

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

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBIDORA *IN VITRO* DE NUEVE  
PLANTAS GUATEMALTECAS SOBRE *Campylobacter jejuni*, UTILIZANDO EL  
MÉTODO DE DIFUSIÓN EN DISCO

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

EMILY JULIETA ORDÓÑEZ JUÁREZ

PARA OPTAR EL TÍTULO DE

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DEL 2007

## INDÍCE

I. RESUMEN	4
II. INTRODUCCIÓN	6
III. ANTECEDENTES	8
A. Definición	8
B. Epidemiología	8
C. Anatomía Patológica y Patogenia	11
D. Manifestaciones Clínicas	13
E. Complicaciones	14
F. Diagnóstico de Laboratorio	15
G. Aislamiento e Identificación en el laboratorio	16
H. Tratamiento	19
I. Plantas Medicinales	21
J. Plantas a Estudiar	33
IV. JUSTIFICACIÓN	42
V. OBJETIVOS	43
VI. HIPÓTESIS	44

	3
VII. MATERIALES Y METODOS	45
VIII. RESULTADOS	53
IX. DISCUSIÓN	56
X. CONCLUSIONES	58
XI. RECOMENDACIONES	59
XII. REFERENCIAS	60
XIII. ANEXOS	67

## I. RESUMEN

La investigación sobre el uso de extractos vegetales como alternativa terapéutica para el tratamiento de enfermedades, se encuentra en amplia expansión en nuestro país con resultados prometedores. El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar la actividad inhibidora *in vitro* de doce extractos vegetales sobre la bacteria *Campylobacter jejuni*.

Las plantas estudiadas fueron seleccionadas por su empleo en la medicina popular para el tratamiento de enfermedades infecciosas y gastrointestinales. De las nueve plantas seleccionadas se obtuvo por medio del proceso de percolación y concentración un total de 12 extractos etanólicos, y se llevaron a una concentración de 1mg/ml.

El ensayo se trabajó con una cepa de *C. jejuni* ATCC 33229 y una cepa nativa aislada a partir de muestras clínicas. Se recolectaron un total de 40 muestras diarreicas provenientes de niños menores de cinco años de edad, y se aislaron dos cepas nativas de especies de *Campylobacter*, mediante la técnica de filtración por membrana y se identificó una de estas como *C. jejuni*.

La actividad anti-*Campylobacter* de los doce extractos vegetales se evaluó por el método de difusión en disco en agar Columbia enriquecido con sangre de carnero (7.5%), y se realizó un total de cinco repeticiones del ensayo antibacteriano para obtener un nivel de  $\alpha = 0.05$ .

Los resultados obtenidos en esta investigación demostraron que las nueve plantas evaluadas no presentan actividad contra la cepa ATCC 33291 y la cepa nativa de *C. jejuni* aislada de niños menores de cinco años de edad, ya que los extractos etanólicos extraídos de éstas plantas no presentaron actividad inhibitoria *in vitro* ( $p > 0.05$ ) contra dichas cepas. Es importante continuar investigando dentro de la flora guatemalteca, la existencia de plantas con propiedades medicinales que puedan ser utilizadas como alternativa terapéutica en los casos de campilobacteriosis, en vista de su evidente resistencia.

## II. INTRODUCCIÓN

En los países en vías de desarrollo como Guatemala, las enfermedades gastrointestinales son las patologías que afectan con mayor frecuencia a la población en general. La diarrea constituye la principal manifestación clínica, afectando principalmente a niños pequeños pertenecientes a las áreas rurales, en donde el nivel socioeconómico bajo, hacinamiento, falta de higiene y desnutrición, son factores que influyen en la adquisición de esta clase de infección (1-5).

Entre los patógenos entéricos más comunes, sobresalen las especies del género *Campylobacter*, siendo *Campylobacter jejuni* el principal patógeno diarreico en humanos, llegándose a considerar en los países en vías de desarrollo, como la segunda causa de diarrea infantil. Además, la infección por *C. jejuni* en algunos pacientes puede ocasionar una serie de complicaciones, siendo el síndrome de Guillian–Barré la principal complicación reportada a causa de la infección por este patógeno (1-3).

Aún con la falta de programas de vigilancia epidemiológica, se ha podido determinar que en países en vías de desarrollo, *C. jejuni* es una de las bacterias más frecuentemente aisladas en muestras diarreicas de niños pequeños, lo cual es indicativo de la alta incidencia de este microorganismo en este tipo de población; esta incidencia es favorecida por la poca sanitización y el contacto a temprana edad con animales infectados, los cuales son factores que contribuyen a la adquisición de cualquier patógeno entérico, incluyendo especies de *Campylobacter* (1,5-10).

A pesar de la existencia de agentes terapéuticos, utilizados como tratamiento para la infección por *Campylobacter*, se ha puesto de manifiesto la resistencia que presenta *C. jejuni* a una gran variedad de antimicrobianos, lo cual disminuye las opciones terapéuticas que beneficien a los pacientes. Por lo que es importante continuar con la búsqueda de opciones terapéuticas eficaces que beneficien a la población en general (7,9,10).

A lo largo de su historia, el hombre se ha interesado por la utilización de los recursos naturales para el tratamiento de las enfermedades humanas. Diversas investigaciones han determinado los beneficios que aportan diferentes extractos vegetales dentro del campo médico, demostrando la utilidad de éstos como alternativas terapéuticas en diferentes tipos de enfermedades. La importancia de darle continuidad a estas investigaciones ha orientado a que en este estudio, se pretendiera determinar la actividad contra *C. jejuni* de doce extractos etanólicos de nueve plantas naturales: *Curatella americana* (chaparro), *Dorstenia contrajerva* (contrahierba), *Polymnia maculata* (planta de temascal), *Phlebodium pseudoaureum* (calahuala), *Acalypha guatemalensis* (hierba del cáncer), *Bursera simaruba* (alamácigo), *Enterolobium psicrocarpum* (conacaste), *Lippia chiapasensis* (*Lippia curtisiana*), *Miconia glaberrima* (capulín), utilizadas popularmente para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales e infecciosas, aportando nuevas alternativas terapéuticas para las infecciones causadas por esta bacteria (1-4).

### III. ANTECEDENTES

#### A. DEFINICIÓN

El género *Campylobacter* comprende un grupo de bacilos Gram negativo, helicoidalmente curvados y delgados, no esporuladores y poseen uno o dos flagelos polares que le confieren movilidad; miden de 0.2 a 0.5  $\mu\text{m}$  de ancho y de 0.5 a 5  $\mu\text{m}$  de longitud. Se han informado diversas morfologías, entre ellas formas en espiral, en S, en ala de gaviota, de coma y cocoide, siendo la forma cocoide la que se observa con mayor frecuencia después del aislamiento en el laboratorio (1,2-4).

Originalmente el género *Campylobacter* era conocido como *Vibrio fetus*, sin embargo en 1973 se comprobó su diferencia con otros vibriones, por lo que se volvió a clasificar en un género nuevo. Desde entonces, se han identificado más de 15 especies, dividiéndose en dos grandes grupos: los que producen fundamentalmente diarrea y los que causan infección extraintestinal. El principal patógeno diarreico es *Campylobacter jejuni*, que origina un 80 a 90% de los casos de diarrea asociada a *Campylobacter* (3).

#### B. EPIDEMIOLOGÍA

*C. jejuni* se encuentra en todo el mundo como comensales en el tracto intestinal de gran cantidad de animales salvajes y domésticos. En medicina veterinaria las infecciones causadas por estos microorganismos tienen gran interés debido a las serias pérdidas económicas que experimentan los granjeros como resultado de los abortos y la infertilidad de los bovinos y los ovinos infectados (1).

## 1. Mecanismos de transmisión

*C. jejuni* se detecta en el aparato digestivo de muchos animales utilizados en la producción de alimentos (pollos, ganado bovino, ovino y porcino) y animales domésticos (aves, perros y gatos). En general, estos microorganismos no producen enfermedad en los huéspedes animales. Generalmente, *C. jejuni* se transmite al ser humano a través de alimentos crudos o poco cocinados o tras el contacto directo con animales infectados. La enteritis de *Campylobacter* es la forma más frecuente de diarrea bacteriana aguda en países desarrollados pero, en países en vías de desarrollo se considera la segunda o tercera causa de la diarrea infantil (5). En países desarrollados como Estados Unidos, la ingestión de aves de corral contaminadas poco cocinadas es el medio más frecuente de transmisión de la infección (50 a 70 % de los casos). Otros mecanismos de transmisión comprenden la ingestión de leche cruda (no pasteurizada) o agua no tratada, el contacto con animales domésticos infectados, el viaje a países en vías de desarrollo y (en algunos casos) la difusión de persona a persona por la vía fecal-oral, esta última es poco frecuente tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, al igual que la transmisión a partir de manipuladores de alimentos (1,3,7).

## 2. Epidemiología en países desarrollados

*C. jejuni*, ha sido reconocido desde 1970 como agente causal de infección gastrointestinal. Muchas investigaciones clínicas y epidemiológicas han establecido a *Campylobacter* como una de las causas más comunes de enteritis bacteriana en Estados Unidos. Estudios realizados en 1999 por el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), determinaron, a través de vigilancia epidemiológica de casos hospitalarios, que el índice de infección es de 1000 por cada 100,000 personas. Se estima que más de 2 millones de casos ocurren anualmente, con una incidencia similar a la del Reino Unido y otros países desarrollados, afectando tanto a niños como adultos (2,3,7,8-11).



Las infecciones por *Campylobacter* no son raras. Se ha podido determinar, que la enfermedad diarreica por *Campylobacter* en Estados Unidos es más frecuente que la producida por *Salmonella* y *Shigella* juntas. La infección ocurre durante todo el año, pero especialmente en el verano y al principio del otoño (3,6,8). En general son más frecuentes los casos esporádicos que los epidémicos, aislándose en mayor número en niños, adolescentes y adultos jóvenes, y más en varones que en mujeres (1).

### 3. Epidemiología en países en vías de desarrollo

El índice de infección por *Campylobacter* ha ido en aumento en el mundo entero. La vigilancia y el control de enfermedades de importancia en Salud Pública en los países en vías de desarrollo se han empezado a centrar en este tipo de infección, tal y como lo han hecho con las enfermedades tropicales como malaria, tuberculosis, tripanosomiasis, oncocercosis y schistosomiasis (6).

De acuerdo a estudios realizados en países en vías de desarrollo, se ha llegado a considerar que *Campylobacter* es una de las bacterias que se aíslan con mayor frecuencia a partir de muestras diarreicas provenientes de infantes. La mayoría de datos epidemiológicos de campilobacteriosis en los países en vías de desarrollo se han recolectado por el apoyo de laboratorios presentes en estos países. Por medio de estudios realizados con muestras diarreicas de niños menores de cinco años en regiones como África, Nigeria, Sur de Asia, Egipto y Tailandia, se determinó un porcentaje de aislamiento de *Campylobacter* entre un 5 a 20%. En Guatemala en 1992 se reportó una incidencia de *C. jejuni* de 12.1 por ciento en infecciones sintomáticas en niños menores de cinco años (6,8,9).

A pesar de la falta de vigilancia, estudios basados en casos y controles en diferentes comunidades de los países en vías de desarrollo, han proporcionado un estimado de 40,000 a 60,000 infectados por cada 100,000 niños menores de cinco años. En contraste, en los países desarrollados el índice de infección es de 30,000 por cada 100,000 (6).

En los países en vías de desarrollo, las infecciones por *C. jejuni* son de carácter hiperendémico, con una incidencia máxima entre los niños menores de 5 años de edad (1,7,9,10). Las tasas de infección disminuyen con la edad, al igual que el cociente enfermedad: infección; estas observaciones indican que la exposición frecuente a *C. jejuni* conduce a la adquisición de inmunidad (3,10).

También se ha reportado una diferencia en el tiempo de excreción de *Campylobacter* después de la infección; el organismo es excretado en un rango de 1 a 2 semanas después del cese de la diarrea en los casos reportados en los países desarrollados, comparado con la duración de una semana en los países en vías de desarrollo (10).

#### 4. Epidemiología en pacientes inmunosuprimidos

En pacientes inmunosuprimidos, *Campylobacter* produce una infección grave, prolongada o recurrente, que en ocasiones puede comprometer la vida del paciente. Entre las personas con mayor riesgo se encuentran los pacientes con SIDA, hipogammaglobulinemia, neoplasia, hepatopatía, diabetes mellitus o aterosclerosis generalizada; sin embargo, no se conoce ampliamente la incidencia de infección por *C. jejuni* en estos pacientes (1,3).

### C. ANATOMÍA PATOLÓGICA Y PATOGENIA

La patogenia de *C. jejuni* depende tanto de factores específicos del patógeno como del hospedero. La salud, edad del hospedero y la inmunidad humoral específica de exposiciones previas al agente, influyen clínicamente en el resultado después de la infección (11). La susceptibilidad individual a la infección parece variar de forma considerable. Los estudios epidemiológicos han demostrado que la ingestión de apenas 500 microorganismos en la leche puede provocar la enfermedad en algunas personas, mientras que en otras la ingestión de menos de  $10^6$  microorganismos no causa diarrea. Es probable

que la variación de la virulencia relativa de las diferentes cepas también sea un determinante importante de la dosis infecciosa (4,12).

Los mecanismos patogénicos por los que *C. jejuni* produce diarrea no son del todo conocidos. La anatomía patológica macroscópica y el aspecto histológico de ulceración y superficies mucosas hemorrágicas e inflamadas en yeyuno, íleon y colon son compatibles con la invasión de la bacteria, así como la producción de ciertos tipos de citotoxinas (1,4,7). Aparentemente, la movilidad y la adherencia de la bacteria a los tejidos del huésped favorecen la enfermedad (3,4). Se han identificado tres propiedades potencialmente patogénicas del *C. jejuni*: invasividad, producción de enterotoxina y producción de citotoxina (4).

La colonización del revestimiento mucoso del tracto gastrointestinal parece desempeñar un papel importante en la capacidad del microorganismo de producir la enfermedad. Para la colonización son cruciales los flagelos que incrementan la adherencia y que en virtud de su motilidad permiten que los microorganismos atraviesen la capa mucosa que cubre la superficie del intestino (4).

Muchas infecciones por *C. jejuni* tienen una evolución subclínica, sobre todo en los hospederos parcialmente inmunizados. La mayoría de los casos de enfermedad ocurren a los 2 a 4 días (intervalo 1 a 7 días) de la exposición al microorganismo a través de los alimentos o del agua. La biopsia muestra una reacción inflamatoria aguda inespecífica con neutrófilos, monocitos y eosinófilos en la lámina propia, así como lesión del epitelio, que se caracteriza por la pérdida de la capa de moco, degeneración glandular y abscesos en las criptas. Los datos de la biopsia pueden ser compatibles con una enfermedad de Crohn o una colitis ulcerosa, pero nunca deben diagnosticarse estas enfermedades inflamatorias crónicas “ideopáticas” a menos que se haya descartado una colitis infecciosa y, de manera específica, la causada por *Campylobacter* (3).

## D. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La presentación clínica en los pacientes con infección por *C. jejuni* depende de las condiciones y la edad del hospedero. Individuos que han padecido infección por *C. jejuni* han experimentados diferentes grados de diarrea que oscilan desde deposiciones blandas, hasta el padecimiento de un cuadro diarreico severo con abundante pérdida de agua provocando deshidratación. Con frecuencia, las deposiciones son sangrientas y en algunas ocasiones pueden contener moco o material purulento; la mayoría de los pacientes que acuden al médico refiere la eliminación de 10 o más deposiciones durante el peor día de la enfermedad (13). La diarrea se acompaña de dolor abdominal, y habitualmente se observan prodromos con fiebre, cefalea, mialgias, vómitos y malestar general 12 a 48 horas antes del inicio de los síntomas diarreicos. El dolor abdominal suele ser espasmódico y a veces constituye el síntoma cardinal, el cual suele ser generalizado, pero también puede localizarse.

La fiebre constituye en ocasiones la única manifestación inicial de la infección por *C. jejuni*, con lo que puede simular las primeras etapas de la fiebre tifoidea. Algunos niños pequeños con fiebre sufren crisis convulsivas (4,13). La enteritis por *Campylobacter* suele ser un proceso que se resuelve espontáneamente, pero los síntomas persisten durante más de una semana, en el 10 a 20% de los enfermos que solicitan atención médica y se producen recidivas en el 5 a 10% de los enfermos no tratados (2-4).

La excreción del microorganismo en la etapa convaleciente de la enfermedad, tarda aproximadamente 16 días. Los niños entre 1 y 5 años de edad excretan al microorganismo por un período de 8 días, mientras que los niños menores de un año continúan excretando al microorganismo por 14 días después de la infección. Evidencia reciente indica que algunos pacientes padecen del síndrome de intestino irritable luego del episodio de enteritis por *C. jejuni*, sin embargo el padecimiento de este síndrome no es tan común (13).

## E. COMPLICACIONES

La bacteremia es rara y ocurre fundamentalmente en los huéspedes inmunodeprimidos y en los dos extremos de edad. Se han descrito tres patrones de infección extraintestinal:

- 1) Bacteremia transitoria en un huésped normal con enteritis.
- 2) Bacteremia mantenida o infección localizada en un huésped normal.
- 3) Bacteremia mantenida o infección focal en un huésped inmunodeprimido.

No siempre se puede demostrar la presencia de enteritis. Se requiere de un tratamiento antimicrobiano prolongado, para suprimir o curar la infección (1,3,4).

Las infecciones por *Campylobacter* en los pacientes con SIDA o hipogammaglobulinemia pueden ser graves, persistentes y sistémicas; las recaídas tras la interrupción del tratamiento son frecuentes. Los enfermos con hipogammaglobulinemia pueden presentar también osteomielitis y un exantema de tipo erisipeloide (3).

Para la población en general las complicaciones supurativas locales de la infección comprenden colecistitis, pancreatitis y cistitis; las complicaciones a distancia son meningitis, endocarditis, artritis, peritonitis, celulitis o aborto séptico. Todas ellas son raras (7). En ocasiones pueden observarse hepatitis, nefritis intersticial o síndrome hemolítico-urémico como complicaciones de la infección aguda. Varias semanas después de la infección pueden desarrollarse artritis reactiva y otros síntomas reumatológicos. El síndrome de Guillain-Barré es una complicación rara de la infección por *Campylobacter* (1 de cada 100 a 200 casos). Se calcula en el momento actual que las infecciones por *Campylobacter* pueden desencadenar un 20 a 40% de todos los casos de síndrome de Guillain-Barré (3).

## F. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

El examen directo de las heces es una herramienta de utilidad en la investigación inicial del paciente con enteritis. La microscopía de campo oscuro o de contraste de fases, sobre todo en la fase aguda de la enfermedad, puede revelar la característica movilidad en “saeta” de *C. jejuni*, lo cual aporta un diagnóstico presuntivo en forma rápida (1,3,4,9,12).

También se deben observar frotis fecales con tinción de Gram o de Wright en todos los casos sospechosos (3). Se utiliza la técnica de Gram modificado para observar bacilos Gram negativo sugestivos de *Campylobacter*, pero la sensibilidad de este método es de 50-75%. La microscopía directa también es útil para demostrar hematíes y polimorfonucleares que están presentes en las heces de la mayoría de los pacientes con enteritis por *C. jejuni* (2,12).

La confirmación del diagnóstico de la infección por *Campylobacter* se basa en el aislamiento de la bacteria en los cultivos de heces, sangre u otra localización. Deben utilizarse medios específicos para *Campylobacter* cuando se cultiven heces de todos los pacientes que presenten diarrea inflamatoria o sanguinolenta. La detección del microorganismo en las heces casi siempre implica una infección; existe un breve período de estado de portador en las heces después de la convalecencia, sin relación de comensal. Se debe señalar que el cultivo cobra especial importancia en el diagnóstico de enfermedad sistémica, ya que es la única forma de demostrar bacteremia (12).

Se ha determinado la efectividad de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la identificación de especies de *Campylobacter* a partir de muestras clínicas. A pesar del alto costo y de la laboriosidad de la técnica, el PCR detecta e identifica rápidamente las diferentes especies del género *Campylobacter*, ya que los resultados se obtienen el mismo día del procesamiento de las muestras. El cultivo en medios selectivos, es tan bueno como el PCR para la detección de *C. jejuni*, es un método económico y práctico y continúa considerándose como el mejor método para la identificación y la detección de especies de *Campylobacter* a partir de muestras clínicas (14-16).

En Estados Unidos y en algunos países europeos se han descrito técnicas para la identificación de especies de *Campylobacter*, las cuales se basan en la detección de antígenos de superficie como lipopolisacáridos (LSP) o lipooligosacáridos (LOS); estas técnicas comprenden los métodos de hemoaglutinación pasiva (PHA) y hemoaglutinación directa (DHA). Sin embargo continúan investigándose nuevas técnicas que contribuyan en el laboratorio, para la identificación y diagnóstico de las infecciones causadas por especies del género *Campylobacter* (17).

## G. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN EN EL LABORATORIO

### 1. Muestra

La materia fecal proveniente de pacientes con gastroenteritis es la muestra de elección para el aislamiento de las especies de *Campylobacter*. Dependiendo de las circunstancias clínicas y del tiempo que conlleva el transporte de éstas hasta el laboratorio, es recomendable obtener dos muestras de cada paciente, ya que el tiempo de transporte puede afectar la recuperación del microorganismo (4,7,14).

Considerando que *C. jejuni* es un microorganismo fastidioso, sensible al oxígeno, y que requiere de condiciones especiales para su aislamiento, se requiere de un medio de transporte que brinde las condiciones adecuadas para mantenerlo viable, desde la toma de muestra hasta su procesamiento en el laboratorio (14,15). El medio Cary – Blair, es el más utilizado y es el medio de transporte más adecuado para especies de *Campylobacter*, así como para otros patógenos entéricos (7, 9).

Una vez recolectada la muestra, se toma una pequeña cantidad utilizando un hisopo estéril, éste se introduce en el medio de transporte y se corta una pequeña porción del hisopo con la finalidad de sellar completamente el vial que contiene la muestra. Las

muestras transportadas en este medio, deben ser almacenadas a 4 °C si no se procesan inmediatamente (7,9,18)

## 2. Aislamiento

### a. Medios de cultivo

El aislamiento del *C. jejuni* de materia fecal ha sido facilitado por el desarrollo de medios selectivos. Actualmente, se considera que los medios selectivos apropiados para el aislamiento de *Campylobacter* incluyen los medios Butzler, Skirrow, Campy-BAP, CCDA (charcoal-cefoperazona-deoxycholate agar), y CSM (charcoal-based selective médium). Estos medios contienen diversos antibióticos que inhiben la proliferación excesiva de la microbiota fecal y rectal competitiva (2,4,7,19-23).

### b. Requerimientos atmosféricos

*C. jejuni*, es un microorganismo fastidioso, el cual requiere de una atmósfera microaerófila que contenga aproximadamente 5% de O<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub>, y 85% de N<sub>2</sub> para lograr una recuperación óptima. La concentración de oxígeno generada en jarra con candela no es lo suficientemente efectiva para el aislamiento de *Campylobacter* y no es recomendado en los procedimientos de rutina para el aislamiento de este microorganismo (2,4,7,9,19,22,23).

### c. Temperatura

El aislamiento de *C. jejuni* a partir de muestras clínicas, requiere la incubación de las placas primarias a una temperatura de 42 a 43 °C; ya que, aunque *C. jejuni* crece bien entre 36 a 37 °C, la incubación a temperaturas más elevadas suprimen la microbiota



intestinal normal competitiva y permiten la proliferación de bacterias termófilas, simplificando así la identificación de *C. jejuni* (4,9,22,23).

#### d. Características del crecimiento

Las colonias se desarrollan totalmente en 24 a 48 horas; dependiendo del medio utilizado, tienden a ser incoloras o de color gris. Pueden ser acuosas y extenderse o redondas y convexas, y ambos tipos de colonias pueden aparecer sobre las placas de agar. No se observa ningún tipo de hemólisis en el medio (4,7,23).

### 3. Método de Filtración por membrana

#### a. Definición

Actualmente la técnica de filtración por membrana es utilizada para el aislamiento de las especies de *Campylobacter* a partir de muestras clínicas; es un método bastante efectivo, el cual se basa en la capacidad que poseen estos microorganismos de pasar con relativa facilidad, a través de una membrana de nitrato de celulosa con un poro de 0.45 – 0.65  $\mu\text{m}$  de diámetro, mientras que el resto de la microbiota intestinal competitiva queda retenida en la superficie del filtro (7).

#### b. Medios utilizados

Para la realización de la técnica de filtración por membrana, generalmente se utilizan medios no selectivos para el aislamiento de *C. jejuni*, sin embargo se ha reportado mejores resultados al utilizar medios selectivos, ya que se ha obtenido un mayor porcentaje de recuperación del microorganismo (7,9,23).

### c. Procedimiento

La técnica de filtración por membrana, consiste en la colocación de un filtro de membrana estéril sobre la superficie del medio. Una vez colocado el filtro estéril sobre el medio, se procede a colocar 10 a 15 gotas de una suspensión de la muestra, incubando a 42 °C en condiciones microaerofílicas por una hora. El filtro es removido pasado este tiempo y las placas se incuban nuevamente bajo las mismas condiciones por 48 horas más (7,9).

### 4. Identificación

La identificación de *C. jejuni* inicia con la tinción de Gram, en la cual se puede observar bacilos Gram negativo con forma de coma, S o “ala de gaviota”, las cuales son las morfologías típicas de este microorganismo (2,4,7,9).

Dentro de las pruebas bioquímicas *C. jejuni* es oxidasa y catalasa positivo y no oxida ni fermenta los carbohidratos. Para la identificación subsecuente de la especie pueden emplearse reducción del nitrato, producción de sulfuro de hidrógeno, hidrólisis del hipurato y susceptibilidad antibiótica por medio del método de difusión en disco. La hidrólisis del hipurato constituye una de las pruebas más importantes para distinguir *C. jejuni* de otras especies de *Campylobacter* (7,22).

La sensibilidad al ácido nalidíxico y a la cefalotina que presentan las diferentes especies del género *Campylobacter*, es utilizado rutinariamente como una ayuda en la identificación de las diferentes especies (7,9,19,22,23).

## H. TRATAMIENTO

La reposición hidroelectrolítica es importante para el tratamiento de las enfermedades diarreicas. Menos de la mitad de los pacientes que acuden al médico con

enteritis por *Campylobacter* se benefician del tratamiento antimicrobiano específico. Las indicaciones de este tipo de tratamiento comprenden fiebre alta, diarrea sanguinolenta, diarrea intensa, su persistencia durante más de una semana y el empeoramiento de los síntomas. El tratamiento recomendado consiste en un ciclo de 5 a 7 días de eritromicina (250 mg por vía oral, 4 veces al día; en los niños de 30 a 50 mg/kg al día, repartido en varias dosis). La sensibilidad *in vitro* de las especies de *Campylobacter* a los macrólidos, como la claritromicina y la azitromicina, indica que estos fármacos también podrían constituir alternativas útiles al tratamiento convencional. El ciprofloxacino (500 mg por vía oral dos veces al día), u otra fluoroquinolona, durante 5 a 7 días, representa otra opción terapéutica, pero las resistencias a este grupo de fármacos están aumentando. Otras alternativas son la tetraciclina y la furazolidona. No se recomienda la administración de antiperistálticos, ya que se pueden prolongar la duración de los síntomas y se han asociado a megacolon tóxico y casos de muerte. Algunas cepas de *C. jejuni*, pueden producir  $\beta$ -lactamasas que parecen ser activas contra amoxicilina, ampicilina, y ticarcilina; ha sido reportado que estas enzimas son inhibidas por el ácido clavulánico, pero no son inhibidas por sulbactam o tazobactam (1,2,4).

En las infecciones generales se debe iniciar tratamiento empírico con gentamicina, imipenem o cloranfenicol, pero siempre debe realizarse el antibiograma. Se puede utilizar como alternativa el ciprofloxacino y la amoxicilina/ácido clavulánico. En ausencia de inmunodepresión o infecciones endovasculares, el tratamiento se debe administrar durante 14 días (3).

#### Susceptibilidad Antimicrobiana

*C. jejuni* ha mostrado una susceptibilidad variada a un gran número de antimicrobianos, entre los cuales se pueden mencionar a los macrólidos, aminoglucósidos, cloranfenicol, nitrofurantoina y tetraciclina. El tratamiento de elección es la eritromicina; generalmente *C. jejuni* es susceptible a este antimicrobiano, con un índice de resistencia menor del 5%. En Guatemala se reportó, en el año 2000, un índice de resistencia del 3% a la eritromicina y 1% a la tetraciclina, por lo que se consideró a estos dos antimicrobianos

las principales alternativas terapéuticas para la infección por *C. jejuni* (7,9). Sin embargo, la susceptibilidad presentada por los microorganismos va cambiando, diversos estudios han reportado un incremento en el desarrollo de resistencia principalmente a los tratamientos de elección (3,6,8,9,20). En Guatemala González WP, reportó una variación en los patrones de susceptibilidad de *C. jejuni*, observándose un incremento en el desarrollo de resistencia a los agentes antimicrobianos de elección y a los utilizados como tratamiento alternativo (9, 19).

Aunque la ciprofloxacina ha sido efectiva para el tratamiento de las infecciones por *Campylobacter*, se ha reportado la emergencia de cepas resistentes a este fármaco; así mismo, se han realizado varios estudios *in vitro*, en los cuales se ha puesto de manifiesto el incremento de resistencia a diferentes antimicrobianos, destacándose la resistencia que presenta *C. jejuni* a las fluoroquinolonas. Se ha determinado que el aumento de cepas resistentes a este tipo de fármacos, es causa del amplio uso de los antimicrobianos en medicina veterinaria, principalmente en los animales utilizados para la producción de alimentos, así como la presencia de enzimas y la adquisición de nuevos genes que le confieren resistencia a una gran variedad de fármacos (6,20,21).

## I. PLANTAS MEDICINALES

### 1. Productos naturales derivados de plantas

La historia antigua de la botánica está íntimamente relacionada con el interés del hombre por la utilización de materiales vegetales para el tratamiento de las enfermedades humanas. Las crónicas de los egipcios, los griegos y los romanos precristianos, tratan de varios miles de especies vegetales que se utilizaban comúnmente como agentes medicinales (24).

El mundo natural ha sido utilizado para dar origen a una gran variedad de agentes medicinales, siendo los componentes vegetales la principal fuente de estos. Hoy en día, la

mayoría de plantas conservan su significancia histórica como una fuente importante de agentes medicinales, utilizados como modelo para las modificaciones y optimización de la estructura sintética y semisintética de nuevas drogas, para pruebas bioquímicas y/o farmacológicas, y como una fuente de inspiración para la generación de medicina orgánica sintética (25,26).

Una gran cantidad de plantas han sido utilizadas por la humanidad como fuente de agentes medicinales desde el principio. De hecho, los productos naturales han dado origen a una gran variedad de drogas utilizadas en la actualidad. Actualmente, los productos naturales y sus derivados todavía representan más del 50% de todas las drogas utilizadas en el área clínica (25).

En numerosas ocasiones, las tradiciones de diferentes culturas han contribuido a la utilización de plantas con propiedades medicinales. Hace aproximadamente dos siglos, la investigación química y la purificación de extractos de plantas dieron a conocer que las plantas tenían propiedades medicinales y las que eran utilizadas como toxinas y venenos en su hábitat nativo, producían numerosos compuestos los cuales han demostrado ser indispensables en la práctica de la medicina moderna (25).

La investigación de drogas naturales algunas veces conduce a resultados inesperados, tal como lo hace cualquier otro tipo de búsqueda científica; ya que existen casos en los cuales se ha demostrado accidentalmente la actividad de compuestos vegetales sobre una enfermedad específica y al mismo tiempo se ha comprobado su utilidad para el tratamiento de otras afecciones (26).

## 2. El papel de las plantas en la medicina moderna

Existe un gran número de plantas poseedoras de propiedades medicinales, algunas de las cuales son bien conocidas, pero en su gran mayoría permanecen ignoradas. Sin

embargo, en nuestras áreas urbanas y rurales, se aprovechan las cualidades terapéuticas de algunas de ellas (27).

Se dice que la ciencia botánica moderna empezó durante los siglos XV a XVII con los estudios y escritos de los herbolarios, quienes se dedicaron a la descripción y la ilustración de miles de especies vegetales (24).

El retorno hacia el uso de los productos de origen natural en terapéutica, se ha visto favorecido por el descubrimiento de graves efectos secundarios en fármacos de síntesis, un mayor conocimiento químico, farmacológico y clínico de las drogas vegetales y sus productos derivados, el desarrollo de nuevas formas de preparación y de administración de las drogas vegetales y sus extractos, el desarrollo de métodos analíticos que garantizan un mejor control de calidad y al aumento de la automedicación, ya que los productos fitoterapéuticos son, en general, menos peligrosos y por tanto más aptos para la automedicación (28).

La química moderna ha producido una vasta colección de drogas sintéticas, que han remplazado a muchas de las antiguas y bien establecidas drogas vegetales, pero otras, son sustancias todavía importantes dentro del campo médico actual. Las fuentes de los importantes alcaloides atropina, morfina, estricnina y quinina son, respectivamente, la belladona, la adormidera, la nuez vómica y la quina. El té y el café deben sus propiedades estimulantes a su contenido de un alcaloide, la cafeína. La digitalina, que contiene varios principios activos conocidos como glucósidos, es utilizada en el tratamiento de ciertas enfermedades del corazón (24,26).

El continuo interés en algunos sectores de la industria farmacéutica acerca de las propiedades medicinales de la mayoría de especies vegetales, es demostrado por las continuas investigaciones realizadas por compañías farmacéuticas con el propósito de elaborar drogas a partir de compuestos naturales, para tratar diferentes enfermedades como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, y alteraciones del sistema nervioso central (24).

### 3. Papel de los productos naturales como base para el diseño, síntesis, y desarrollo de nuevos compuestos farmacéuticos

Además de los metabolitos secundarios derivados de plantas, los cuales tienen una aplicación en medicina como entidades farmacéuticas, muchos otros compuestos de plantas han sido utilizados como base para la síntesis o semisíntesis de nuevas drogas. Los componentes naturales de importancia farmacéutica que fueron obtenidos en un principio a partir de plantas, pero que actualmente son producidos industrialmente en gran parte por síntesis incluyen la cafeína, L-dopa, ácido salicílico, efedrina, pseudoefedrina, entre otros (24,25). El  $\beta$ -caroteno, metabolito vegetal primario el cual puede ser utilizado para prevenir y/o tratar cánceres, es actualmente producido sintéticamente (25).

Sin embargo, a pesar de los grandes beneficios que se derivan de las plantas, tanto en el campo médico como en el área industrial, es frecuente que se olviden los metabolitos vegetales secundarios, los cuales pueden ser útiles como modelos o bases químicas para la síntesis de nuevas drogas industriales. Por ejemplo, la quinina, cocaína, ácido salicílico, y morfina han sido la base para la síntesis de los anticolinérgicos; por lo que estos y muchos otros ejemplos son útiles para demostrar el gran valor y la importancia de los componentes de la mayoría de plantas como fuente para el desarrollo de nuevas entidades farmacéuticas (25,26).

### 4. El futuro de los productos derivados de plantas

A pesar del avance que se ha tenido en el desarrollo de drogas a partir de productos naturales, se ha estimado que únicamente del 5 al 15% de cada 250,000 especies de plantas existentes han sido investigadas en lo que respecta a la presencia de compuestos biológicos activos. El reino vegetal del mundo entero ha recibido relativamente muy poca atención como un recurso que posee un gran potencial dentro del campo médico. Debido a que una variedad de compuestos vegetales pertenecen a un género o especie específica, las oportunidades son excelentes de encontrar muchas otras plantas con propiedades biológicas

que no han sido descubiertas. Por esta razón, existe la esperanza que en el futuro, el descubrimiento de plantas con propiedades medicinales y la elaboración industrial de drogas a partir de compuestos vegetales sea facilitado por medio de la utilización de métodos biológicos de investigación los cuales requieren una mínima cantidad de muestra (24,25).

## 5. Componentes de las plantas y su acción

Los principios activos de las plantas medicinales son sustancias que la planta ha sintetizado y almacenado en el curso de su crecimiento. Sin embargo, no todos estos productos metabólicos tienen un valor medicinal directamente aprovechable. En todas las especies están presentes al mismo tiempo principios activos y sustancias indiferentes. Estas últimas, llamadas también de lastre, determinan la eficacia del medicamento vegetal en cuestión al acelerar o hacer más lenta la absorción de los primeros en el organismo. Esta es la primera de las peculiaridades de los medicamentos de origen vegetal (29).

Casi siempre en una misma planta existen varios componentes medicinalmente activos, de los cuales uno de ellos, que es el principal, determina las aplicaciones que tendrá la especie en cuestión. Los principios activos no se distribuyen de una manera uniforme por toda la planta. Algunos se concentran preferentemente en flores, otros en hojas o raíces, y otros se encuentran con mayor frecuencia en semillas, en frutos o en corteza (29).

El contenido en principios activos de una planta medicinal varía, dependiendo del hábitat de la misma, de la recolección y de la preparación. Esto constituye una desventaja pero puede evitarse en gran medida recolectando en la época más adecuada y preparándola con el máximo cuidado. La mayoría de las plantas medicinales desarrollan plenamente su eficacia solo cuando se las emplea por períodos prolongados de tiempo (30).



#### a. Alcaloides

Son sustancias orgánicas de origen vegetal con una actividad fisiológica muy intensa en dosis pequeñas. Contienen nitrógeno en su molécula y con frecuencia se presentan combinados con ácidos orgánicos o taninos (30).

Se trata, por regla general, de sustancias muy activas, en cierta medida “venenos medicinales”. Todas las plantas que los tienen como principal componente no son por tanto indicadas para una terapia en forma de té. En la industria farmacéutica son utilizados para reforzar la acción curativa de la planta sin destacar por su parte de un modo especial (29).

En la actualidad se conocen más de 4000 alcaloides, aunque su presencia probablemente quede reducida a menos del 10% de las especies botánicas. Su gran actividad exige una gran preocupación en su empleo por causar intoxicaciones en muchas ocasiones mortales (30).

#### b. Principios amargos

Este término se refiere a todas aquellas especies cuya base de acción se basa de manera exclusiva en la presencia de los llamados “principios amargos”, los cuales estimulan intensamente la secreción de jugos gástricos y desarrollan, además, una acción tónica general (30).

A estos productos se les llama en fitoterapia *Amara*, y se les ha dividido en:

- i. Productos amargos puros, *Amara tónica* (29).
- ii. Productos que además de los principios amargos contienen aceite esencial en una cantidad digna de ser tenida en cuenta y que por lo tanto tienen un sabor amargo-aromático, *Amara aromática* (29).

iii. Productos que contienen sustancias picantes y que por lo tanto tienen un sabor amargo y picante, *Amara acria* (29).

Este tipo de compuestos tienen una acción directa sobre la secreción del jugo gástrico, por lo cual se les utiliza cuando hay falta de apetito o cuando es necesario mejorar la digestión. Son igualmente eficaces para luchar contra diversos estados de debilidad, convalecencia y personas con agotamiento nervioso y anemia, constituyendo una ayuda segura si el uso se hace por medio de una cura regular (30).

Los *Amara aromática* actúan sobre el estómago al igual que los productos amargos. Muchas veces la producción del jugo gástrico que estimula este tipo de compuestos, se ve reforzado ya que los aceites esenciales estimulan las vías reflejas de la secreción gástrica por medio de su aroma. Su influencia se extiende también hasta el intestino y las funciones biliar y hepática. Los *Amara aromática* también poseen propiedades antibacterianas y antiparasitarias. Estas características son especialmente apreciadas para el caso de los fenómenos fermentativos en el intestino. Algunos, incluso, son ligeramente diuréticos, que es un efecto secundario provechoso muchas veces (30).

Los productos amargos que contienen sustancias picantes son raros entre las plantas medicinales. Todas ellas mejoran la función circulatoria, las sustancias picantes refuerzan la acción de las sustancias amargas (29).

#### c. Aceite esencial

Los aceites esenciales son concentrados aceitosos que se extraen por medio de algún proceso de las hojas, flores, semillas, corteza, raíces o frutos de diversas plantas; generalmente se evaporan al contacto con el aire, por lo que también son conocidos como aceites volátiles (31,32). La mayor parte de los aceites se obtienen de plantas a través de procesos destilación. Los aceites esenciales tienen una enorme cantidad de usos y se obtienen tanto de plantas cultivadas como de plantas silvestres. La FAO (1998) estima que

existen alrededor de 3,000 aceites esenciales conocidos a nivel mundial, de los cuales aproximadamente el 10% tienen importancia comercial (31).

La mayoría de los aceites se usan en cosméticos, masajes, aromaterapia, artesanías o en productos de limpieza; otros son usados como repelentes de insectos tanto para el hombre como para el ganado, y en medicina se aplican en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones. Son muy frecuentes en el reino vegetal, sin embargo en herbolistería se incluyen dentro de este grupo solamente aquellas especies medicinales que contienen aceites aromáticos en una cantidad relativamente elevada, entre el 0.1 y el 10% (31).

Todas las plantas medicinales que contienen aceites esenciales poseen en común las propiedades curativas tales como antiinflamatorias en las irritaciones cutáneas más o menos intensas, expectorantes, diuréticas, antiespasmódicas y tonificantes sobre estómago, intestino, bilis e hígado. Las plantas medicinales con aceite esencial combaten a los agentes patógenos, a las bacterias y posiblemente, a los virus (29).

#### d. Flavonoides

Los flavonoides son otro grupo de metabolitos secundarios ampliamente presentes en las plantas y se les atribuyen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. Biosintéticamente poseen un origen mixto a partir del ácido shikímico y de acetilcoenzima A vía malonilcoenzima A (32).

Se trata de un concepto global aplicado a distintas sustancias que tienen una misma composición química base. Las propiedades físicas y químicas son muy variables por lo que no se puede dar una idea general sobre el efecto que causan. Sin embargo, hay tres acciones características: acción sobre la rotura anormal de los capilares, acción en determinados trastornos cardíacos y circulatorios, y acción antiespasmódica en el tracto

digestivo. De todas maneras, no hay duda de que los flavonoides participan activamente en el efecto global causado por la planta medicinal (28).

#### e. Taninos

Son compuestos polifenólicos muy astringentes y de gusto amargo. Se dividen en hidrolizables y condensados. Industrialmente se han utilizado para curtir pieles, al eliminar el agua de las fibras musculares. La importancia de los taninos en el mundo vegetal es su capacidad para proteger a las plantas contra las heridas que sufren y el hecho de que las protegen de los ataques exteriores, bien porque resultan tóxicos para los microorganismos o herbívoros, o porque no son digeribles para estos últimos (33).

Los taninos cumplen una función cicatrizante y hemostática, ya que aceleran la curación de las heridas y ayudan a detener el proceso de sangrado. Son componentes vegetales que están en condiciones de ligar las proteínas de la piel y de la mucosa, y transformarlas en sustancias insolubles resistentes (29,33). Por su acción astringente, resultan eficaces en el tratamiento de la diarrea, contribuyendo a que el organismo pueda realizar deposiciones más secas. Se consideran antioxidantes por su capacidad para eliminar los radicales libres, previniendo la aparición de numerosas enfermedades degenerativas, entre ellas el cáncer. Así mismo, la función antibacteriana de los taninos se produce fundamentalmente al privar a los microorganismos del medio apropiado para que puedan desarrollarse (33).

En general tienen una acción antidiarréica, vulneraria, antimicrobiana, antifúngica, inhibidora enzimática y antídoto de alcaloides y metales pesados. Aunque su toxicidad es baja en principio, pueden ocasionar intolerancias gástricas y estreñimiento (29).

## f. Glucósidos

Son sustancias orgánicas donde la función carbohidrato está formada de una o más moléculas de monosacáridos. Están combinados con grupos no azucarados (agliconas); son compuestos fácilmente hidrolizables por la acción de enzimas o ácidos y se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas (33). Entre los que tienen interés toxicológico destacan:

### i. Glucósidos cianogenéticos

Son heterósidos de 2-hidroxinitrilos, que al hidrolizarse por la acción de enzimas, liberan un azúcar y ácido cianhídrico. Las enzimas se encuentran en compartimientos celulares diferentes a los heterósidos cianogenéticos por lo que la hidrólisis se producirá al aplastar o romper la planta. Destacan en el laurel cerezo, en las semillas de distintos árboles frutales, en las semillas de lino, en la hortensia (30).

### ii. Glucósidos Goitrogénicos o Bociógenos

También conocidos como heterósidos azufrados o glucosinolatos. Se emplean en fitoterapia por su acción irritante sobre las mucosas. Son característicos de las Crucíferas considerándose tóxicas para el ganado de granja (29).

### iii. Glucósidos Cardiacos

Actúan sobre el músculo cardíaco, regulando su ritmo y aumentando la potencia del corazón, por lo que se utilizan para tratar insuficiencias cardíacas o problemas de arritmia. Utilizados en dosis no adecuadas resultan muy peligrosos porque aceleran demasiado el ritmo cardíaco produciendo taquicardias, además de otros efectos negativos en el aparato digestivo, sistema nervioso y musculatura. Cuando superan ciertos niveles producen la muerte por paro cardíaco (33).

#### g. Ácido Silícico

Las plantas de las familias de las equisetáceas, borragináceas y gramíneas absorben gran cantidad de ácido silícico del suelo y lo almacenan en su membrana celular o en el protoplasma. Ya que este ácido es un elemento imprescindible en el cuerpo humano, especialmente en tejido conjuntivo, piel, pelo y uñas, con las plantas medicinales que lo contengan es posible lograr una mejoría en donde se han producido daños, debido a una disminución de esta sustancia en la alimentación (28,33).

#### h. Saponinas o Saponósidos

Las saponinas son glucósidos vegetales caracterizados por producir espuma en el agua cuando se mezclan y se remueven, lo que les ha valido su condición de jabones naturales y ha hecho que algunas plantas como la jabonera (*Saponaria officinalis*) fueran utilizadas como tal desde hace mucho tiempo. Disminuyen la capacidad de absorción de los alimentos en el tubo digestivo, por lo que se han utilizado en regímenes de adelgazamiento y para eliminar las mucosidades bronquiales (33).

Muchas plantas con saponinas poseen también efecto diurético y se las utiliza con frecuencia para las llamadas curas de depuración de la sangre (curas de primavera y de otoño). Son asimismo eficaces contra las impurezas cutáneas y las dolencias reumáticas (33). Muchas de estas especies curan los edemas y actúan como antiinflamatorias. Las saponinas influyen en las plantas medicinales de un modo decisivo sobre la resorción de otros principios activos vegetales, y es muy frecuente que pequeñas cantidades produzcan grandes resultados, sin embargo cuando se ingieren en cantidades superiores a las permitidas, resultan tóxicas produciendo daños en las mucosas digestivas que se manifiestan en vómitos, dolor de estómago, hemorragias, mareo, úlceras, etc (29,33).

El mecanismo de acción de las saponinas consiste en su poder antiATPasa merced al cual modifica este sistema en la membrana, perturbando el transporte de sodio a través de ella (descompensación iónica) (29).

#### i. Mucílagos

Son sustancias que contienen hidratos de carbono, que se hinchan fuertemente con el agua y que proporcionan un líquido viscoso. Las plantas de este tipo están ampliamente distribuidas en el reino vegetal aunque solamente unas pocas especies contienen la suficiente cantidad de mucílago como para poder ser aprovechadas terapéuticamente. La mejor manera de describir el efecto farmacológico de los mucílagos vegetales es usar la palabra de reducción de la irritación (30).

El mucílago se distribuye en forma de una capa delgada sobre las mucosas y las protege contra las sustancias irritantes locales y actúa como atenuante de la excitación. Las inflamaciones, especialmente las que se producen en las mucosas, disminuyen rápidamente bajo ese efecto protector. El mucílago no es reabsorbido, por lo que su efecto es puramente local. Las plantas que los contienen alivian la tos cuando ésta es desencadenada por estados irritativos en la garganta y la epiglotis. Actúan también como purgantes ligeros porque relajan el contenido intestinal, soltándolo, retienen el agua y se hinchan (30).

#### j. Vitaminas, minerales y elementos vestigiales

Estos son los llamados “elementos nutritivos esenciales”, ya que el organismo los necesita para construir las sustancias del esqueleto y las estructuras celulares, para proporcionar los elementos básicos de las enzimas corporales y las hormonas, para activar los procesos metabólicos y para influir sobre el metabolismo de los líquidos. En el tratamiento de enfermedades en las que exista una deficiencia en minerales, elementos vestigiales y vitaminas, resultan especialmente importantes los preparados obtenidos a

partir de aquellas plantas que contienen todas estas sustancias. Los minerales, los elementos vestigiales y las vitaminas pasan parcialmente a la solución al preparar el té y por esa razón participan de un modo decisivo en la acción curativa (30).

## J. PLANTAS A ESTUDIAR

### 1. *Dorstenia contrajerva*

Familia: Moraceae

Nombres populares: Contrahierba; Mano de león (Quetzaltenango); Hierba de sapo (Petén); Cambahan (Petén, Maya); Contaúl (Chimaltenango), matadolor, Drakena – Tarofé, Tarapé, Caápia. Otros Idiomas: Inglés: contrayerva; Portugues: Contra-erva; Alemán: Widergift; Fránces: Contrayerva; Italiano: contraierva (34-37).

#### a. Descripción

Hierba sin tallo de la familia Moracea, es una planta acaule. Solamente emite una especie de tallo nudoso para florecer; las hojas son lobuladas, hasta de 20 cm de largo, pecioladas, simples, peninervadas y enteras; las flores son terminales, en capítulo, unisexuales, de color variado, se encuentran dentro de un receptáculo cuadrangular y espeso; la raíz es subterránea, fusiforme, espesa, nudosa con raicillas finas, de color blanco y olor agradable (34,36,38).

#### b. Hábitat

Se encuentra en bosques tropicales, lugares húmedos y sombreados. Crecen alrededor de 1,800 metros; se encuentra en Petén, Alta Verapaz, Chiquimula, Jalapa, Santa Rosa, Escuintla, Guatemala, Sacatepéquez, Chimaltenango, Retalhuleu, Quetzaltenango y Huehuetenango. En Sur América, México, y desde Honduras hasta Panamá (34,35).



### c. Propiedades y usos medicinales

Se emplea con buenos resultados en el tratamiento de disentería, diarrea, náusea, vómitos, dolor de estómago, parásitos, dolor de vientre o parte inferior del abdomen, dolor de muelas e inflamaciones (35), para regular la menstruación, reumatismo, gota, parálisis, sífilis. Es un poderoso diurético y expulsa del organismo las sustancias tóxicas y morbosas (36).

Baños tibios y sahumeros con las hojas, curan la parálisis. El cocimiento de la raíz hace brotar el sarampión y la viruela. Exteriormente se usan las hojas y raíces machacadas, para curar llagas y mordeduras de víboras (36,37).

Desde tiempos muy remotos, se usaba esta planta, contra las flechas envenenadas, picaduras de insectos venenosos, mordeduras de arañas, de víboras, etc (36). Las partes aromáticas son usadas en el Salvador, y probablemente en Guatemala para darle sabor al cigarro de tabaco (34).

d. Parte empleada: Toda la planta (36,39).

## 2. *Enterolobium cyclocarpum*

Familia: leguminosae

Nombres populares: Conacaste, Guanacaste (Guatemala); Pit (Huehuetenango); tubroos (Honduras); pich (Yucatán, Maya) (40,41).

### a. Descripción

Es uno de los 5 árboles más grandes de América Central, y uno de los más conocidos, pues llega a medir hasta 30 m de altura y unos 2 m de diámetro (40,41). Sus hojas son de color verde pálido de cáliz tubuloso, frutos lobulados grandes de color castaño, mesocarpo subcabernoso, semillas grandes en dos hileras (41). El follaje es vistoso y agradable en apariencia, especialmente cuando las nuevas hojas se están desarrollando; la madera es café con una tonalidad rojiza y un elevado brillo (40).

#### b. Hábitat

Crece desde el sur de estados Unidos, México, en toda la América Central y en Sur América (40,41). Es abundante en las praderas del pacífico. Algunas veces crece en bosques, aunque las semillas parecen ser un poco intolerantes a la sombra, por lo que se desarrollan mejor a campo abierto (40).

#### c. Propiedades y usos medicinales

La goma que exuda el tronco se usa contra la bronquitis, el jarabe preparado de la corteza se emplea contra los resfríos, contra la tuberculosis, sirve para cicatrizar granos, la decocción de la corteza, en gargarismos es descongestionante de las mucosas, expectorante, analgésica y para el alivio de las hemorroides con la decocción del fruto en baños de asiento (41). La pulpa de la vaina es algunas veces utilizada en Guatemala como un sustituto del jabón, especialmente para el lavado de textiles (40).

En Centro América la madera es utilizada para todo tipo de construcción, es considerada tan buena como el cedro y es valorado especialmente debido a que raramente es dañado por la humedad y no es atacado por las termitas (40).

d. Parte empleada: raíz, corteza, hojas y fruto (41).

### 3. *Bursera simaruba*

Familia: Burseraceae

Sinónimos: *Bursera gumífera*; *B. ovalifolia*; *Elaphrium ovalifolium*; *E. simaruba*; *E. subpubescens*; *Pistacia simaruba*; *Terebinthus arborea*; *T. acuminata*, *T attenuata* (39).

Nombres populares: Almácigo, Cajha, Chacah, Palo Chino, Chinacahuite, Ginicuite, Jinocuabo, Indio desnudo, Jiote, Palo Jiote, Palo mulato, Solpiem, Xacago-que, Copón, Chacah colorado, Chic-chica, Cacah (35,40,42).

#### a. Descripción:

Es un árbol grande que alcanza los 30 metros de alto, de madera suave, tronco cilíndrico, la corteza joven es verde, ya vieja es café o pardo rojiza, se pela en láminas, al

cortarla emana una resina ámbar, dulce, gomosa. Hojas aromáticas, deciduas, resinosas, alternas, en espirales, 10 – 30 cm de largo, verde oscuro. Las flores son pequeñas de color amarillo verdoso, 4 mm de ancho, en grupos apretados; masculinas y femeninas en árboles separados. Frutas ovales y pequeños, 10 – 15 mm de largo, marrón. Semillas rojas, de tres ángulos, 8 mm de largo (35,42).

#### b. Hábitat

Se cultiva en los alrededores de las milpas (35). Es nativo de América tropical, del sur de México, al norte de Sur América y el Caribe hasta 1,800 metros sobre el nivel del mar; crece en los bosques secos y húmedos tropicales. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chiquimula, Chimaltenango, El progreso, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Izabal, Jalapa, Jutiapa, Petén, Quetzaltenango, Quiché, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (40,42).

#### c. Propiedades y usos medicinales

Es una planta muy utilizada en la medicina tradicional mesoamericana. La decocción de corteza y hojas se usa para tratar anemia, afecciones gastrointestinales (diarrea, disentería, gastralgia, estomatitis, gastritis, hemorragia gástrica, náusea) y respiratorias (asma, catarro, gripe, pulmonía, resfrío, sarampión, tos, tos ferina), fiebre, gota, hernia, hidropesía, mal de orín, reumatismo, sífilis, hinchazón, dolores, gonorrea, presión alta, paludismo, paperas y sarampión. Las hojas se utilizan para hinchazón e inflamaciones de la piel y a la corteza se le atribuye propiedad antiinflamatoria, astringente, diurética, laxante, purgante, sudorífica y vulneraria; a la raíz se le atribuye propiedad astringente (42).

d. Parte empleada: Corteza, raíz, savia y semillas (35).

#### 4. *Acalypha guatemalensis*

Familia: Euphorbiaceae

Nombres Populares: Hierba del cáncer, Ceul, Corrimiento, Gusanillo, Sajoi (42).

a. Descripción

Hierba perenne, erecta, hasta 1 metro de alto, simple o ramificada, vellosa cuando joven. Hojas ovaladas, alargadas, márgen festoneado, 4-7 cm. de largo, membranosas, agujereadas por insectos o protuberancias rojizas. Flores numerosas en racimos rojo obscuro, densas, espigas axilares y terminales, 4-5 cm. de largo, pedunculadas o subsésiles. Semillas ovoides, suaves (42).

b. Hábitat

Es nativa de Guatemala y Honduras, común en terrenos removidos, secos o húmedos, en campos de cultivo y vegetación de 750-2500 metros sobre el nivel del mar. En Guatemala se ha descrito en Baja Verapaz, Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, Quiché, Santa Rosa, Sacatepéquez y Sololá (42-44).

c. Propiedades y usos medicinales

El cocimiento de la planta se usa como tónico y diurético. Por vía oral se usa para tratar afecciones gastrointestinales, alergia, cáncer, dolor de cabeza y menstrual, enfermedades venéreas, reumatismo, pielonefritis, resfrío y dolores del cáncer. Por vía tópica la decocción se usa en compresa, lavados y emplasto para tratar afecciones de la piel y en lavados para vaginitis, picadura de serpientes y animales ponzoñosos, pies cansados, heridas y llagas (42,44).

d. Parte empleada: hojas y flores (42).

5. *Miconia glaberrima*

Familia: Melastomataceae

Nombres populares: capulín, nigua, palo tostado, teshuate, uva (45-48).

a. Descripción

Arbusto o árbol pequeño, de algunos 8 metros de altura, usualmente bajo, glabroso por todo o casi todo, las ramas son delgadas; hojas membranosas, gruesas y firmes, verde seco o verde amarillento, encima pétalos de 1-3.5 cm, elípticos oblongos, principalmente de

8 a 14 cm de largo y 2.5 a 5 cm de ancho, acuminadas, mayormente agudas en la base, 3 venas o con venas débiles adicionales cerradas hacia el margen, los nervios internos algunas veces se levantan ligeramente sobre la base de la hoja pero usualmente basal o casi así, panículas piramidales, principalmente de 5 a 7 cm de largo, pedúnculos cortos, libremente sobre las ramas, muy florecido, las flores en su mayoría pediceladas; pétalos blancos o raramente teñidos en rosa, de 1 mm de largo; bayas pequeñas, blancas o algunas veces teñidas con rosa o púrpura (45-47).

#### b. Hábitat

Crece en bosques húmedos y algunas veces en bosques de pino. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Zacapa, El progreso, Quiché, Huehuetenango, Quetzaltenango, San Marcos, Guatemala, Sur de México, El Salvador, Costa Rica y Panamá (45,46).

#### c. Propiedades y usos medicinales

De acuerdo a la revisión en la base de datos NAPRALET no se reporta ninguna información (46,47).

d. Parte empleada: no se tiene definida la parte de la planta que tiene el uso medicinal (48).

### 6. *Curatella americana*

Familia: Dilleniaceae

Nombres populares: Chaparro, saha, lengua de vaca, Tachicón, raspaviejo, rasca la vieja (45, 49).

#### a. Descripción

Árbol de 5 a 9 m de alto y de hasta 25 cm de diámetro, con tronco no recto y copa muy irregular, ramificado frecuentemente desde la base con pocas y gruesas ramas(49);el tronco es pequeño y grueso, la copa es extensa y la corteza posee escamas grisáceas que se desprenden fácilmente; el interior es rojizo o café claro; las hojas son pequeñas, ovaladas o elípticas-ovaladas, mayormente de 12-30cm. de largo, esféricas o bastante obtusas en el ápice; las flores son blancas o rosáceas, pediceladas; pétalos de 5-6 mm de largo(45); ramas

jóvenes, muy escamosas, con grandes cicatrices protuberantes dejadas por las hojas caídas; en las partes más jóvenes se observan pelos cortos estrellados entremezclados con pelos simples largos (49).

#### b. Hábitat

Crece en lugares secos principalmente y alrededor de las colinas. En Guatemala se encuentra en Petén, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, Chiquimula. También se encuentra en México, Honduras, El Salvador y Panamá (45).

#### c. Propiedades y usos medicinales

Las semillas son usadas en Oaxaca para saborizar el chocolate. Las hojas ásperas contienen mucha sílica y son utilizadas comúnmente en América tropical como un sustituto de papel de lija, para pulir artefactos de madera o metal; la corteza es muy apreciada para curtir pieles por el tanino que contiene (45,49).

La infusión que se obtiene del cocimiento de las hojas se utiliza en algunas regiones para lavar heridas y contra erupciones de la piel (49).

d. Parte empleada: corteza, hojas y semilla (49).

### 7. *Polymnia maculata*

Familia: Asteraceae

Nombres populares: Planta de temascal, Sikaginga (mixe); (50)

#### a. Descripción

Arbusto de 1 m de alto con flores amarillas. Planta herbácea perenne hasta de 2 m de alto, tallos a menudo con manchas de color morado, vilosos a glabros, a veces ásperos, a menudo también con pelos glandulosos; hojas sésiles o bien provistas de pecíolos más o menos alados hasta de 15 cm de largo, con frecuencia ensanchadas en la base, lámina de contorno triangular a anchadamente ovado, hasta de 45 cm de largo y 30 cm de ancho, las superiores subenteras a irregularmente dentadas, las inferiores más o menos profundamente

palmati-lobadas, triplinervadas, hispíduladas o escábridas en el haz, viloso-canescientes a casi glabras en el envés; cabezuelas a veces solitarias, más frecuentemente agrupadas en panículas, sobre pedúnculos hasta de 12 cm de largo; brácteas involucrales exteriores 5 o 6, unidas en la base, lanceoladas a anchamente ovadas, de 5 a 16 cm de largo, obtusas o agudas en el ápice, las interiores de 8 a 20, más cortas y angostas; receptáculo plano, páleas oblongo-lineares; flores liguladas de 8 a 20, sus corolas amarillas, las láminas oblongas a ovadas, de 1 a 2.5 cm de largo; flores del disco de 10 a 90, sus corolas amarillas, de 4 a 8 mm de largo ; aquenios obovoides, de 3 a 8 mm de largo, negruzcos (50).

#### b. Hábitat

Crece en encinares húmedos, alrededor de los 1300 metros sobre el nivel del mar (msnm). Se presenta ecotono de bosque de encino y bosque mesófilo de montaña, a orillas de canales (50).

#### c. Propiedades y usos medicinales

Es consumido por el ganado en pastoreo. Las hojas se emplean en baños como tratamiento antipalúdico y para tratar heridas (50).

#### d. Parte empleada: hojas (50).

### 8. *Phlebodium pseudoaureum*

Familia: Polypodiaceae

Nombres populares: calahuala (42).

#### a. Descripción

Es una planta aérea o terrestre, en las altitudes que se extienden a partir de 600 a 2.500 m; helecho epífita con un rizoma rastrero y sinuoso, 8 – 15 mm de grueso, densamente cubierto con una pelusa dorado café. Hojas separadas, arqueadas o esparcidas sobre tallos brillantes, amarillentas o azul-verdosas (42).

b. Hábitat

Se distribuye y crece extensamente en bosques de Pinus-Liquidambar-Quercus, bosques imperecederos tropicales y selvas tropicales de la montaña. Se encuentran desde México y Centro hasta sur América en alturas de 1,200 – 2,200 msnm (42).

c. Propiedades y usos medicinales

La infusión y decocción del rizoma se usa oralmente para tratar afecciones gastrointestinales, respiratorias y cardíacas, dolor de huesos, reumatismo, diabetes, gota, parásitos, enfermedades venéreas y afecciones renales. La decocción de las hojas se usa para detener las hemorragias (42).

d. Parte empleada: hojas y rizoma (42).

9. *Lippia chiapasensis*

Familia: Verbenaceae

Sinónimos: *Lippia curtisiana* (34).

a. Descripción

Pequeño arbusto de cuatro metros; las ramas son densas y las hojas son ovaladas u ovaladas-elípticas, de dos a 6 centímetros de largo y 1.5 – 4.5 cm. de ancho; algunas veces obtusas, raramente redondeadas en la base y la venación es prominente (34,51).

b. Hábitat

Crece en bosques húmedos o secos; en Guatemala se ha descrito en Baja Verapaz, Huehuetenango, San Marcos, Sololá y Totonicapán (34).

c. Propiedades y usos medicinales

Es utilizada para el tratamiento de enfermedades respiratorias, dermatomucosal y nerviosas (34).

d. Parte empleada: hojas (51).



#### IV. JUSTIFICACIÓN

Dentro del género *Campylobacter* el principal patógeno diarreico es *Campylobacter jejuni*, el cual ha sido reconocido como una de las causas más frecuentes de enfermedad entérica aguda en humanos, afectando principalmente a los niños menores de cinco años de edad que habitan en los países en vías de desarrollo, lugar en donde la infección por *C. jejuni* es considerada hiperendémica; llegando a reconocerse como uno de los principales agentes causantes de diarrea en niños pequeños y uno de los agentes responsables de la diarrea del viajero (1,4-9,11).

A causa de la constante emergencia de cepas de *C. jejuni* resistentes a una gran variedad de agentes terapéuticos, surge la necesidad de investigar nuevas alternativas terapéuticas, dándole prioridad al estudio de extractos vegetales; puesto que la mayoría de éstos poseen propiedades medicinales que pueden ser aprovechados principalmente en los países en vías de desarrollo, en donde la utilización de plantas con finalidad terapéutica resulta más accesible a la población.

Considerando que Guatemala es un país que cuenta con una gran diversidad de plantas, cuya actividad terapéutica no ha sido estudiada en su totalidad, resulta importante realizar estudios acerca de los beneficios de las mismas y así puedan ser aprovechados dentro del campo médico. Por consiguiente, este estudio tiene como finalidad comprobar el efecto inhibitorio sobre la bacteria *C. jejuni*, de nueve plantas nativas utilizadas popularmente para tratar enfermedades gastrointestinales e infecciosas, para comprobar su actividad terapéutica y ser utilizadas como tratamiento alternativo para las infecciones causadas por esta bacteria, ampliando las opciones terapéuticas en nuestro país.

## V. OBJETIVOS

### A. General

Determinar la actividad inhibidora *in vitro* sobre *C. jejuni* de extractos etanólicos de nueve plantas pertenecientes a la flora guatemalteca.

### B. Específicos

1. Implementar en el Departamento de Citohistología de la Facultad de CCQQ y Farmacia, el método de filtración por membrana para el aislamiento de *C. jejuni* a partir de muestras clínicas.

2. Validar el método de difusión en disco para la determinación de la actividad inhibitoria de extractos vegetales contra cepas de *C. jejuni*, utilizando como referencia el antibiótico eritromicina.

3. Determinar la actividad antimicrobiana de los extractos vegetales de las plantas *Curatella americana*, *Dorstenia contrajerva*, *Polymnia maculata*, *Phlebodium pseudoaureum*, *Acalypha guatemalensis*, *Bursera simaruba*, *Enterolobium psicrocarpum*, *Lippia chiapasensis*, *Miconia glaberrima*, contra cepa estándar de *C. jejuni* y contra cepa de *C. jejuni* aislada a partir de muestras clínicas.

## VI. HIPÓTESIS

Por lo menos uno de los extractos vegetales analizados presenta actividad inhibitoria *in vitro* sobre *C. jejuni*.

## VII. MATERIALES Y METODOLOGÍA

### A. Universo

Nueve plantas de diferentes regiones guatemaltecas utilizadas popularmente para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales.

### B. Muestra

1. Doce extractos de plantas: *Curatella americana* (hoja), *Dorstenia contrajerva* (flor y raíz), *Polymnia maculata* (hoja), *Phlebodium pseudoaureum* (hoja y rizoma), *Acalypha guatemalensis* (hoja), *Bursera simaruba* (corteza), *Enterolobium psicrocarpum* (hoja), *Lippia chiapasensis* (hoja), *Miconia glaberrima* (hoja y tallo).

2. Cepa de *C. jejuni* ATCC 33291, proporcionada por el departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

3. Cepa nativa de *C. jejuni*, la cual fue aislada por medio del método de filtración por membrana, a partir de muestras diarreicas provenientes de niños menores de cinco años, pertenecientes al Municipio de San José Pinula .

### C. Recursos

#### 1. Humanos

a. Tesista: Br. Emily Julieta Ordóñez Juárez

b. Asesores: Licda. Margarita Paz de Ramírez y Licda. Rosario Hernández.

## 2. Materiales

### a. Cristalería y otros utensilios

Balón aforado, pipetas automáticas, tips para pipetas automáticas, espátula, papel mantequilla, papel aluminio, algodón, cajas de Petri, cajas de Petri cuadriplate, algodón, papel filtro, papel mayordomo, asas en argolla, mechero, jarra Gas-pak, sobres para anaerobiosis Campy-pack (BB<sup>TM</sup>), hieleras, papel parafilm, hisopos estériles, viales con tapadera de rosca, bolsas Ziploc, discos estériles sin impregnar, jeringas estériles de 10 ml, filtros de membrana de nitrato de celulosa con poro de 0.45µm de diámetro, erlenmeyer, bureta, pipetas de vidrio de 5ml y 10ml, pinzas.

### b. Equipo

Percolador, rotavapor, cabina de seguridad biológica, cabina de seguridad biológica con flujo laminar, microscopio, refrigerador a 4°C, congelador a -80°C, balanza analítica, estufa, autoclave, incubadora a 37°C, incubadora a 42°C, vortex.

### c. Reactivos y Colorantes

Etanol al 70%, etanol al 50%, agua destilada, agar base Columbia (Oxoid), caldo tripticasa soya, caldo tripticasa soya con glicerol al 15%, medio de transporte Cary Blair, sangre de carnero, Eritromicina (250mg/5ml), cristal violeta, solución de lugol, solución decolorante de Gram, carbol-fucsina como colorante de contraste.

### d. Microbiológicos

i. Cepa de *Campylobacter jejuni* ATCC 33229 proporcionada por el departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Escuela de Química Biológica de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

ii. Cepa nativa de *C. jejuni*, aislada por medio del método de filtración por membrana, a partir de muestras diarreicas provenientes de niños menores de cinco años, pertenecientes al Municipio de San José Pinula .

### 3. Institucionales

a. Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, perteneciente a la Escuela de Química Biológica de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

b. Centro de Salud del Municipio de San José Pinula, en el cual se recolectaron muestras diarreicas provenientes de niños menores de cinco años de edad.

c. Escuela Rural Aldea San Luis del municipio de San José Pinula, en la cual se recolectaron muestras diarreicas de los niños que se encontraban cursando el área de pre-primaria en este centro educativo.

### D. Metodología

#### 1. Obtención de extractos vegetales

a. Preparación de la materia seca vegetal (52).

- i. Se rotularon las plantas molidas con nombre, procedencia, fecha y órgano.
- ii. Se pesó la cantidad de materia vegetal a utilizar; se pesaron 100 g cuando se trataba de hojas y 400 g cuando se trataba de corteza o rizoma.

b. Percolación (52).

- i. Se colocó un poco de algodón en la parte inferior del percolador.
- ii. Se cortó un pedazo de papel filtro en forma circular y se colocó cubriendo el fondo del percolador.
- iii. Se humedeció la materia vegetal con etanol al 50%.
- iv. Se transfirió todo el material al percolador y se cubrió con etanol al 50%.
- v. Se dejó reposar por 18-24 horas.
- vi. Se recolectó en un erlenmeyer todo el disolvente agregado.
- vii. Se agregó el disolvente recuperado al material de extracción en el percolador (se repitió la operación 5 veces antes de iniciar la concentración en el rotavapor).

viii. Se colocó el material recolectado en el balón del rotavapor.

c. Concentración por Rotavapor (52).

- i. Se verificó que estuvieran conectadas todas las conexiones eléctricas.
- ii. Se colocó el balón colector y se fijó con la llave respectiva.
- iii. Se revisó el nivel de agua del baño de calentamiento.
- iv. Se encendió el baño y se mantuvo la temperatura entre 50 – 60°C.
- v. Se revisó que la llave de alimentación del refrigerante estuviera cerrada.
- vi. Se colocó el balón con la muestra y se sujetó con la llave correspondiente.
- vii. Se puso a girar el balón que contiene la muestra a una revolución adecuada.
- viii. Se conectó el sistema de enfriamiento.
- ix. Se encendió la bomba de vacío cuantas veces fuera necesario, hasta que se agotara el disolvente del balón de evaporación.
- x. Se retiró el balón de evaporación.
- xi. Se colocó el extracto concentrado en un recipiente de vidrio previamente tarado y rotulado.
- xii. Se colocó en una desecadora durante 7 a 15 días.
- xiii. Se Verificó la consistencia sólida del extracto y se colocó en recipientes previamente tarados y rotulados.
- xiv. Se calculó el porcentaje de recuperación de cada uno de los extractos.

2. Aislamiento de *Campylobacter jejuni*

a. Recolección de muestras.

- i. Se recolectaron muestras diarreicas de niños menores de 5 años, por un período de cinco semanas en el Municipio de San José Pinula.
- ii. Se identificó cada muestra recolectada con nombre, edad y fecha de recolección.

b. Transporte de muestras.

- i. Se tomó una cantidad significativa de la muestra utilizando un hisopo estéril.
- ii. Se introdujo el hisopo en el medio Cary Blair y se selló adecuadamente.
- iii. Las muestras se mantuvieron refrigeradas hasta su procesamiento.

c. Método de filtración por membrana.

- i. Se realizó una suspensión de cada una de las muestras recolectadas utilizando solución salina estéril.
- ii. Se colocó la membrana de nitrato de celulosa (con un poro de  $0.45\mu\text{m}$  de diámetro) en la superficie del medio Columbia enriquecido con 7.5% de sangre de carnero.
- iii. Se agregaron de 5 a 7 gotas de la suspensión sobre la membrana de nitrato de celulosa
- iv. Se incubó microaeróbicamente a  $42^{\circ}\text{C}$  por 1 hora.
- v. Se removió el filtro y se incubó nuevamente bajo las mismas condiciones por 48 horas más.
- vi. Se verificó la presencia de colonias blanco-grisáceas, con apariencia húmeda; de ser así, se realizaron las pruebas de identificación respectivas para *C. jejuni*.

3. Identificación de *C. jejuni*

a. Se identificaron las colonias mediante la coloración de Gram, prueba de catalasa, prueba de oxidasa, ureasa e hidrólisis del hipurato.

b. Hidrólisis del hipurato.

- i. Se dispensó en un tubo estéril 0.4 ml de hipurato de sodio (1%).
- ii. Se inoculó el tubo con una asada llena de colonias de la bacteria a identificar.
- iii. Se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  en baño maría por 2 horas.
- iv. Se agregaron 5 gotas del reactivo ninhidrina por las paredes del tubo para formar una capa superficial, teniendo cuidado de no mezclar.
- v. Se calentó por 10 minutos.
- vi. Se interpretó como positivo la observación de un color morado oscuro dentro de los primeros 10 minutos.

4. Ensayo de actividad antibacteriana por el Método de Difusión en Disco

a. Preparación del medio.

- i. Se preparó agar Columbia enriquecido con sangre de carnero al 7.5%.
- ii. Se vertieron 25ml de medio en cajas de Petri sin división.
- iii. Se incubaron las cajas por 24 horas a  $37^{\circ}\text{C}$  para comprobar esterilidad.



iv. Se almacenaron las cajas estériles a 4°C hasta su utilización.

b. Impregnación de los discos.

i. Se impregnaron discos estériles de papel filtro (HiMedia) con 10 µl de cada extracto a una concentración de 0.5 mg/ml. Este procedimiento se realizó en cabina de flujo laminar.

ii. Se dejó secar y se impregnaron nuevamente 10 µl; se continuó así hasta completar una cantidad de 50 µl de cada extracto en cada uno de los discos.

iii. Se dejó secar completamente.

iv. Se almacenó en cajas de petri cuadrilate estériles a 4°C.

c. Curva de Validación del método de difusión por disco.

i. Se realizaron diluciones de 0.78 mg/ml, 1.56 mg/ml, 3.125 mg/µl, 6.2 mg/ml, 12.5 mg/ml, 25 mg/ml y 50 mg/ml, a partir de una suspensión de Eritromicina (250mg/5ml).

ii. Se impregnaron discos estériles de papel filtro (HiMedia) con cada dilución de Eritromicina, por aplicación sucesiva de 10 µl hasta completar 50 µl.

iii. Se dejaron secar los discos luego de cada aplicación.

iv. Se almacenaron los discos en cajas de Petri cuadrilate en refrigeración a 4 °C hasta su utilización.

d. Bioensayo (23,54).

La metodología que se describe a continuación fue utilizada tanto para la validación del método de difusión en disco, como para la determinación de la actividad *in vitro* de los extractos vegetales evaluados:

i. Se realizó una suspensión de *Campylobacter jejuni*, con  $1.5 \times 10^8$  UFC/ml aproximadamente, lo cual coincide con el 0.5 estándar de MacFarland.

- Se inocularon cinco colonias de *C. jejuni* en un vial con 1ml de caldo tripticasa soya.
- Se incubó a 36 °C por 30 minutos o más (según la turbidez del medio).
- Se comprobó si la turbidez coincidía con el estándar de McFarland.

- ii. Se inoculó con un hisopo estéril la superficie de las placas de agar Columbia-sangre, estriando con el hisopo en cuatro direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo.
- iii. La placa se dejó secar durante 3 a 5 minutos a temperatura ambiente para que cualquier exceso de humedad superficial fuera absorbido.
- iv. Dentro de los 15 minutos siguientes a la inoculación de la placa, se colocaron los discos impregnados sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril.
- v. Se presionó suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar.
- vi. Se colocó un disco de ácido nalidíxico como control positivo para la determinación de la actividad inhibidora *in vitro* de los extractos vegetales.
- vii. Se realizó un total de cinco repeticiones para garantizar un error inferior al 10%.

#### e. Diseño Estadístico

##### i. Tipo de Estudio

Diseño experimental. La determinación de la actividad inhibitoria *in vitro* de los extractos vegetales sobre *C. jejuni* se realizó por medio del método de difusión en disco, considerándose con actividad inhibitoria la formación de un halo de inhibición alrededor del disco impregnado con el extracto vegetal a una concentración de 1mg/ml. Se realizó un mínimo de cinco repeticiones para cada extracto vegetal para un nivel de  $\alpha = 0.05$ .

##### ii. Variables

- Variable independiente: plantas guatemaltecas utilizadas popularmente para tratar enfermedades gastrointestinales e infecciosas.
- Variable dependiente: actividad inhibidora *in vitro* de 12 extractos vegetales de nueve plantas nativas.

##### iii. Validez del estudio

Para realizar el ensayo se utilizó una cepa de *Campylobacter jejuni* ATCC 33229 y una cepa de *C. jejuni* aislada a partir de muestras clínicas provenientes de niños menores de

cinco años de edad. Para la validación del método se realizó una curva de validación utilizando diferentes diluciones del antibiótico eritromicina, el cual es el tratamiento de elección para tratar infecciones por *C. jejuni*; se realizaron cinco repeticiones de la curva de validación para un nivel de  $\alpha = 0.05$ .

Para la validación del ensayo antibacteriano, se utilizó como control positivo discos de ácido nalidíxico al cual es susceptible *C. jejuni* y como control negativo se utilizaron discos impregnados con etanol al 50%.

### iii. Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos se basó en la realización de una prueba de hipótesis binomial. Siendo  $H_0: p \leq 0.5$  (No presentó actividad inhibitoria *in vitro*) y  $H_a: p \geq 0.5$  (Si presentó actividad inhibitoria *in vitro*).

Se realizaron cinco réplicas del método con los extractos a evaluar para obtener un nivel de  $\alpha = 0.05$ .

## VIII. RESULTADOS

A. Cultivo de *C. jejuni* a partir de muestras clínicas

Se recolectó un total de 40 muestras diarreicas provenientes de niños menores de cinco años, lográndose aislar dos cepas de *Campylobacter* sp; sin embargo, solamente una cepa fue identificada como *C. jejuni*, como se muestra en la tabla No1.

Tabla No.1

Aislamiento de cepa nativa de *Campylobacter jejuni* a partir de muestras clínicas provenientes de niños menores de cinco años de edad.

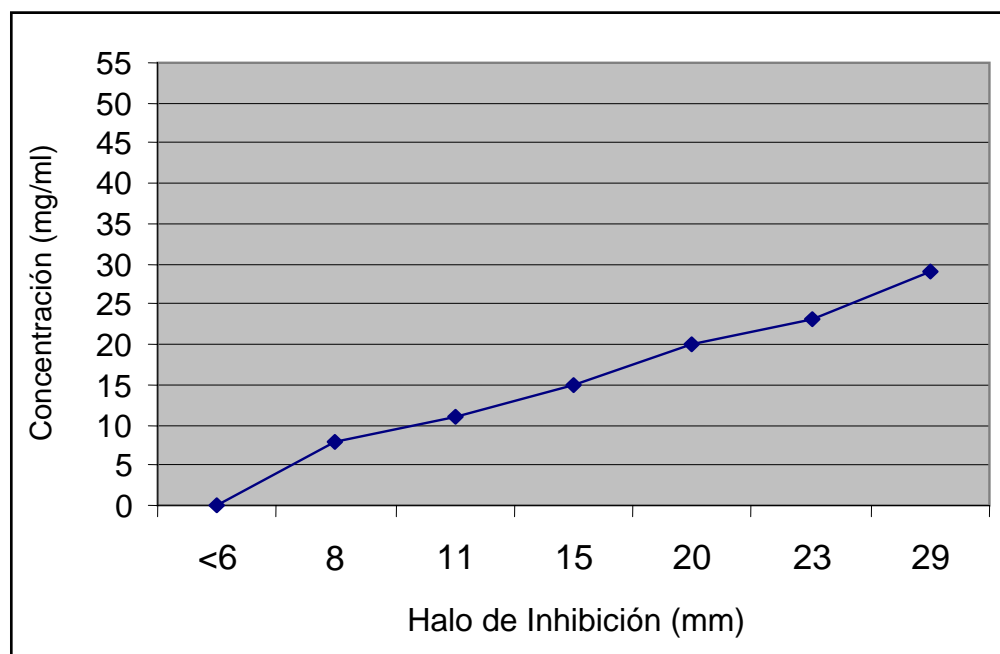
CARACTERÍSTICAS	AISLAMIENTO 1	AISLAMIENTO 2
Crecimiento	Colonias redondas, grandes, color gris.	Colonias pequeñas, redondas, color gris.
Gram	Bacilos Gram negativo, pequeños, forma de coma, y “ala de gaviota”	Bacilos Gram negativo, pequeños, delgados, forma de coma, S, en espiral y “ala de gaviota”
Catalasa	Positiva	Positiva
Oxidasa	Positiva	Positiva
Urea	Negativa	Negativa
Acido nalidíxico	Susceptible	Susceptible
Hidrólisis del hipurato	Negativa	Positiva
Cepa asilada	<i>Campylobacter</i> sp.	<i>Campylobacter jejuni</i>

## B. Validación de la metodología

Mediante el método de difusión por disco, se realizó una curva de susceptibilidad antibiótica utilizando como referencia la cepa de *C. jejuni* ATCC 33229 y siete concentraciones diferentes del antibiótico eritromicina. Se obtuvo una curva de susceptibilidad antibiótica, en donde la concentración mínima de inhibición de crecimiento aceptada fue la de 25 mg/ml.

Gráfica No. 1

Curva de validación del método de difusión por disco.



## C. Actividad Contra *C. jejuni*

Se prepararon 12 extractos etanólicos de 9 plantas nativas utilizadas popularmente para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Se realizaron cinco réplicas del tamizaje antibacteriano utilizando el método de difusión por disco, determinándose que los 12

extractos evaluados a una concentración de 1mg/ml no presentan actividad inhibidora *in vitro* contra la bacteria *Campylobacter jejuni* ( $p>0.05$ ), tal como se muestra en la tabla No. 2.

Tabla No. 2

Actividad antibacteriana de doce extractos etanólicos contra *C. jejuni*.

<b>EXTRACTO</b>	<b>PARTE EMPLEADA</b>	<b>ACTIVIDAD CONTRA CEPA ATCC 33291</b>	<b>ACTIVIDAD CONTRA CEPA AISLADA</b>
<i>Curatella americana</i>	hoja	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Dorstenia contrajerva</i>	flor	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Dorstenia contrajerva</i>	raíz	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Polymnia maculata</i>	hoja	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Phlebodium pseudoaureum</i>	hoja	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Phlebodium pseudoaureum</i>	rizoma	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Acalypha guatemalensis</i>	hoja	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Bursera simaruba</i>	corteza	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Enterolobium psicrocarpum</i>	hoja	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Lippia chiapasensis</i>	hoja	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Miconia glaberrima</i>	hoja	NEGATIVA	NEGATIVA
<i>Miconia glaberrima</i>	tallo	NEGATIVA	NEGATIVA

## IX. DISCUSIÓN

La finalidad del presente estudio fue determinar la actividad inhibitoria *in vitro* contra *C. jejuni* de 12 extractos vegetales utilizados popularmente para el tratamiento de enfermedades infecciosas, principalmente las enfermedades gastrointestinales.

La metodología empleada para realizar el tamizaje fue el método de difusión por disco, para el cual se realizó una curva de validación con la finalidad de asegurar el funcionamiento adecuado del método para este tipo de estudio. Se trabajó con diferentes concentraciones del antibiótico eritromicina ya que es el fármaco de elección para las infecciones por *C. jejuni*, determinándose que de acuerdo a las tablas 2A y 2E del documento M100-S15-CLSI (NCCLS 2005), la concentración mínima inhibitoria aceptada del antibiótico eritromicina para inhibir la cepa ATCC 33229 de *C. jejuni*, es la de 25 mg/ml con la cual se obtuvo un halo de inhibición de crecimiento de 23 mm (55).

Así mismo, se determinó que la metodología empleada en este estudio, puede ser utilizada en estudios similares teniendo la certeza que los resultados obtenidos son confiables.

Para el aislamiento de la cepa nativa de *C. jejuni*, se recolectó un total de 40 muestras diarreicas, todas provenientes de niños menores de 5 años de edad. Los individuos en su mayoría convivían regularmente con animales domésticos que con frecuencia se encuentran infectados por especies de *Campylobacter*. Del muestreo se obtuvo dos aislamientos de *Campylobacter* sp. Sin embargo al realizar las pruebas respectivas para *C. jejuni*, únicamente un aislamiento fue identificado como tal; ya que solamente una de las dos cepas aisladas resultó positiva para la prueba de hidrólisis del hipurato, la cual es una de las pruebas más importantes para distinguir *C. jejuni* de otras especies de *Campylobacter*.

Para determinar la actividad de los 12 extractos, se emplearon las cepas de *C. jejuni* ATCC 33229 y la cepa nativa aislada. Las plantas empleadas en este estudio fueron

seleccionadas por su uso popular contra las enfermedades infecciosas. La mayoría de éstas son utilizadas para tratar enfermedades gastrointestinales; sin embargo, en los resultados obtenidos no presentaron actividad contra ninguna de las dos cepas de *C. jejuni* ( $p > 0.05$ ). Probablemente los principios activos presentes en cada uno de los extractos evaluados, no tienen actividad sobre los diferentes componentes y la estructura de esta bacteria, por tal razón la actividad inhibitoria *in vitro* de las 9 plantas resultó negativa.

Aunque en esta investigación los extractos no presentaron actividad, y siendo la infección gastrointestinal causada por *Campylobacter* un problema vigente en Guatemala y no habiéndose encontrado aún una planta activa contra este microorganismo, es importante continuar investigando sobre la actividad terapéutica que pueden proporcionar la gran diversidad de plantas de nuestro país, principalmente para este tipo de enfermedades.



## X. CONCLUSIONES

1. El método de difusión por disco es una técnica útil para tamizar la actividad anti-*Campylobacter* de extractos vegetales.
2. La técnica de filtración por membrana es un método efectivo para el aislamiento de *Campylobacter* sp. a partir de muestras clínicas.
3. Los extractos de las nueve plantas evaluadas *Curatella americana*, *Dorstenia contrajerva*, *Polymnia maculata*, *Phlebodium pseudoaureum*, *Acalypha guatemalensis*, *Bursera simaruba*, *Enterolobium psicocarpum*, *Lippia chiapasensis*, *Miconia glaberrima*, no presentan actividad antimicrobiana contra la cepa ATCC 33291 y la cepa nativa de *C. jejuni*.

## XI. RECOMENDACIONES

1. Continuar investigando la actividad de plantas de nuestro país contra cepas nativas de *C. jejuni*.
2. Obtener un mayor número de aislamientos clínicos de *C. jejuni*, para realizar un tamizaje más amplio de la actividad anti-*Campylobacter* de extractos vegetales, con cepas nativas que afecten actualmente a la población de nuestro país.
3. Realizar una selección exhaustiva de plantas utilizadas popularmente para tratar enfermedades gastrointestinales, para ampliar la búsqueda de extractos vegetales que presenten actividad anti-*Campylobacter*.

## XII. REFERENCIAS

1. Gómez J.A, Rodríguez R, González M.I. Gastroenteritis por *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter*. Prot. diagnósticos y terapéuticos en pediatría 2000; 17:111-120.
2. Mims C, *et al.* Microbiología Médica. 2da ed. España: editorial Harcourt Brace, 1999. 584p. (p. 259, 528).
3. Braunwald E. *et al.* Principios de Medicina Interna. 15ª ed. Volumen 1. Madrid, España: editorial Mc-GrawHill, 2002. 1692p. (p.1156-1158).
4. Joklik W, *et al.* Zinsser Microbiología. 20 ed. Argentina: editorial panamericana, 1997. 1696p.
5. Fernández H, *et al.* A case of acute diarrhea due to the emerging pathogen *Campylobacter jejuni* subsp. *Doylei* in Southern Chile. Brazilian Journal of Microbiology 2003; 34: 52-54.
6. Coker A.O, *et al.* Human Campylobacteriosis in Developing Countries. Emerg Infect Dis. Marzo 2002; Vol.8. No. 3. Disponible en <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol8no3/01-0098.htm>. Fecha de consulta 3/03/2006.
7. Murray, Patrick R. *et al.* Manual of Clinical Microbiology. 6ta edición. USA: ASM PRESS, 1995. 1,773p. (p.716-722).
8. Ramiro Cruz J, Cano F, Bartlett AV, Mendez H. Infection, diarrhea, and dysentery caused by *Shigella* species and *Campylobacter jejuni* among Guatemalan rural children. Pediatr Infect Dis J 1994; 13:216-23.

9. Gonzáles WP. Determinación de resistencia antimicrobiana en cepas guatemaltecas de *Campylobacter jejuni*. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2001. 82p.
10. Rao M.R, *et al.* Pathogenicity and Convalescent Excretion of *Campylobacter* in Rural Egyptian Children. *Am J Epidemiol* 2001;154:166-73.
11. Altekruze F, Stern N.J, Fields P.I, Swerdlow D.L. *Campylobacter jejuni*—An Emerging Foodborne Pathogen. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:28-35.
12. Medeiros MI, *et al.* Etiology of acute diarrhea among children in Ribeirao Preto-SP, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2001; 43: 21-24.
13. Crushell E. *et al.* Enteric *Campylobacter*: Purging its secrets. *Pediatric Research*. 2004;55:3-12.
14. Kulkarni S, *et al.* Detection of *Campylobacter* species: a comparison of culture and polymerase chain reaction based methods. *J. Clin Path.* 2002;55:749-753.
15. Persson S and Olsen K. Multiplex PCR for identification of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* from pure cultures and directly on stool samples. *J. Med. Microbiol.* 2005; 54:1043-1047.
16. Tahihra S, *et al.* Identification of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, *A. butzleri*, and *A. butzleri*- Like Species based on the glyA Gene. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38: 1488-1494.
17. Oza AN, *et al.* Detection of Heat-Stable Antigens of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* by Direct Agglutination and Passive Hemagglutination. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40: 996-1000.

18. Murphy Caroline, Carroll, CYRIL, Jordan Kieran N. The effect of different media on the survival and induction of stress responses by *Campylobacter jejuni*. *Journal of Microbiological Methods*. 2005; 62: 161-166.
19. Bourgeois L, Torres O. and Pratdesaba R. SOP for detection of *Campylobacter jejuni* in stool samples. Guatemala: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Doc. Tec. 003-2. 1999. 10p.
20. Ishihara, Kanoko. *et al.* Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* isolated from food-producing animals on faros (1999-2001): results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2004; 24:63-69.
21. Lucey Brigid. *et al.* *Campylobacter* spp. of Human and Animal Origin. *Emerg Infect Dis* 2000; 6: 50-55.
22. Brooks, F.Geo. *et al.* *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 16a edición. México: El Manual Moderno, 1999. 891p. (p.295-297).
23. Paz Morales, AM. Búsqueda de Actividad Contra Especies de *Campylobacter* en plantas nativas de Guatemala. Tesis Maestría Multidisciplinaria en Producción y Uso de plantas Medicinales, MUPLAM. Universidad de San Carlos de Guatemala, 2005.
24. Villatoro EM. *Etnomedicina en Guatemala*. Volumen 1. Guatemala: USAC, 1984. 316p.
25. Kinghorn D., Balandrin M. *Human Medicinal Agents from Plants*. Segunda ed. Washington DC: American Chemical Society, 1993. 356p. (p.2-11).

26. Greulach V., Adams J. Las Plantas; Introducción a la Botánica Moderna. México: editorial LIMUSA, 1991. 679p. (p.25-28).
27. Cronquist A. Introducción a la Botánica. 13<sup>a</sup> ed. México: editorial Continental, 2000. 847p. (p.690-695).
28. Aguilar JI. Relación de unos aspectos de la flora útil de Guatemala. 2da ed. 1976. 382p.
29. Pahlow M. El gran libro de las Plantas Medicinales, la salud mediante las fuerzas curativas de la naturaleza. 5ta edición. España: editorial Everest, S.A., 1985. 465p. (p. 22-26).
30. Asociación española de médicos naturistas, Colegio oficial de Farmacéuticos de BIZKAIA. Fitoterapia; Vademecum de prescripción. Plantas Medicinales. 3era ed. España: MASSON, S.A., 1998, 1148p. (p.23-29, 32-38).
31. Torres J. *et al.* Especies con Usos No Maderables en Bosques de Encino, Pino y Pino-Encino. Centro de Investigación y Docencia Económica (CIDE). México, 2004. Disponible en <http://www.semarnat.gob.mx/pfnm/AceitesEsenciales.html>. Fecha de consulta: 1/05/2006.
32. Muñoz C, *et al.* Variación de compuestos químicos en hojas de poblaciones de *Drimys* spp. (*Magnoliophyta; Winteraceae*) en Chile. Rev. Chil. Hist. Nat. 2004; 77:43-50.
33. Martínez V. El mundo de las plantas. Revista de Botánica y Jardinería. Botanical-online. México, 1999. Fecha de actualización: 1/04/2006. <http://www.botanical-online.com/medicinales/taninos.htm>. Fecha de consulta: 1/05/2006.
34. Standley PC, Steyermark JA. Flora of Guatemala. Chicago, USA: Fieldiana Botany. Vol, 24, parte 4, 1946. 493p.

35. P. N. U. D. Prodere, Cooperación Italiana, USAC, OPS/OMS Guatemala. Plantas de Uso Medicinal en Centro América.
36. Balbachas A, Rodríguez H. Las Plantas Curan. 5ta ed. USA: Reformation Herald Publishing Association, 532p. (p. 268- 270).
37. Castillo CR. Actividad Moduladora del Sistema del Complemento de cinco plantas medicinales utilizadas en el tratamiento de infecciones protozoarias intracelulares. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 49p.
38. Ayensa, ES. Medicinal Plants of the West Indies Algonac. USA: Algonac, Reference Publications, 1981. (p. 128-129).
39. Cáceres A, *et al.* Furanocoumarins from the aerial parts of *Dorstenia contrajerva*. *Fitoterapia*, 2001; 72:376-381.
40. Standley PC, Steyermark JA. Flora of Guatemala. Chicago, USA: Fieldiana Botany. Vol, 24, parte 5, 1946. 205p.
41. Figueroa LA. Determinación de la actividad contra *Mycobacterium smegmatis* y *Mycobacterium tuberculosis* de extractos de plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2000. 86 p.
42. Cáceres A. Plantas de uso medicinal de Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria, USAC, 1999. 402p.
43. Standley PC, Steyermark JA. Flora of Guatemala. Chicago, USA: Fieldiana Botany. Vol, 24, parte 6, 1949. 439p.

44. De Matta DC. Determinación de la actividad anti-*Neisseria gonorrhoeae* de extractos vegetales por un método de dilución de agar. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2000. 44 p.
45. Standley PC, Williams L. Flora of Guatemala. Chicago, USA: Fieldiana Botany. Vol, 24, parte 7, 1961. 281p.
46. Pérez A. Comparación de dos metodologías para la evaluación *in vitro* de la actividad de extractos de plantas sobre el crecimiento de *Trypanosoma cruzi*. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2003. 48 p.
47. Ixchel T. Determinación de la actividad larvicida de 18 plantas recolectadas en la reserva Biosfera sierra de las minas. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2001.
48. Alameda F. Flora del Bajío y de Regiones adyacentes. California Academy of Sciences. 1993. <http://www.ecologia.edu.mx/publicaciones/resumeness/FLOBA/flora%.pdf>. Fecha de consulta: 5/05/2006.
49. Serna A. *et al.* Proyecto diagnóstico de las especies con usos no maderables en bosques tropicales y subtropicales (PROCYMAF). SEMARNAP. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, 2000. [http://www.sermanat.gob.mx/pfnm2/fichas/curatella\\_americana.htm](http://www.sermanat.gob.mx/pfnm2/fichas/curatella_americana.htm). Fecha de consulta: 25/04/2006.
50. Serna A. *et al.* Proyecto diagnóstico de las especies con usos no maderables en bosques tropicales y subtropicales (PROCYMAF).SEMARNAP. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, 2000. <http://www.sermanat.gob.mx/pfnm/polymniamaculata.html>. Fecha de consulta: 25/04/2006.



51. Hernández A, *et al.* Composición del aceite esencial de *Lippia chiapasensis* loes. Diario de la Investigación del aceite esencial: JEOR. Facultad de Farmacia Universidad de Barcelona, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Universidad de San Carlos de Guatemala. España-Guatemala. Fecha de publicación: Enero 2004. [http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http:gggg//www.findarticles.com/p/articles/mi\\_qa4091/is\\_200601/ai\\_n16028070&prev=/search%3Fq%3Dlippia%2Bchiapasensis%26hl%3Des%26lr%3D](http://translate.google.com/translate?hl=es&sl=en&u=http:gggg//www.findarticles.com/p/articles/mi_qa4091/is_200601/ai_n16028070&prev=/search%3Fq%3Dlippia%2Bchiapasensis%26hl%3Des%26lr%3D). Fecha de consulta: 6/05/2006.
52. Cáceres A, *et al.* Manual de Procedimientos del Proyecto Biodiversidad Tropical Centroamericana. Organización de Estados Americanos (OEA). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala, 1999.
53. Macfaddin JF. Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. 3<sup>rd</sup> edition. USA: Lippincott Williams and Wilkins, 2000.
54. Donaldson J, *et al.* Assessment of Antimicrobial Activity of Fourteen Essential Oils when Using Dilution and Diffusion Methods. *Pharmaceutical Biology*, 2005; 43: 687-695.
55. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 16TH International Supplement Clinical and Laboratory. Standards Institute NC-S16. Documento M100-S15-CLSI-NCCLS 2005.

## XIII. ANEXOS

A. Material utilizado para el cultivo de *Campylobacter jejuni* a partir de muestras clínicas

Agar base Columbia (Oxoid), jarra Gas-pak, sobres para anaerobiosis Campy-pack (BB™)

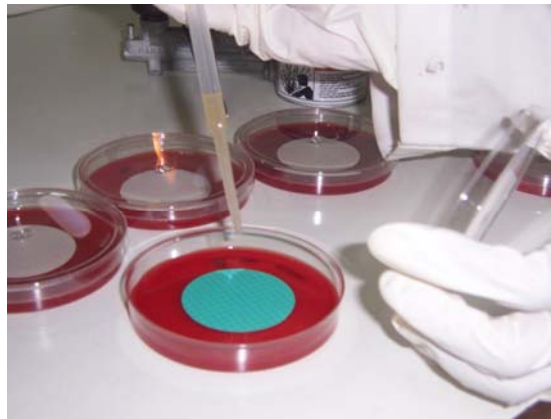


Caldo Tripticasa Soya, glicerol, agar base Columbia (Oxoid)

B. Aislamiento de *Campylobacter jejuni* mediante la técnica de filtración por membrana.



Médo de transporte Cary-Blair



Técnica de filtración por membrana





Incubación a 42°C



Aislamiento de cepa nativa de  
*Campylobacter jejuni*

C. Ensayo de actividad antimicrobiana por el Método de Difusión en Disco.



Discos estériles impregnados con los extractos evaluados



Tamizaje de extractos vegetales por método de difusión en disco.

---

Br. Emily Julieta Ordóñez Juárez

Tesista

---

Licda. Ana Margarita Paz de Ramírez

Asesora

---

Licda. Rosario Hernández

Asesora

