirieron tener prurito vaginal y secreción purulenta con mal olor (Gráfica 2). Durante seis semanas se muestreó por las mañanas y el material obtenido se inoculó en Stuart como medio de transporte. Cada día de muestreo se transportaron las muestras al departamento de citohistología donde se sembraron en agar CNA, se incubaron a 36°C en presencia de CO₂ por 24 a 48 horas observando características morfológicas en busca de la bacteria.
- Luego de haber realizado un muestreo en pacientes con sintomatología de infección vaginal se lograron aislar colonias con las características de la bacteria en estudio (β -hemólisis), se realizaron resiembras y pruebas de identificación (gram, catalasa, oxidasa) y de susceptibilidad antibiótica.

4. Montaje del bioensayo:

El bioensayo se llevó a cabo por una evaluación de la actividad de los distintos extractos en presencia de *Gardnerella vaginalis* y para ello fue necesario preparar cajas de petri con agar CNA, cada uno de los extractos a diferente concentración y una suspensión de la bacteria.

Se procedió a preparar las cajas con agar-extracto a utilizar de la siguiente manera:

- Es necesario tener los extractos de cada una de las plantas medicinales en estudio a una concentración de 10 mg/mL y para ello se realizó una solución de cada uno mezclando 0.04 g de cada extracto en 4ml de etanol al 50%.
- Antes de utilizar los extractos, cada uno se esterilizó pasándolo por un filtro Millipore de 0.2 μ m de diámetro dentro de la cabina de bioseguridad. Seguidamente se realizó la prueba de esterilidad a cada extracto en agar Mueller Hinton.
- Se preparó el agar CNA siguiendo especificaciones (anexo A). Al llegar a una temperatura de 50°C se le agrega un 5% de sangre y el suplemento reconstituido (anexo B). Para obtener una concentración final de 1 mg/mL se agregó en las cajas de petri a utilizar 1.0 mL de la solución de cada extracto y 9.0 mL del agar CNA.
- Luego se agitó suavemente en forma circular para formar una mezcla homogénea y se dejó solidificar dentro de la cabina de bioseguridad.

- Se incubó a 36°C durante 24 horas para comprobar su esterilidad. Luego se guardaron las cajas en refrigeración hasta el momento de utilizar.

Es necesario utilizar una suspensión de *Gardnerella vaginalis* que no contenga más de 1×10^6 ó 1×10^7 bacterias/mL para evitar que se manifiesten resultados falsos negativos y por ello se procedió a prepararla de la siguiente manera:

- En 5 mL de caldo tripticasa soya se agregaron de 2-3 asadas del cultivo puro identificado, en donde se espera un crecimiento aproximado de 1×10^9 células/mL.
- Se realizó una dilución 1:100 agregando 0.05 mL de la suspensión anterior en 4.95 mL de solución salina estéril para obtener la cantidad de bacterias que se necesitan para el ensayo.

5. Bioensayo:

Para demostrar la actividad *in vitro* de los distintos extractos etanólicos en presencia de *Gardnerella vaginalis* se procedió así:

- Se prepararon los controles en cajas de petri: el control positivo agregando 1 mL del estándar de metronidazol de 500 mg y 9 ml de agar CNA; y para el control negativo se agregó 1 mL de etanol al 50% en 9 mL de agar CNA.
- El inóculo preparado de *Gardnerella vaginalis* se sembró con un asa bacteriológica tanto en las cajas que contienen agar-extracto como en los controles. La superficie de cada una de las cajas se dividió imaginariamente en tres partes iguales y en cada una se realizó una siembra de la bacteria en forma piramidal.
- Todas las cajas se dejaron en reposo durante 5-10min. Se incubaron a 36°C en presencia de CO₂ durante 24 a 48 horas.

La interpretación de resultados se realiza dependiendo del crecimiento a lo largo del inóculo así:

- **Actividad negativa:** si hay crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
- **Actividad positiva:** si no hay crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
- **Contaminación:** presencia de microorganismos fuera de la inoculación.

A los extractos que presentan efecto inhibitorio (actividad positiva) en el bioensayo se les determinó su concentración inhibitoria mínima (CIM), a diferentes valores de concentración para

evaluar el efecto inhibitorio que causa cada uno de los extractos sobre el crecimiento de *Gardnerella vaginalis* y el valor de su CIM, para ello:

- Se prepararon las cajas cuadruplicate con las siguientes diluciones del extracto:

Concentración	Contenido
- 1.0 mg/mL =	3.6 mL de agar + 0.4 mL de la solución del extracto.
- 0.5 mg/mL =	3.8 mL de agar + 0.2 mL de la solución del extracto.
- 0.25 mg/mL =	3.9 mL de agar + 0.1 mL de la solución del extracto.
- Control (-) =	4.0 mL de agar.

- Se inocularon 3 estrías de *Gardnerella vaginalis* con un asa bacteriológica en cada uno de los cuadrantes. Se incubó a 36°C en presencia de CO₂ durante 24 a 48 horas. Se realizó una lectura y se interpretaron los resultados de acuerdo a su actividad.

6. Diseño de la investigación:

- Tipo de estudio:

El tipo de estudio es experimental.

- Variables:

Variable dependiente: La actividad que presente cada uno de los extractos en el crecimiento de *Gardnerella vaginalis*.

Variable independiente: Extractos etanólicos que son utilizados con frecuencia por su fácil adquisición, bajo costo económico y popularidad medicinal (*Acalypha pseudoalopecuroides* Pax & Hoffm, *Hypericum uliginosum* HBK, *Salvia lavanduloides* HBK, *Solanum americanum* Miller, *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray y *Vernonia deppeana* Less).

7. Análisis de los resultados:

Como el tipo de estudio es experimental el análisis de los resultados se hizo basado en el crecimiento observado de *Gardnerella vaginalis* en presencia de los extractos etanólicos obtenidos de las plantas medicinales los cuales estaban disueltos en el agar CNA, primero a una concentración similar para todos los extractos de 1 mg/mL, definiendo presencia de actividad cuando no hay crecimiento de la bacteria y ausencia de actividad cuando existe crecimiento de la bacteria. Seguidamente se realizó la evaluación de la menor concentración a la que cada uno de los extractos con actividad a 1 mg/mL inhibía el crecimiento de la bacteria, definiendo como mejor extracto el que inhibe al microorganismo a una menor concentración de extracto.

VIII. RESULTADOS

En nuestro país se han realizado varios estudios los cuales proporcionan información de aproximadamente cien plantas medicinales que son utilizadas para el tratamiento de infecciones vaginales, de ellas se seleccionaron seis que son utilizadas frecuentemente para tratar estas infecciones y que además no ha sido estudiado el efecto inhibitorio que poseen en presencia de *Gardnerella vaginalis*. En la Tabla 1 se puede observar que todas las plantas de las que se obtuvieron los extractos etanólicos utilizados en este estudio provienen de la zona suroccidental guatemalteca son conocidas con un nombre común y dentro de los usos que se les atribuye están diversas afecciones de tipo vaginal.

Se puede notar en la Tabla 2 que *Solanum americanum* (28.30%) y *Acalypha pseudoalopecuroides* (24.72%) presentaron los mayores porcentajes de rendimiento, seguidas por *Hypericum uliginosum*, *Salvia lavanduloides* y *Tithonia diversifolia* (19.50, 17.74 y 11.41% respectivamente), mientras que el menor valor correspondió a *Vernonia deppeana* (8.31%). Estos resultados se obtuvieron luego de poner en práctica la metodología establecida de extracción con alcohol al 95% por percolación y concentración de los extractos por evaporación en el rotavapor.

Los resultados de la demostración *in vitro* de la actividad antigardnerella de los extractos etanólicos a una concentración de 1 mg/mL se pueden observar en la Tabla 3, en ella se puede observar que los cultivos que contenían agar-extracto de *Salvia lavanduloides*, *Solanum americanum* y *Vernonia deppeana* la bacteria utilizada no presentó crecimiento por lo que éstos extractos inhiben el desarrollo de *Gardnerella vaginalis* a dicha concentración, por ello fue se determinó el valor de la menor concentración a la que cada uno de los extractos etanólicos inhiben el crecimiento del microorganismo. Caso contrario se puede notar con los extractos de las otras tres plantas utilizadas (*Acalypha pseudoalopecuroides*, *Hypericum uliginosum* y *Tithonia diversifolia*) en donde si presentó crecimiento *Gardnerella vaginalis*.

En la Tabla 3 también se pueden observar los valores de la menor concentración a la que poseen actividad cada uno de los extractos etanólicos con actividad antigardnerella. Las plantas *Salvia lavanduloides* y *Vernonia deppeana* demuestran inhibición del crecimiento de la bacteria solamente en 1 mg/mL de concentración, mientras que el extracto que presenta los mejores resultados es el de *Solanum americanum* ya que inhibe el crecimiento de *Gardnerella vaginalis* en 0.5 mg/mL de concentración del extracto.

Tabla 1. Principales características de plantas utilizadas para tratamiento de infección vaginal (47, 54-56, 61, 72-79).

PLANTA	NOMBRE COMUN	LUGAR DE ORIGEN	USOS PRINCIPALES
<i>Acalypha pseudoalopecuroides</i> Pax & Hoffm	Hierba del cáncer, ccul, corrimiento, gusanillo.	Tacaná San Marcos	Inflamación, infección, enfermedades venéreas.
<i>Hypericum uliginosum</i> HBK	Retij, mil flores, ruda de monte.	Tacaná San Marcos	Diarreas, neumonía, resfriados, fiebre, susto, antiséptico y desinflamatorio.
<i>Salvia lavanduloides</i> HBK	Salvia de monte, salvia santa, árnica, altamiza.	Tacaná San Marcos	Fiebre, disentería, vómitos, hemorragias, flujos vaginales.
<i>Solanum americanum</i> Miller	Macuy, quilete, hierba mora.	Samayac Suchitepequez	Anemia, afecciones, úlceras, dermatomucosas (leucorrea), dolor, diarrea, desinflamatorio.
<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) Gray	Mirasol, girasol, quil, saján grande.	Samayac Suchitepequez	Malaria, úlceras, dolor, diarreas, fiebre, lavados vaginales.
<i>Vernonia deppeana</i> Less	Suquinay, flor de cuaresma, rosa blanca.	Samayac Suchitepequez	Desintería, úlceras, fiebres, inflamación, hemorragias vaginales, cólico, reumatismo.

Tabla 2. Rendimiento de los extractos utilizados en presencia de *Gardnerella vaginalis*.

PLANTA	PARTE UTILIZADA	PESO INICIAL (g)	EXTRACTO (g)	% DE RENDIMIENTO
<i>Acalypha pseudoalopecuroides</i>	Hoja	73.13	18.08	24.72
<i>Hypericum uliginosum</i>	Hoja	355.00	69.23	19.50
<i>Salvia lavanduloides</i>	Hoja	240.00	42.58	17.74
<i>Solanum americanum</i>	Hoja	240.78	68.15	28.30
<i>Tithonia diversifolia</i>	Hoja	310.00	35.40	11.41
<i>Vernonia deppeana</i>	Hoja	150.00	12.47	8.31

Fuente: datos obtenidos en el estudio.
% = porcentaje, g = gramos

Tabla 3. Demostración de la actividad antigardnerella y concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos etanólicos

EXTRACTO	CRECIMIENTO DE <i>Gardnerella vaginalis</i>	ACTIVIDAD . (1 mg/mL)	CONCENTRACIÓN A LA QUE POSEEN ACTIVIDAD (mg/mL)
<i>Acalypha pseudoalopecuroides</i>	Si	Negativa	-
<i>Hypericum uliginosum</i>	Si	Negativa	-
<i>Salvia lavanduloides</i>	No	Positiva	1
<i>Solanum americanum</i>	No	Positiva	0.5
<i>Tithonia diversifolia</i>	Si	Negativa	-
<i>Vernonia deppeana</i>	No	Positiva	1

Fuente: datos obtenidos en el estudio.
mg/ml = miligramo por mililitro

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

La ubicación tropical que presenta nuestro país lo hace rico en muchos aspectos entre ellos la flora que puede encontrarse en él, es también por ello que desde tiempos pasados viene la influencia de utilizar la medicina natural para aliviar molestias y enfermedades. La región suroccidental de Guatemala cuenta con parte de esta riqueza de la que se seleccionaron seis plantas, se obtuvo de ellas el extracto etanólico para determinar la inhibición *in vitro* de *Gardnerella vaginalis*. Como se observa en la Tabla 1 dentro de los principales usos que se les atribuye a las diferentes plantas están el tratamiento de afecciones vaginales como lavados, infecciones dermatomucosas, enfermedades venéreas, acción desinflamatoria, flujos y hemorragia vaginal, motivo por el cual forman parte del presente estudio.

De algunas de las plantas utilizadas existen estudios que han demostrado efectos satisfactorios en presencia de diferentes microorganismos. Se especifica en la literatura que *Hypericum uliginosum* posee actividad en presencia de hongos y bacterias (50); *Tithonia diversifolia* y *Vernonia deppeana* poseen actividad antibacteriana (64, 65, 73) es por ello que en el estudio realizado se esperaba que los extractos de dichas plantas presentaran bioactividad en presencia de *Gardnerella vaginalis*, sin embargo, en los resultados del tamizaje preliminar (Tabla 3), se puede observar que no todas las plantas poseen actividad inhibitoria en presencia del microorganismo a una concentración de 1 mg/mL. De ellas, solamente *Salvia lavanduloides*, *Solanum americanum* y *Vernonia deppeana* inhibieron el crecimiento de *Gardnerella vaginalis* a dicha concentración.

A los tres extractos etanólicos de las plantas que tuvieron actividad positiva en presencia de *Gardnerella vaginalis* a una concentración de 1 mg/mL, se les determinó el valor de su CIM observando que *Salvia lavanduloides* y *Vernonia deppeana* no presentan efecto inhibitorio en presencia de la bacteria a una concentración menor que sería lo ideal, por el contrario se observan resultados satisfactorios con el extracto etanólico de *Solanum americanum*, ya que se pudo establecer que éste posee actividad inhibitoria sobre el microorganismo hasta una concentración mínima de 0.5 mg/mL (Tabla 3).

De los extractos etanólicos utilizados el de *Solanum americanum* es el que presenta los resultados más interesantes. En la literatura se reportan datos de estudios anteriores que han demostrado actividad antibiótica en presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (80). También existen estudios que comprueban la actividad de otra especie de *Solanum* (*Solanum nigrescens*) para llevar a cabo el tratamiento de vaginitis causada por *Candida*

albicans (34), *Gardnerella vaginalis* (4) y *Trichomonas vaginalis* (35) por lo que del extracto del *Solanum americanum* ya se esperaba una actividad positiva en el estudio de ésta planta y en efecto los resultados son satisfactorios, ya que se demuestra la actividad inhibitoria que posee el extracto en presencia de *Gardnerella vaginalis* a una concentración de 1 mg/mL y al determinar el valor de su CIM es el único extracto que inhibe a la bacteria hasta una concentración de 0.5 mg/mL (Tabla 3); además es interesante mencionar que este extracto presentó el porcentaje de rendimiento más alto dentro de los extractos utilizados en el ensayo (Tabla 2).

En el presente estudio se obtuvieron datos importantes, ya que se comprueba el efecto inhibitorio que poseen los extractos etanólicos de *Salvia lavanduloides*, *Vernonia deppeana* y *Solanum americanum* en presencia de una cepa guatemalteca de *Gardnerella vaginalis*. Con estos datos se valida el uso tradicional de las plantas por la población, pero es importante tener en cuenta que no existe actividad en concentraciones lo suficientemente bajas, que sería lo ideal para ser utilizadas en el tratamiento de las infecciones vaginales.

Con los resultados obtenidos del extracto de *Solanum americanum* queda confirmada la hipótesis planteada, pero es importante tener en cuenta que la flora de nuestro país es abundante y por ello se hace necesario continuar con estudios para buscar los componentes, principio activo y comprobar actividad farmacológica de las plantas no sólo para afecciones vaginales sino también para nuevas opciones de tratamiento que sean confiables y de precio accesible para diversidad de enfermedades que la humanidad enfrenta y que cada día se hacen mayores.

X. CONCLUSIONES

1. Del extracto etanólico de *Solanum americanum* se obtuvieron los mejores resultados ya que la menor concentración a la que inhibe el crecimiento de *Gardnerella vaginalis* es de 0.5mg/mL de acuerdo al valor de las concentraciones utilizadas, por lo que posee una actividad biocida intermedia.
2. Los extractos de *Salvia lavanduloides* y *Vernonia deppeana* demostraron actividad antigardnerella a una concentración de 1mg/mL, pero al no presentar ninguna actividad biocida en concentraciones lo suficientemente bajas, no se considera útil para el desarrollo de un producto fitofarmacéutico.
3. Los extractos de *Acalypha pseudoalopecuroides*, *Hypericum uliginosum* y *Tithonia diversifolia* no presentaron actividad en presencia de la bacteria a una concentración de 1mg/mL.
4. El extracto etanólico que posee el mayor porcentaje de rendimiento es *Solanum americanum* (28.30%) y el menor valor lo presenta el extracto de *Vernonia deppeana* (8.31%).
5. Con los resultados obtenidos del extracto de *Solanum americanum* queda confirmada la hipótesis y se podrá utilizar como una alternativa natural para el tratamiento de afección vaginal ocasionada por *Gardnerella vaginalis*.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios fitoquímicos de las plantas ensayadas, para aislar los constituyentes químicos e identificar con ello a los metabolitos responsables de la bioactividad que posee cada extracto.
2. Realizar estudios de farmacología y toxicología preclínicas de las plantas con actividad, relacionadas con las propiedades demostradas en la presente investigación.
3. Colectar en diferentes épocas del año o distintos grados de madurez el *Solanum americanum* para monitorear si el efecto biocida es constante o si aumenta en alguna etapa de su desarrollo, con el objetivo de utilizar la planta cuando presente un mayor efecto antimicrobiano.
4. Dar seguimiento a los resultados de este estudio para determinar la actividad que presenta cada uno de los extractos frente a otros microorganismos que ocasionen afecciones vaginales.
5. Promover la importancia que posee este tipo de estudios para validar el uso de la diversidad que posee la flora guatemalteca y demostrar su actividad farmacológica.
6. Difundir los hallazgos obtenidos para apoyar el uso popular de las plantas medicinales.

XII. REFERENCIAS

1. Bennett JC, Plum F. Tratado de medicina interna de Cecil. 20 ed. México: Editorial Interamericana McGrawHill, 1996. 2699p. (p.1957-1961)
2. Fisher P. Las enfermedades de transmisión sexual y sus complicaciones. RBA. 1998;6:1225-1229.
3. Blanc B. Ginecología. 2 ed. México: Editorial Mosby-Doyma, 1994. 2060p. (p.1961-1963)
4. Zinsser AC, *et al.* Microbiología. 20 ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1997. 1696p. (p.1215, 1556-1557)
5. Montes AL. Estudio de la actividad antibacteriana *in vitro* contra *Gardnerella vaginalis* de seis plantas de la flora guatemalteca: *Psidium guajava* L. (guayaba), *Bixa orellana* L. (achiote), *Persea americana* Mill. (aguacate), *Theobroma cacao* L. (cacao), *Hymenaea courbaril* L. (guapinol) y *Solanum nigrescens* Mart & Gal (quilete). Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1993. 79p. (p.7-13)
6. Harrison D, *et al.* Principios de Medicina Interna. 13 ed. España: Editorial Interamericana McGrawHill, 1994. 1436p. (p.618-624)
7. Botero D, Restrepo M. Parasitosis Humanas. 2 ed. Colombia: Editorial Presencia Ltda, 1994. 418p. (p260-263)
8. Fenollera AF, Marin LL. Citopatología Ginecológica y Mamaria. 2 ed. Barcelona: Ediciones científicas y técnicas S.A., 1993. 563p.(215-235)
9. Cook RL, *et al.* Clinical, Microbiological, and Biochemical Factors in Recurrent Bacterial Vaginosis. *Journal of Clinical Microbiology* 1992;30(4):870-877
10. Vaginosis Bacteriana. Disponible en: <http://www.afraidtoask.com/spSTD/by.html>. 18/02/03
11. Torres MF. Manual Práctico de Bacteriología Médica. Guatemala: Editorial Serviprensa C.A., 1996. 229p. (p. 157-160)
12. Braunwald E, *et al.* Principios de Medicina Interna. 15 ed. México: Editorial Interamericana McGrawHill, 2001. 1692p. (p.999-1197)
13. Teixidor JR, Massó JG. Medicina Interna. España: Editorial Masson S.A., 1998. 1938p. (p. 284, 1779)
14. Joklik WK, *et al.* Microbiología. 20 ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana, 1997. 1396p. (p.822)

15. Infecciones intrauterinas. Disponible en: <http://www.acemucsc.galeon.com/articulos/obstetricia/-corioamniolisis.doc>. 18/02/03
16. Koneman EW, *et al.* Diagnóstico Microbiológico. 5 ed. Argentina: Editorial Panamericana S.A. de C.V., 1999. 1432p. (p. 89, 144-147, 667-668)
17. Eschenbach DA. History and review of bacterial vaginosis. *Amer J. Obstet Gynecol* 1993;169:441-445
18. Ledger WJ. Historical review of the treatment of bacterial vaginosis. *Am J Obsstet Gynecol* 1993;169:474-478
19. Catlin BW. *Gardnerella vaginalis*: characteristics, clinical considerations, and controversies. *Clinical Microbiology Reviews* 1992;5(3):213-237
20. Black JG. *Microbiology Principles and explorations*. 4 ed. United States of America: John Wiley & Sons, Inc., 1999. 786p. (p.249)
21. Cervicovaginitis. Disponible en: www.internet.uson.mx/webpers/medina/cervicov.htm. 12/01/03
22. Sierra RF. Infecciones Genitales “Vaginosis, Vaginosis Bacteriana, Cervicitis y Uretritis”. México: Publicaciones Mel, 2001. 456p. (p.34-36)
23. Howard B. *Clinical and Pathogenic Microbiology*. USA: St. Louis Mosby Year Book Inc., 1994. 323p. (p. 44-56)
24. González P. *Patología Clínica y estudios genitales*. México: Publicaciones Mel, 2000. 567p. (p.87-90)
25. Akerlund M, Mardh PA. Isolation and identification of *Corynebacterium vaginale* (*Haemophilus vaginalis*) in women with infections of the lower genital tract. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1984;53:85-89
26. Cauci S, *et al.* Prevalence of Bacterial Vaginosis and Vaginal Flora Changes in Peri- and Postmenopausal Women. *Journal of Clinical Microbiology* 2002;40(6):2147-2152
27. Smith SM, Ogbara T, Eng R. Involvement of *Gardnerella vaginalis* in Urinary Tract Infections in Men. *Journal of Clinical Microbiology* 1992;30(6):1575-1576
28. Mason PR. Trichomoniasis; New ideas on an old disease. *S afr Med J* 1980;58(21):857-859
29. Giraldi G. Vaginal trichomoniasis as a pregnancy disturbin factor. *Patol Clin Ostet Ginecol* 1985; 12(supl.1):15-20
30. Falagas ME, Gorbach SL. Tratamiento antimicrobiano con clindamicina y metronidazol. *Clin Med NA. Parte II*. 1995;4:823-844.

31. Goldenberg R, Hauth J, Andrews W. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med* 2000;342:1500-1507.
32. El metronidazol para el tratamiento de vaginitis por *Gardnerella vaginalis*. Disponible en: www.hsmq.cl/farmacia/farm026.htm. 22/01/03
33. Mclean NW, Mcgroarty JA. Growth Inhibition of Metronidazole-Susceptible and Metronidazole-Resistant Strains of *Gardnerella vaginalis* by Lactobacilli In Vitro. *Journal of Clinical Microbiology* 1995;62(3):1089-1092
34. Dhar ML. Screening of Indian plants for biological activity. 1968;232-247
35. Giron, LM, *et al.* Anticandidal activity of plants used for the treatment of vaginitis in Guatemala and clinical trial of a *Solanum nigrescens* preparations. *J Ethnopharmacology* 1988; 22:307-313
36. 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. (p. 9-10)
37. He X, *et al.* An antifungal compound from *Solanum nigrescens*. *J of Ethnopharmacol* 1994;43:173-177
38. Ramírez O. Espectro de inhibición de bacterias patógenas por extractos vegetales. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1988. 49p. (p. 15)
39. Cáceres A, *et al.* Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. *J Ethnopharmacology* 1991;31(3):263-276
40. Cáceres A, *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal infections. *J Ethnopharmacology* 1991;33(3):277-283
41. Cáceres A, Samayoa B. Tamizaje de la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Guatemala: USAC, Cuaderno de Investigación Doc. Tec. No. 6-89, 1989. 138p. (p.19-80)
42. Chapius JC, *et al.* Screening for cytotoxic activity of plants used in traditional medicine. *J Ethnopharmacology* 1988;23(2/3):273-284
43. Cáceres A, *et al.* Diuretic activity of plants used for treatment of urinary ailments in Guatemala. *J Ethnopharmacology* 1987;19(3):233-245
44. Sánchez de Lorenzo C, José M. Medicina alternativa. Disponible en: <http://www.aquilea.com/paginas/fitohumusa1.htm>mulmaria. 11/01/03.
45. Standley PC, Williams LO. Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*. 1970;24(7):51-52.

46. Alcorn JB. Huastec Mayan Ethnobotany. University of Texas Press. Ediciones Austin, 1985. 671p.
47. Lorenzana LF. Actividad biocida de seis plantas de uso medicinal del municipio de Tacana, San Marcos. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 53p. (p. 14, 15)
48. Nicolas JP. Plantes Médicinales des Mayas K'iché du Guatemala. París: Ibis-Press, 1999. 310p.
49. Parker WL, Jonson F. The Structure Determination of Antibiotic Compounds from *Hypericum uliginosum*. J Amer. Chem. Soc. 1968;90:4716
50. Meikle T, Stevens R. Síntesis of the Antibiotics Uliginosin A and Dihydrouliginosin B. Chem Commun. 1972:123-124
51. Taylor HL, Broker RM. The isolation of Uliginosin A and Uliginosin B from *Hypericum uliginosum*. Lloydia, 1969; 32(2):217-219
52. Martínez JV, *et al.* Fundamentos de Agrotecnología de cultivos de plantas medicinales Iberoamericanas. Bogotá: Cytod 2000. p.524
53. Standley PC, Williams LO. Flora of Guatemala. Fieldiana Botany. 1974;24(9):273-274, 289-290.
54. Alain H. Especies con usos no maderables en bosques de encino, pino, pino-encino. Disponible en: <http://www.semarnat.gob.mx/pfpm/salvialavanduloides.html>. 3/01/03
55. Ini. Atlas de las plantas de la medicina tradicional Mexicana. 1994;1:116,165-166.
56. House PR, *et al.* Plantas Medicinales comunes de Honduras. Tegucigalpa: 1995. p. 407, 487.
57. Rodríguez J, *et al.* Flavonoids of Mexican plants. Rev. Latinoamer. Quim. 1974;5: 41-53
58. Ortega A, *et al.* Salviandulines A and B two secoclerodane diterpenoids from *Salvia lavanduloides*. Phytochem 1991;30:3357-3360
59. Maldonado E, *et al.* Salvianduline C, A 5,6-Secoclerodane diterpenoid from *Salvia lavanduloides*. Phytochem 1992;31:217-220
60. Romo de Vivar A, *et al.* Pentacyclic Triterpenes from *Salvia lavanduloides* (Cantueso). Rev. Latinoamer. Quim. 1965;16:51-52
61. Nash NJ. Flora of Guatemala. Fieldiana Botany. 1974;24(12):24-25, 324-325

62. Rios CI. *Thitonia diversifolia* una planta con potencial para llevar a cabo la producción sostenible en áreas del territorio tropical. Disponible en: <http://www.lead.virtualcenter.org/es/ele/conferencia1/Rios14.htm>. 4/02/03
63. Morton JF. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Springfield: 1981:973-974, 978
64. Ross I. Medicinal Plants of the World. Totowa: Humana Press Inc, 1997. 249p.
65. Tona L, *et al.* Biological screening of traditional preparations from some medicinal plants used as antidiarrhoeal in Kinshasa. *Phytomed.* 1999;6:59-66
66. Bork PM, *et al.* Inhibitory activity on NF-KB AS antiinflammatory model and antibacterial effects. *Phytomed.* 1996;3:263-269
67. Chávez PI, *et al.* Cytotoxicity correlations of Puerto Rican plants using a simplified brine shrimp lethality screening procedure. *J. Pharmacog.* 1997;35:222-226
68. Lin CC, *et al.* The antiinflammatory and liver protective effect of *Thitonia diversifolia* (Hemsl.) Gray and *Ciclipteria chinensis* Juss, extracts in rats. *Phytother Res.* 1993;7:305-309
69. Kloss H, *et al.* Preliminary evaluation of some wild and cultivated plants for snail control in Machakos District Kenya. *J. Trop. Med. Hyg.* 1987;90:197-204
70. Glasby JS. Dictionary of plant containing secondary metabolites. London: Taylor & Francis, 1991. 323p.
71. Pereira PS. Sesquiterpene-lactones from Brazilian *Thitonia diversifolia*. *Phytochem.* 1997;45(7):1445-1448
72. Liogier H. Secretaría de Medio ambiente Recursos Naturales y Pesca. Especies con usos no maderables en bosques de encino, pino, pino-encino. Disponible en: <http://www.semarnat.gob.mx/pfnm/vernoniadepepeana.html>. 21/11/02
73. Girón LM, *et al.* Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *J. Ethnopharmacology* 1991;34(2/3):173-187
74. Cáceres A, *et al.* Screening of Antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. *J. Ethnopharmacology.* 1987;20(3):223-237
75. Gentry JL, Standley PC. Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany.* 1974;24(10):104-105
76. Instituto Indigenista Nacional. Guatemala Indígena: 1978;13:1-616
77. Linares E, *et al.* Selección de plantas Medicinales de México. México: Editorial Limusa, 1988. 121p. (p.50-51)

78. Mendieta RM, Del Amo S. Plantas Medicinales del Estado de Yucatán. Xalapa: INIREB, 1981. 313p. (p.311)
79. Morton JF. Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Springfield: C Thomas Publisher, 1981. (p.799-801)
80. Ronquillo FA, *et al.* Especies Vegetales de uso actual y potencial en Alimentación y Medicina de las zonas subáridas del Nororiente de Guatemala. Guatemala: USAC-DIGI, 1989. (p.222-223)
81. Cáceres A, *et al.* Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones. Guatemala: DIGI-USAC, 1991;3:4-90:98
82. Stanley PC, Steyermark J. Flora of Guatemala. Fieldiana Botany. 1974;24(6):28, 42

XIII. ANEXOS

A. Preparación de agar columbia CNA.

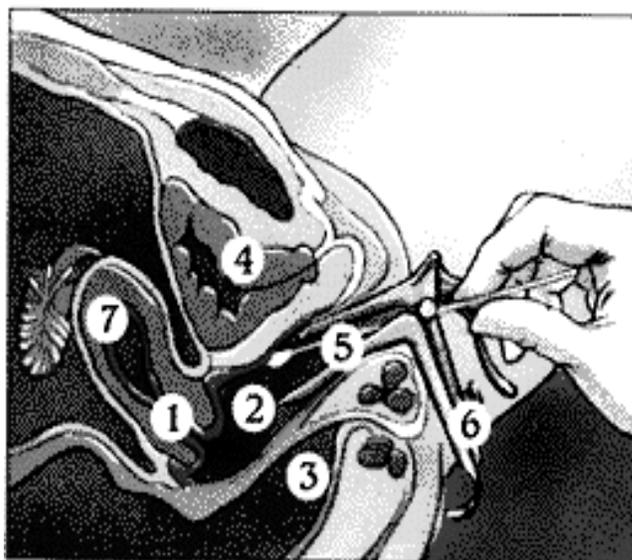
- El agar contiene:
 - Peptona especial (23.0g/L)
 - Almidón (1.0g/L)
 - Cloruro sódico (5.0g/L)
 - Agar (10.0g/L)
- Añadir 39gr a 1000ml de agua destilada.
- Llevar a ebullición hasta lograr una disolución completa.
- Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15min
- Enfriar a 50°C y agregar un 5% de sangre humana.
- Agregar el contenido rehidratado de suplemento Selectivo Garnerella SR119.
- Si se preparan 9.75gr de medio se disuelven en 250mL de agua destilada, se le agregan 25mL de sangre humana heparinizada y 3mL del suplemento.

B. Preparación del suplemento para *Gardnerella vaginalis*.

- El suplemento contiene:
 - Sulfato de gentamicina (2mg)
 - Acido nalidíxico (15mg)
 - Anfotericina B (1mg).
- El vial se rehidrata con 3mL de una mezcla de etanol y agua destilada estéril (1:1)
- Se agrega al agar Sangre Columbia y se mezcla bien.

Tabla 4. Características bioquímicas de *Gardnerella vaginalis* (1-3, 10).

PRUEBA BIOQUÍMICA		REACCIÓN
B-hemólisis en agar bicapa sangre humana-Tween 80 (HBT)		+
Oxidasa		-
Catalasa		-
Hidrólisis del hipurato		+
PRODUCCIÓN DE ÁCIDO A PARTIR DE:		
Glucosa		+
Maltosa		+
Sacarosa		+
Manitol		-
Almidón		+
HALO DE INHIBICIÓN CON:		
Metronidazol (disco de 50µg)	Susceptible	+
Trimetoprim (5µg)	Susceptible	+
Sulfonamida (1000µg)	Resistente	-
Clindamicina (2µg)	Susceptible	+
Ampicilina (10µg)	Susceptible	+

Gráfica 1. Obtención de una muestra vaginal utilizando un espéculo estéril.

1. Cervix
2. Vagina
3. Rectum
4. Bladder
5. Swab
6. Speculum
7. Uterus

Gráfica 2. La prueba del whiff



Tabla 5. Características diferenciales de Vaginosis bacteriana, Candidiasis y Tricomonirosis (1, 10).

		Vaginosis Bacteriana	Candidiasis	Tricomonirosis
Síntomas	Irritación vulvar	-	++	+ -
	Disuria	-	+	++
	Olor	++	-	+ o -
Signos	Eritema labial	-	+ o -	+ o -
	Eritema mucosa vaginal	-	++	++
	Flujo Consistencia	Homogéneo +- espumoso	Espeso	Espumoso
	Color	Gris - blanco	Blanco	Amarillo-verdoso
Laboratorio	PH	5 a 6	<4,5	6,5 a 7
	Directo	Bacilos móviles	Hifas (50%)	Tv (70%)
	Células epiteliales	Clue cells	Normal	Normal
	PMN/cel Epiteliales	<1	Variable	>1
	Test de Amina	++	-	+ o -
Enfermedad Perinatal	++	-	+ o -	