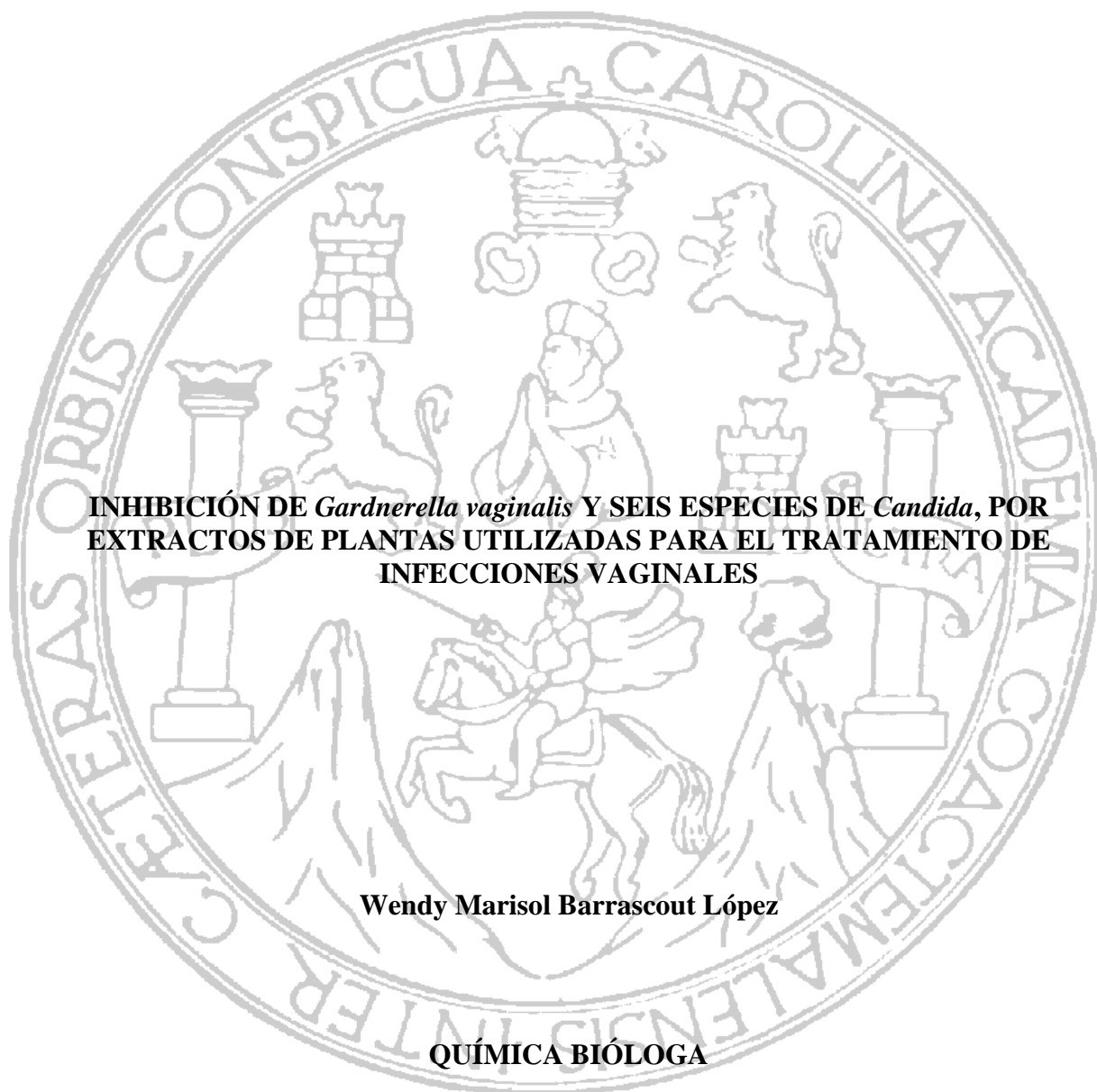


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**



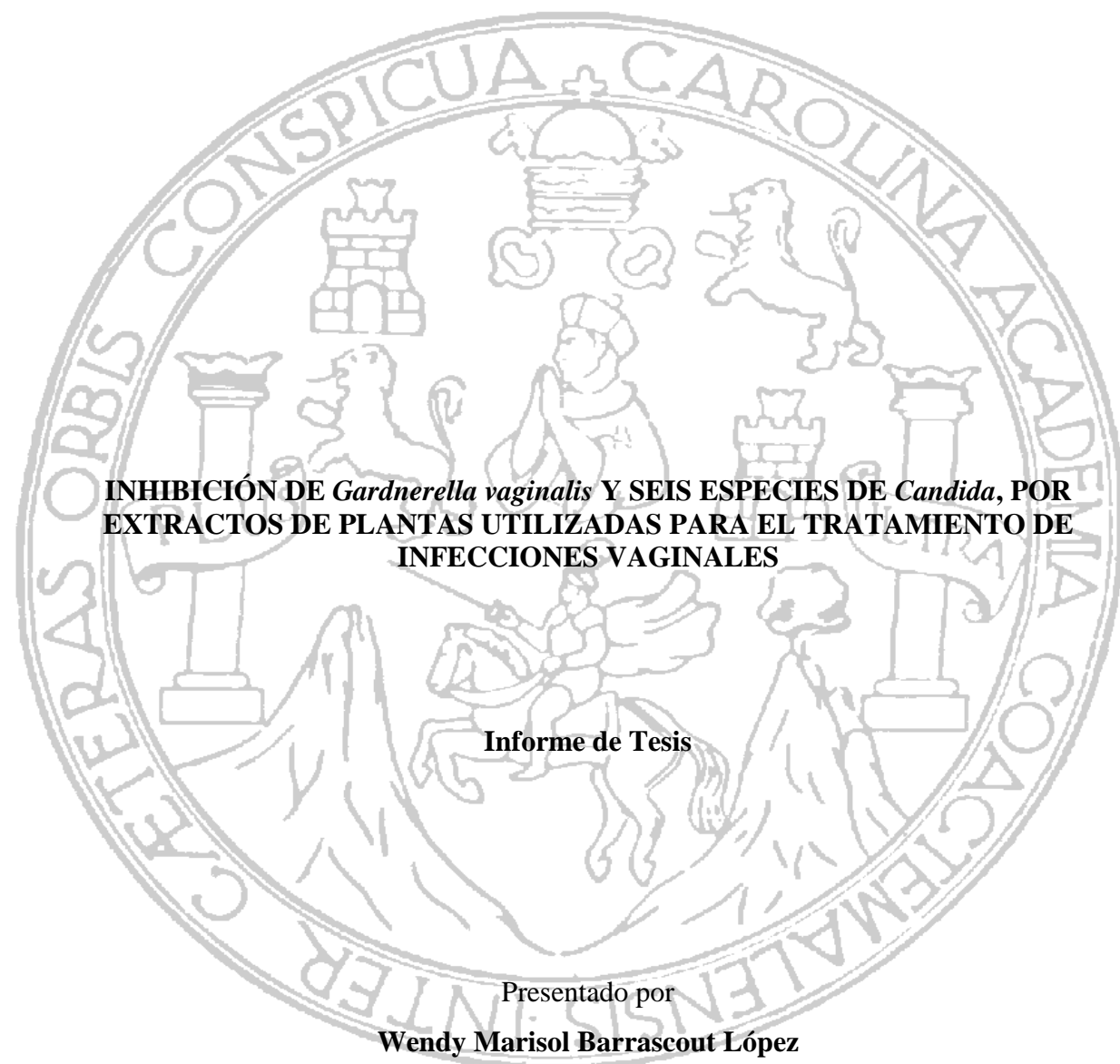
**INHIBICIÓN DE *Gardnerella vaginalis* Y SEIS ESPECIES DE *Candida*, POR
EXTRACTOS DE PLANTAS UTILIZADAS PARA EL TRATAMIENTO DE
INFECCIONES VAGINALES**

Wendy Marisol Barrascout López

QUÍMICA BIÓLOGA

Guatemala, noviembre del 2009

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



**INHIBICIÓN DE *Gardnerella vaginalis* Y SEIS ESPECIES DE *Candida*, POR
EXTRACTOS DE PLANTAS UTILIZADAS PARA EL TRATAMIENTO DE
INFECCIONES VAGINALES**

Informe de Tesis

Presentado por

Wendy Marisol Barrascout López

Para Optar al Título de

Química Bióloga

Guatemala, noviembre del 2009

JUNTA DIRECTIVA

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

Oscar Cóbar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Maria Estuardo Guerra Valle	Vocal IV
Br. Berta Alejandra Morales Mérida	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

Por abrirme sus puertas y permitirme lograr uno de mis mayores sueños. En especial a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A Licda. Isabel Gaitán

Por su amistad, cariño y paciencia, porque siempre estuvo apoyándome y guiándome para la realización de mi investigación.

A Lic. Armando Cáceres

Gracias por permitirme ser parte de su grupo de investigación, por su apoyo, colaboración y dedicación.

A mis revisores:

Licda. Rebeca Méndez y **Lic. Martin Gil** por su paciencia, tiempo y dedicación en la realización de mi proyecto de investigación.

Al Departamento de Citohistología, de la Escuela de Química Biológica

Por brindarme las instalaciones y material para la realización de la investigación

Al Laboratorio FARMAYA

Por su colaboración en la obtención de extractos e información para la realización de mi trabajo escrito.

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Por darme vida, salud, sabiduría y estar siempre a mí lado en todo momento, por permitirme lograr uno de mis mayores sueños.

A MIS PADRES

Marta de Barrascout y Carlos Barrascout. Gracias por ser mi apoyo, mis guías, por brindarme su amor, con lo que han logrado hacer de mí una mujer llena de virtudes y sabiduría.

A MIS HERMANOS

Vivian, Paola, Karla. Por su amor y amistad, por compartir conmigo y contar con su apoyo y Marielitos (†) por ser mi ángel que me guía y cuida siempre.

A MIS SOBRINOS

Darla y Edgar. Por su amor y por esos momentos tan lindos llenos de vida en donde vuelvo ha ser niña a su lado.

A MI FAMILIA

Abuelitos, tíos, tías, primos, primas. Gracias por su apoyo amor y sabios consejos.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE PROMOCIÓN

Por todos los momentos inolvidables que vivimos y que siempre recordaré y llevaré en mi corazón con mucho cariño. En especial a mis amigas y amigos Claudia Marroquín, Silvia Liliana Aguilar, Andrea Salazar, Nancy Soberanis, Alicia García, Mildred Guancín, Oscar Ixcoto, Jessinia Nova, Mónica Guerra, Anabella González, Mayra Carrillo, Brizaida Dieguez, Claudia Alvarado, Estuardo xxxxxxxx, por los momentos tan alegres así como estresantes que vivimos en la facultad, pero que de ellos aprendimos a compartir y ser mejores amigos cada día, los llevaré siempre en mi corazón.

A MIS COMPAÑEROS DE TRABAJO

Por su apoyo, enseñanzas y amistad que me han brindado durante el tiempo que llevo de laborar gracias por todo.

ÍNDICE

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. ANTECEDENTES	4
A. Infección Vaginal	4
B. Vaginosis Bacteriana	5
1. Etiología	5
2. Patología	6
3. Manifestaciones clínicas	7
4. Diagnóstico	8
5. Tratamiento	8
C. Vaginitis	8
1. Etiología	9
2. Patología	10
3. Manifestaciones Clínicas	10
4. Diagnostico	11
5. Tratamiento	11
D. Plantas medicinales	11
E. Plantas medicinales de uso popular en Guatemala para el tratamiento de infecciones vaginales	12
1. <i>Buddleja americana</i> L.	13
2. <i>Salvia microphylla</i> HBK.	14
3. <i>Dioscorea alata</i> L.	15
4. <i>Tagetes lucida</i> Cav.	16
5. <i>Lippia graveolens</i> HBK	18
6. <i>Plantago major</i> L.	19
IV. JUSTIFICACIÓN	22
V. OBJETIVOS	23
VI. HIPÓTESIS	24
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	25
A. Universo de trabajo	25
B. Muestra	25

C. Cepas	25
D. Recursos	25
E. Materiales	27
F. Procedimiento	28
G. Diseño estadístico	32
H. Interpretación de resultados	32
I. Validez del método	33
J. Análisis de datos	33
VIII. RESULTADOS	34
IX. DISCUSIÓN	38
X. CONCLUSIONES	41
XI. RECOMENDACIONES	42
XII. REFERENCIAS	43
XIII. ANEXOS	47

I. RESUMEN

Las infecciones vaginales son un problema frecuente que afecta el bienestar de la mujer en edad reproductiva. Los principales microorganismos que causan estas infecciones son *Gardnerella vaginalis*, que es el agente relacionado con la vaginosis bacteriana, *Trichomonas vaginalis* y *Candida albicans* que provocan la vaginitis.

En Guatemala, el uso de plantas medicinales para el tratamiento de infecciones vaginales es una práctica popular, que ha sido heredada de generación en generación. En este estudio se pretendió determinar la actividad inhibitoria de extractos de plantas medicinales utilizadas para el tratamiento de infecciones vaginales contra *G. vaginalis* y seis especies de *Candida* y proporcionar así nuevas opciones terapéuticas.

A los extractos que presentaron actividad ($p < 0.10$) contra alguna de las especies de *Candida* se les determinó la concentración mínima inhibitoria. El crecimiento de *C. albicans* fue inhibido por el extracto diclorometánico de *L. graveolens* y los extractos diclorometánico y metanólico de *P. major* a una concentración de 1 mg/mL. El extracto diclorometánico de *B. americana* presenta actividad contra *Candida glabrata* a 0.5 mg/mL. Para *Candida tropicalis* se demuestra actividad a concentración de 0.25 mg/mL con el extracto diclorometánico de *L. graveolens*.

Los extractos de diclorometano y metanol no presentaron efecto inhibitorio ($p > 0.10$) contra *Candida parapsilosis* y *G. vaginalis* lo que indica que los compuestos presentes en los órganos de las plantas analizadas no inhiben el crecimiento de estos microorganismos.

En esta investigación se demostró la actividad de tres plantas *L. graveolens*, *B. americana* y *P. major*, dando como resultado la inhibición del crecimiento de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*.

II. INTRODUCCIÓN

Los procesos infecciosos del tracto genital femenino se manifiestan clínicamente por la presencia de flujo vaginal, prurito, eritema, dispareunia o sangrado anormal. Los factores que favorecen el desarrollo de estas infecciones son las múltiples parejas sexuales, el embarazo, la diabetes, el estrés, las malformaciones congénitas, el uso frecuente de antibióticos, el uso de anticonceptivos, la medicación vaginal y la deficiencia inmunológica (1,2).

La vaginosis bacteriana (VB), es el tipo más frecuente de vaginitis infecciosa en la edad reproductiva, es un síndrome polimicrobiano cuya aparición depende del sinergismo entre *G. vaginalis* y algunas bacterias anaerobias. Se ha reportado en 20.1% de mujeres embarazadas, 13.5% de pacientes en planificación familiar y 1.7% de adolescentes (1).

En el 50% de los casos la VB es asintomática; en las personas que presentan síntomas, las manifestaciones clínicas incluyen secreción vaginal acuosa homogénea, de color blanco grisáceo que se adhiere a las paredes vaginales, con mal olor; el pH del flujo vaginal es generalmente mayor de 5.0, la reacción de amina es positiva y es característica la presencia de células clave (1,3).

La vaginitis es un padecimiento muy frecuente y molesto, que se caracteriza por una descarga blanquecina, grumosa sin olor fétido, la mucosa vaginal generalmente se presenta eritematosa y con placas blanquecinas, además la lesión puede extenderse a las aéreas externas. Es un problema ginecológico común que afecta a mujeres de todas las edades y, según las estadísticas, casi todas las mujeres sufrirán al menos una forma de vaginitis en el transcurso de su vida (4).

Durante los años de la vida reproductiva de la mujer, la vaginitis se presenta con una frecuencia de hasta 40% en embarazadas, 25% en mujeres de clínicas de planificación familiar y 18% en adolescentes. *Candida albicans* es causante del 85 al 90% de las infecciones causadas por levaduras. Otros casos son producidos por otras especies como *Candida stellatoidea* y *Candida tropicalis*. Clínicamente el síntoma más frecuente es la

presencia de prurito vulvar muy intenso que puede acompañarse de dispareunia y síntomas urinarios (5).

En Guatemala se han realizado estudios que demuestran la utilidad farmacológica de las plantas medicinales relacionadas con el tratamiento de infecciones vaginales. Con el presente estudio se pretendió evaluar la inhibición de *G. vaginalis* y seis especies de *Candida* por medio de extractos metanólicos y diclorometánico de plantas utilizadas comúnmente para el tratamiento de infecciones vaginales o que se desconoce su acción inhibitoria contra estos microorganismos; *Buddleja americana* L. (Salvia santa), *Salvia microphylla* HBK. (Mirto), *Dioscorea alata* L. (Ñame), *Tagetes lucida* Cav. (Pericón), *Lippia graveolens* HBK. (Orégano), *Plantago major* L. (Llantén).

III. ANTECEDENTES

A. Infección vaginal

La microbiota vaginal normal está constituida por distintas especies de microorganismos aerobios, anaerobios y bacilos de Dodërlein, que mantiene un pH vaginal entre 4-5, dando condiciones normales para que los microorganismos que la habitan estén en perfecto balance. Si por algún motivo se produce un desequilibrio el nivel de acidez cambia, se pierde el balance y se producen las condiciones ideales para el crecimiento rápido de microorganismos que originan la infección vaginal (6,7).

En los años reproductivos de la mujer, aparecen secreciones vaginales normales, que incluyen varios componentes como agua, células epiteliales, compuestos de proteínas y carbohidratos, microorganismos, electrolitos y ácidos grasos orgánicos. Dependiendo de su composición el flujo puede ser blanco, lechoso, acuoso o mucoide y proviene principalmente del cuello del útero (cérvix) o de la descamación de las células vaginales; por el contrario en caso de una infección se presenta una secreción de aspecto grisáceo homogéneo y de baja viscosidad (6).

La infección vaginal es un proceso infeccioso de la vagina caracterizado por uno o más de los siguientes síntomas: presencia de flujo, prurito, ardor, irritación, disuria, dispareunia y fetidez vaginal; determinados por la invasión y multiplicación de cualquier microorganismo en la vagina y como resultado de un desequilibrio en la microbiota vaginal. Estos síntomas son el motivo de consulta más frecuente en las clínicas de ginecología; además su importancia radica en las complicaciones que producen estas infecciones al diseminarse a otros órganos (útero o trompas de Falopio) y también representan un riesgo para el feto en gestación. Los principales microorganismos que causan éstas infecciones son: *G. vaginalis*, *T. vaginalis* y *C. albicans* (1,2,8).

Los factores que favorecen las infecciones vaginales son: la deficiente higiene génito-anal, múltiples parejas sexuales, baños en piscinas y tinas, embarazo, diabetes, parasitosis,

estrés, malformaciones congénitas, uso frecuente de antibióticos, hormonas, anticonceptivos, medicación vaginal, deficiencia inmunológica (2,3).

El diagnóstico de las infecciones genitales se basa en:

1. Clínica
2. Exploración ginecológica
3. Examen físico-químico de las secreciones vaginales (estudio del pH de la secreción vaginal)
4. Examen fresco y cultivo del flujo vaginal
5. Citología (6,9).

B. Vaginosis bacteriana (VB)

La VB, es la infección más común en personas en edad reproductiva, y es la causa más frecuente de los síntomas vaginales en casi todas las situaciones médicas. Se ha reportado en 20.1% de mujeres embarazadas, 13.5% de pacientes en planificación familiar y en 1.7% de adolescentes. Esta enfermedad ha recibido diversos nombres, entre ellos vaginitis inespecífica y vaginitis por *Gardnerella*, de los cuales el término VB es quizás el más apropiado en vista de que el epitelio escamoso no muestra generalmente infiltración leucocitaria. La VB es un síndrome polimicrobiano cuya aparición depende del sinergismo entre *G. vaginalis* y algunas bacterias anaerobias, particularmente determinadas especies de *Mobiluncus* y *Bacteroides*. Su frecuencia de aparición varía entre el 15-64% dependiendo del tipo de pacientes estudiadas (prevalencia media en mujeres en edad reproductiva entre 30-45%) (1,8,10).

1. Etiología

Las primeras descripciones de esta bacteria datan de 1953, cuando se aisló en 58 mujeres con cervicitis y de dos hombres con uretritis inespecífica y se denomina *Haemophilus vaginalis*, por aislarse inicialmente sólo en agar sangre. Se asoció con los requerimientos nutricionales de *Haemophilus*, pero más tarde se descartó y se relacionó con otros géneros de bacilos Gram positivo como: *Corynebacterium*, *Butyribacterium* e

incluso *Lactobacillus*, para finalmente clasificarla en el nuevo género *Gardnerella*, con una sola especie *G. vaginalis*. El nombre se dio en honor del H.L. Gardner (11,12).

Gardnerella vaginalis es un bacilo, no encapsulado, y corto (con una longitud de 0,5 a 1,5 μM), lo que hace que aparezca como un coco-bacilo pleomórfico, que usualmente se tiñe como Gram negativo o Gram variable. Estructuralmente su pared corresponde a la de un microorganismo Gram positivo y la discrepancia en su carácter tintorial radica en el poco espesor de su capa de peptidoglicano, que hace que se decolore fácilmente durante el proceso de tinción, por lo tanto aparece como Gram negativo, posee una sustancia citotóxica que rompe las células epiteliales, lo cual explica las alteraciones estructurales en las células. Se ha encontrado que es capaz de inducir la presencia de anticuerpos IgA lo que indica una respuesta inflamatoria local. Es un organismo anaerobio facultativo y se aísla en agar sangre incubado en anaerobiosis o en una atmósfera de 5% de CO_2 , a 35°C por 48 horas. La hemólisis beta se presenta en agar sangre con eritrocitos de origen humano o de conejo, pero no de otros animales. Este microorganismo es catalasa y oxidasa negativo, la hidrólisis de hipurato, indol y urea son positivas, además no crece en agar Mackonkey (12-14).

2. Patología

Gardnerella vaginalis forma parte de la microbiota vaginal normal del 20-40% de las mujeres sanas, aunque se aísla en exudados vaginales de mujeres asintomáticas. Se considera a este microorganismo como causante de la mayoría de las vaginosis, encontrándose en grandes cantidades en el 95% de las pacientes. El aumento en la prevalencia y las concentraciones de *G. vaginalis*, *M. hominis*, bacterias anaerobias y algunas especies de *Peptoestreptococcus* en la exudación vaginal de la mujer con VB probablemente contribuyen a su patogenia. La proliferación de estos microorganismos producto de la perturbación del ecosistema microbiano de la vagina con desplazamiento de los lactobacilos, produce un desequilibrio con producción de poliaminas por las bacterias anaerobias, así como ácidos orgánicos que son citotóxicos y producen exfoliación de las células vaginales que originan la secreción característica de esta entidad y el típico olor a pescado al volatizarse las aminas ante un pH alto (3,15-17).

Aunque no se sabe con certeza si es una infección de transmisión sexual, el síndrome se asocia a los factores de riesgo de las enfermedades de transmisión sexual, como son la existencia de numerosos compañeros sexuales y el contacto reciente con un nuevo compañero sexual, pero no se ha logrado identificar claramente a ningún microorganismo transmitido sexualmente como agente causal implicado. Hay varios factores que se asocian a la VB como, el inicio temprano de las relaciones sexuales, los dispositivos intrauterinos, el embarazo, la utilización frecuente de duchas vaginales, también algunos procesos sistemáticos como, diabetes, embarazo, uso de anticonceptivos vaginales y de antibióticos. Estudios actuales evidencian una fuerte asociación entre vaginosis bacteriana y transmisión del VIH (virus de inmunodeficiencia humana), pues consideran que el desequilibrio de la microbiota vaginal presente puede favorecer la seroconversión (2,18).

En la superficie de *G. vaginalis* se ha detectado la presencia de pilis, actividad hemaglutinante y adherencia en células McCoy. Su capacidad de adherencia a células epiteliales de la vagina puede ser un factor determinante en su patogenicidad. Se adhiere rápidamente a las células del epitelio vaginal, no tiene carácter invasivo y la inflamación local es limitada como lo demuestra el bajo número de leucocitos presentes en las secreciones vaginales, y por la histopatología de las biopsias vaginales (11,16,19).

3. Manifestaciones clínicas

En el 50% de los casos la VB es asintomática, de ahí la importancia de conocer su frecuencia, identificar y tratar este padecimiento en forma adecuada para evitar complicaciones futuras, ya que se asocia con una gran cantidad de problemas ginecológicos y obstétricos. Entre las primeras consecuencias se encuentran, las complicaciones del embarazo como bajo peso al nacer y parto prematuro, la enfermedad pélvica inflamatoria si la bacteria infecta al útero y a las trompas de Falopio, riesgo de contraer VIH y otras enfermedades de transmisión sexual (20 - 22).

La presentación clínica incluye secreción vaginal acuosa homogénea, de color blanco grisáceo que se adhiere a las paredes vaginales, con mal olor, quemazón o irritación vulvar, disuria, dispareunia, edema o eritema vulvar. El pH del flujo vaginal es generalmente

mayor de 5.0, la reacción de amina es positiva y es característica la presencia de células clave. El frote Gram del exudado revela la ausencia de bacilos de Döderlein (Gram positivo) y se observan las células clave, células epiteliales completamente cubiertas con abundantes bacilos pleomórficos Gram negativo (1-3,13).

4. Diagnóstico

Para establecer el diagnóstico de VB desde el punto de vista clínico, debe ser definida por tres de los siguientes criterios (Amsel 1983):

- Exudado vaginal anormal, grisáceo, homogéneo, no purulento y maloliente.
- pH vaginal mayor de 4.5.
- Incremento de la concentración de células clave en el examen en fresco del exudado vaginal, deben constituir el 20% o más de las células epiteliales observadas. Estas células de descamación epitelial se caracterizan por haber perdido la definición de sus bordes y aparecer tapizadas por cocobacilos.
- Incremento de la concentración de aminas en la secreción vaginal. Prueba de las aminas utilizando hidróxido de potasio (KOH), al 10%. Al añadir KOH al exudado vaginal se produce la alcalinización de éste, con lo que existe volatilización de aminas producidas por las bacterias anaerobias, por lo que se desprende un olor característico descrito como olor a "pescado" (23).

5. Tratamiento

El principal objetivo del tratamiento es eliminar las manifestaciones y signos de la infección vaginal. El tratamiento más empleado es el Metronidazol de 500 mg por vía oral, (dos veces al día por siete días), en forma vaginal, mediante óvulos de 500 mg durante 7 días. También es eficaz la Clindamicina (300 mg por vía oral, dos veces al día durante 7 días), los datos recientes sugieren que el tratamiento intravaginal con crema de clindamicina al 2% (5 g cada noche, repetido 7 noches) o gel de metronidazol al 0.75% (5 g dos veces al día durante 5 días) es comparable en eficacia al tratamiento por vía oral, pero produce menos efectos desfavorables. La crema de clindamicina intravaginal es el tratamiento de elección para las embarazadas con VB (18,24).

C. Vaginitis

El término vaginitis se utiliza para describir cualquier tipo de inflamación o infección de la vagina. Es un padecimiento muy frecuente y molesto, que se caracteriza por una descarga blanquecina, grumosa sin olor fétido, la mucosa vaginal generalmente se presenta eritematosa y con placas blanquecinas, además la lesión puede extenderse a las aéreas externas (4).

Es un problema ginecológico común que afecta a mujeres de todas las edades y, según las estadísticas, casi todas las mujeres sufrirán al menos una forma de vaginitis en el transcurso de sus vidas. La etiología de la vaginitis depende de la edad y de la etapa fisiológica de la paciente, por lo que debe dividirse en vaginitis en niñas premenárquicas, vaginitis en la mujer en edad reproductiva y vaginitis en la mujer postmenopáusica (1).

1. Etiología

Durante los años de la vida reproductiva de la mujer, la vaginitis se presenta con una frecuencia de hasta 40% en embarazadas, 25% en mujeres de clínicas de planificación familiar y 18% en adolescentes. En diferentes grupos de mujeres guatemaltecas se ha reportado una frecuencia de 12.6% en embarazadas, 5.3% en pacientes de planificación familiar y 6.8% en adolescentes (1).

Acevedo y Arroyo en el 2009 realizaron un estudio prospectivo en 594 pacientes que asistieron a la clínica de Papanicolaou de la Asociación Pro-Bienestar de la Familia (APROFAM) en la ciudad de Guatemala, se determinó que 305 pacientes (51.3%) padecían de vaginitis. La vaginosis bacteriana fue la principal causa de vaginitis en el 33% de los casos (196 pacientes), otros padecimientos incluyeron vaginitis inespecíficas en 11.8% (70 pacientes), otros padecimientos incluyeron vaginitis inespecífica en 11.8% (70 pacientes) vaginitis por *Candida* sp. en 4.2% (25 pacientes) y vaginitis por *T. vaginalis* en 2.4% (14 pacientes) (25).

La vaginitis generalmente es causada por *C. albicans*; puede transmitirse sexualmente, la mayoría de los casos se deben a contaminación ano-vaginal. *C. albicans* es la especie

que origina aproximadamente el 90% de estas infecciones. Otros casos están producidos por otras especies como *C. stellatoidea* y *C. tropicalis*. *C. albicans* es un hongo levaduriforme que presenta levaduras ovaladas o globosas, gemantes con tamaños distintos, además puede presentar pseudomicelio o micelio verdadero, tanto en muestras clínicas como en los diferentes medios de laboratorio (4).

Se calcula que 3 de cada 4 mujeres tienen un episodio de vaginitis por *Candida* spp. al menos una vez en su vida, siendo frecuentes las recidivas. Los factores que predisponen a la mujer a desarrollar vaginitis son: uso de antibióticos, produciendo un cambio en el equilibrio normal entre los organismos que habitan la vagina, inhibiendo el crecimiento de las bacterias protectoras que normalmente tienen un efecto antimicótico, los anticonceptivos orales que contienen estrógenos y el embarazo debido al aumento de los niveles de estrógeno en el organismo. El incremento del nivel hormonal ocasiona cambios en el microambiente vaginal que lo hacen propicio para el crecimiento y la nutrición del hongo. El embarazo y la diabetes se acompañan de una disminución cualitativa de la inmunidad mediada por células, que ocasiona una incidencia más alta de vaginitis. Las infecciones por levaduras también pueden presentarse en asociación con problemas que afectan al sistema inmune como el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) (26,27).

2. Patología

Candida albicans, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, y *C. parapsilosis*, se observan a menudo como parte de la microbiota humana normal y se aíslan en la mucosa de la vagina y área rectal. La mayor parte de los casos de vaginitis se produce cuando el equilibrio entre los microorganismos que normalmente habitan en la vagina se pierde y la población de *C. albicans* aumenta en relación con los demás (28).

3. Manifestaciones clínicas

Clínicamente, el síntoma más frecuente es la presencia de prurito vulvar muy intenso que puede acompañarse de dispareunia y síntomas urinarios. En la exploración puede observarse eritema, placas blanquecinas en la vulva, y flujo vaginal espeso y blanco que

forma pseudomembranas que se adhieren a la pared vaginal. El pH es muy parecido al normal o menor de 4.5, y la reacción de aminas es negativa. Hay prurito, sensación de quemazón vaginal, irritación vaginal, disuria, eritema vulvoperineal (5,27).

4. Diagnóstico

El diagnóstico se realiza por la sintomatología clínica, la presencia de secreción vaginal acuosa a densa de manera homogénea, el pH normal, la prueba de aminas negativa, y el examen microscópico en fresco. La exploración al microscopio del material vaginal mezclado con suero fisiológico constituye el método más valioso para el diagnóstico diferencial de las vaginitis. Permite visualizar la presencia de levaduras, micelio y pseudomicelio asociado a variable cantidad de leucocitos polimorfonucleares. Se puede establecer el diagnóstico supuesto en ausencia de elementos micóticos comprobados al microscopio si el pH y los resultados de la preparación en fresco son normales, el cultivo se recomienda para confirmar el diagnóstico (14,26,27).

5. Tratamiento

El tratamiento habitual es la administración intravaginal de cualquiera de los diversos antibióticos imidazólicos como miconazol o clotrimazol, durante 3 a 7 días. El tratamiento con azoles proporciona alivio de los síntomas y cultivos negativos en una proporción de 80 a 90% de las pacientes que han terminado el tratamiento. Los síntomas suelen desaparecer en dos o tres días. El tratamiento oral con dosis únicas de fluconazol 150 mg, también es eficaz y es el que prefieren muchas mujeres. El tratamiento prolongado o periódico con fluconazol o ketoconazol por vía oral puede estar indicado en casos especialmente graves o con frecuentes recidivas, o cuando no hay mejoras con el tratamiento vaginal u oral de dosis únicas (29).

D. Plantas medicinales

Las plantas constituyen un recurso valioso en los sistemas de salud de los países en desarrollo. Aunque no existen datos precisos para evaluar la extensión del uso global de plantas medicinales, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 80% de la población mundial utiliza rutinariamente la medicina tradicional para satisfacer

sus necesidades de atención primaria de salud y que gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos. De acuerdo a la OMS una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos pueden servir de precursores para la síntesis de nuevos fármacos. Estas plantas también tienen importantes aplicaciones en la medicina moderna. Entre otras, son fuente directa de agentes terapéuticos, se emplean como materia prima para la fabricación de medicamentos semisintéticos más complejos, la estructura química de sus principios activos puede servir de modelo para la elaboración de drogas sintéticas y tales principios se pueden utilizar como marcadores taxonómicos en la búsqueda de nuevos medicamentos (30).

En Guatemala se han realizado estudios que demuestran la utilidad farmacológica de las plantas medicinales, relacionadas con el tratamiento de infecciones vaginales. Girón, en 1983 investigó la inhibición de *C. albicans in vitro* por preparaciones de plantas usadas en la medicina popular, encontrando que tres plantas inhibían el crecimiento de esta levadura. Además Girón y colaboradores investigaron la actividad contra *C. albicans* de plantas usadas para el tratamiento de vaginitis en Guatemala, obteniendo como resultado que *Solanum nigrescens* puede ser usada efectivamente para tratamiento de candidiasis vaginal (7).

Montes, en 1993 estudió la actividad antibacteriana *in vitro* de seis plantas de la flora de Guatemala, obteniendo cinco plantas con resultados positivos. Samayoa, en 2004 investigó la inhibición de *G. vaginalis* por extractos de plantas del Nororiente de Guatemala, encontrando que tres plantas que inhibían el crecimiento de *G. vaginalis*, en el mismo año Palacios investigó la inhibición de *G. vaginalis* por extractos de plantas del Suroccidente de Guatemala, encontrando que una planta evitaba el crecimiento de esta bacteria (8,10,11).

E. Plantas medicinales de uso popular en Guatemala para tratamiento de infecciones vaginales

Se seleccionaron algunas plantas de acuerdo con su accesibilidad y su frecuencia de uso para tratar síntomas asociados a estas patologías.

1. *Buddleja americana* L

a. Familia

Loganiaceae/Buddlejaceae

b. Sinónimos

Buddleja occidentales L., *Buddleja callicarpoides* HBK., *Buddleja dentata* HBK., *Buddleja floribunda* HBK., *Buddleja rufescens* Willd., *Buddleja verbascifolia* HBK., *Buddleja decurrens* Schelecy.

c. Nombres comunes

Arcina, hoja blanca, sactzam, salvia santa, salviona, tepozán.

d. Descripción botánica

Arbusto o árbol pequeño hasta 10 metros de alto. Hojas 5-30 cm de largo, opuestas, ovales o elípticas, delgadas, algunas veces finamente dentadas, en el reverso son verde oscuro y cubiertas con una lanilla blanca o amarillenta que tiene olor alcanforado. Flores fragantes, forma de embudo, 4-5 mm de largo, color blanco o amarillento, en grupos densos con inflorescencias en racimo cada 22 cm. Cápsula de semillas cilíndrica u ovoide, 5 mm de largo, contiene numerosas semillas oblongas, 1 mm de largo (31,32).

e. Distribución geográfica y hábitat

Es una planta nativa del continente americano, se localiza en la cuenca del Caribe y desde el centro de México hasta Centro América, a menudo se encuentra en terrenos rocosos a lo largo de ríos y arroyos o bordeando los campos de cultivo, crece cerca de caminos y en lugares abandonados, en Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja

Verapaz, Chimaltenango, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Izabal, Jutiapa, Petén, Quiché, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa y Zacapa (31,33).

f. Usos populares

La decocción de hojas se usa por vía oral para tratar afecciones gastrointestinales (cólico, diarrea, disentería, dolor de estómago, gastritis, indigestión) y respiratorias (amigdalitis, asma, bronquitis, fiebre), cirrosis, edema, epilepsia e infección urinaria. La infusión de hojas es usada contra el reumatismo, y los preparados de estas se utilizan para aliviar la leucorrea, cefalea. Se le atribuyen propiedades antiséptica, antiinflamatoria, depurativa, diurética, emenagoga, espasmolítica, estomáquica, eupéptica, febrífuga, hemostática, hipnótica, sedante, sudorífica y tónica (31).

g. Actividad farmacológica y toxicidad

Estudios antimicrobianos demuestran que el extracto etanólico es activo contra *S. aureus*, la tintura tiene ligera actividad contra *S. typhi* y la concentración mínima inhibitoria para *S. pneumoniae* es de 2 mg/mL. En la revisión de literatura y bases de datos experimentales no se encontró información sobre su toxicidad (33).

2. *Salvia microphylla* HBK.

a. Familia

Lamiaceae

b. Nombres comunes

Diente de acamaya, hierba de mirto, mastranzo, mirto, mirto chico, mirto cultivado, mirto de castilla, mustla (pupéracha), toronjil, verbena.

c. Descripción botánica

Arbusto pequeño o hierba perenne, de usualmente un metro de alto o menor, frecuentemente muy ramificada, tallos densamente puberulentos y frecuentemente viscoso; hojas algo gruesas, delgadas, pecioladas, ovada a elíptica u oblonga, de 1-2.5 cm de largo,

usualmente obtusas, generalmente agudas u obtusas en la base, dentadas, puberulentas o glabras; flores opuestas, formando ramos interrumpidos de 15 cm de longitud o usualmente más cortos, los racimos usualmente densamente pubescentes viscosos, brácteas ovadas acuminadas, de 3-6 mm de largo, caduco, flores pediceladas; cálices en anteras de 10-15 mm de largo, densamente glandulares, puberulentas, verdes (34).

d. Distribución geográfica y hábitat

Nativa de México, es cultivada ocasionalmente en jardines ornamentales en Guatemala se encuentra en Jalapa, Alta Verapaz y en el departamento de Guatemala (34).

e. Usos populares

La planta completa en infusión con tequesquite y flor de ángel se usa para curar el dolor de cabeza, la infusión se utiliza contra la tos y problemas menstruales. El follaje en infusión en lavados para heridas y en baños para aliviar bronquios. Se usa el cocimiento de las hojas con otras plantas en baños para granos, salpullido y escarlatina con calentura. Las hojas directamente sobre el orificio auditivo para el dolor, no se tiene definida la parte de la planta que se utiliza para aliviar los siguientes padecimientos; bilis, mala digestión, disentería, empacho, posparto, esterilidad (31).

3. *Dioscorea alata* L.

a. Familia

Dioscoreaceae

b. Nombres comunes

Macal, maxcal, akilmacal (Yucatán Maya), cabeza de negro, ñame, ñame blanco, ñame común, papa china (35).

c. Descripción botánica

Plantas erectas, glabras, tallos con cuatro ramificaciones; hojas alargadas pecioladas, ovadas-cordadas o cordadas, con seno basal ancho o estrecho, de 10-20 cm, largo

acuminado o caudado acuminado; espigas ramificadas, elongadas, las flores sésiles; perianto de 1.5 mm de diámetro, verde pálido, segmentos desiguales; estambres fértiles, 6, muy cortos; cápsula lustrosa, de 3 cm de ancho. Planta trepadora con 4 tallos en ángulo o en forma de alas y llegan a la copa de los árboles, por lo general no tiene tubérculos aéreos, tiene diversos tubérculos subterráneo lobulados o ramificados, de hasta 2 m de largo, de color blanco, amarillo, naranja, rojo o púrpura por dentro (32).

d. Distribución geográfica y hábitat

Nativa o tropical de Asia o África, cultivada en la mayoría de regiones por sus raíces; cultivada comúnmente en Guatemala, especialmente en regiones bajas, y en ocasiones en elevaciones mayores, como el Departamento de Guatemala. Es originario de México, habita en clima cálido desde el nivel del mar hasta los 1500 metros. Asociada a bosques tropicales caducifolio, subperennifolio y perennifolio (31).

e. Usos populares

En Colombia las hojas son usadas como cataplasma en tumores y barros, en baños para aliviar varias irritaciones de la piel y picaduras de ciempiés. El almidón de los tubérculos se aplica como una pasta sobre hemorroides, En Costa Rica la infusión de hoja es tomada como sudorífico, febrífugo y estimulante digestivo (35).

f. Actividad farmacológica y toxicidad

Tallos y tubérculos contienen diosgenina y una saponina. El tubérculo en bruto es agrio e irritante para la lengua y garganta. Grandes dosis causa pérdida del conocimiento.

4. *Tagetes lucida* Cav.

a. Familia

Asteraceae/Compositae

b. Nombres comunes

En Guatemala Pericón, liyá (Totonicapán), iyá, jolomocox, ucá, hierba de San Juan (Quetzaltenango). En México: Anicillo, cuauhiyauhtli, curucumín, hierbanis, periquillo, yahutli. Honduras: Pericón (31,36).

c. Descripción botánica

Hierba perenne, muy aromática, glabra, erecta, 30-95 cm de alto, se levanta desde una base corta, gruesa y leñosa; cimosamente ramificada arriba, ramasa escasas, muy resinosa al secarse. Hojas opuestas, sésiles, lineares y oblango-lanceoladas, 5-10 cm de largo por 7-9 mm de ancho, romas o puntiagudas, obtusas o agudas en el ápice, finamente dentadas, provistas de numerosas glándulas oleosas, pequeñas y esparcidas. Cabezuelas florales pequeñas con fuerte olor a anís, en densas o abiertas cimas, de 9-10 mm de diámetro; involucro cilíndrico, 7-10 mm de largo, 2-3 mm de ancho, en arreglos terminales, 5-7 filarios subulados en el ápice, brácteas comúnmente 3; flabeliformes, 3 mm de largo, truncadas; flores del disco de 5-7, corolas de 5-6 mm. Aquenios de 6-7 mm, estriados, papus escamoso de 5-6, 2 de ellos setiformes, 3 mm de largo, los otros más largos, ablongos, obtusos (36-38).

d. Distribución geográfica y hábitat

Nativa de México a Honduras en bosques de encino y laderas de 1000 a 2000 metros sobre el nivel del mar. Es abundante en la época de lluvia, desaparece en época seca; debe cosecharse al inicio de la floración. En Guatemala crece en Alta Verapaz, Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Petén, Quetzaltenango, Quiché, Sacatepéquez y San Marcos. Introducida y cultivada en Estados Unidos y Europa (31,37).

e. Usos populares

El uso medicinal de la decocción de las hojas y sumidades floridas está muy difundido en toda la población, principalmente para el tratamiento de afecciones gastrointestinales (diarreas, dolor de estómago, flatulencias, indigestión, inflamación y náusea), procesos febriles (gripe, malaria y resfrió), mordedura de culebras, escorpión y enfermedades hepáticas. Se le atribuye propiedad antidiarréica, antiinflamatoria, antioxidante,

antiséptica, aromática, carminativa, digestiva, diurética, emenogoga, espasmolítica galactogoga y febrífugas. La infusión de flores y hojas se usan por vía oral para aliviar el parto, tratar anemia, inflamación de los ojos, afecciones nerviosas, dolor menstrual (31,36).

f. Actividad farmacológica y toxicidad

Estudios antimicrobianos demuestran que la tintura de hojas y flores es activa contra *E. coli*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. typhi*, *S. pyogenes*, y ligeramente activa contra *N. gonorrhoeae*. Estudios antifúngicos demuestran que la tintura inhibe el crecimiento de *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. stellatoidea*, con una CIM de 1-2 mg/mL. Popularmente se indica que es una planta abortiva. El extracto alcohólico provoca en algunas personas síntomas cardiovasculares (31,39).

5. *Lippia graveolens* HBK.

a. Familia

Verbenaceae

b. Nombres comunes

Orégano, mejorana, orégano de monte

c. Descripción botánica

Arbusto delgado hasta 2 m de alto, ramas con pubescencia cortamente pilosa. Hojas en peciolo 510 mm de largo, oblongas a elípticas, 2-4 cm de largo, obtusas o redondas en el ápice, subcordadas a la base, densamente pilosas, suaves al tacto, densamente tomentosas. Flores subglobosas a oblongas, 4-12 mm de largo, brácteas ovado-lanceoladas, agudas; cáliz 1-2 mm de largo, glandular; corola blanca, 3-6 mm de largo (40).

d. Distribución geográfica y hábitat

Es nativa del sur de Texas a Nicaragua, se encuentra en bosques secos y montes espinosos subtropicales, en pendientes pedregosas muy secas, en partes planas, en

matorrales húmedos o secos y planicies hasta 350 msnm. En Guatemala se ha descrito en El Progreso, Petén y Zacapa (31,40)

e. Usos populares

La decocción o infusión de hojas se usa para tratar anemia, afecciones gastrointestinales (amebiasis, cólico, diarrea, disentería, dispepsia, estreñimiento, indigestión) y respiratorias (asma, bronquitis, catarro influenza, laringitis, pleuresía, resfrío, tos, tosferina, tuberculosis), hidropesía, ictericia, amenorrea, dismenorrea y reumatismo.

La decocción en leche se usa para tratar asma y bronquitis, un jarabe de las hojas secas se usa para tratar diabetes, disentería, catarro y resfríos. Tópicamente la decocción se aplica para la cicatrización de heridas, llagas e inflamaciones de la garganta; en baños se usa para fortalecer niños debilitados, combatir la gripe y para aliviar el prurito y la sarna, en cataplasma para madurar abscesos, calmar neuralgias y aliviar induraciones, cáncer y tumores; en fricciones y baños se usa como calmante, la planta fresca macerada en aceite se aplica a los dolores reumáticos; la maceración alcohólica contra ataques. Las infusiones de hojas también se utilizan para lavar heridas, infecciones y quemaduras por sus propiedades desinfectantes. Se le atribuyen propiedades antioxidante, antiséptica, aromática, calmante, carminativa, cicatrizante, desinflamante, diaforética, digestiva, emenagoga, espasmolítica, estimulante, estomáquica, expectorante, pectoral, sudorífica y tónica (31).

f. Actividad farmacológica y toxicidad

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura y la infusión de hojas es activa contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*. Estudios antifúngicos demuestran que los extractos con diclorometánico y etanol son activos contra *C. albicans*, *A. flavus*, *E. floccosum*, *M. gypseum* y *T. rubrum*. Su administración durante el embarazo está contraindicado, ya que puede producir aborto (31).

6. *Plantago major* L.

a. Familia

Plantaginaceae

b. Nombres comunes

Cola de ardilla, llantén, lantén, ractzi

c. Descripción botánica

Es una hierba anual de hojas escasas en roseta basa, peciolo largo, lampiñas, anchas, ovaladas. 5-10 cm de largo. Flores blanco-verdoso, pequeñas, en espigas 10-20 cm de largo; brácteas más cortas que el cáliz; sépalos anchos, 1-2 mm de largo. Cápsula de semillas ovaladas, 3-4 mm, 2 celdas con 6-30 semillas ovoides, anguladas, café-negro, 1-2 mm de ancho, cubiertas de mucílago (31).

d. Distribución geográfica y hábitat

Es nativa de Eurasía, convertida en maleza universal; abunda en el subtrópico americano entre 600-1800 msnm. En Guatemala se ha naturalizado en Alta Verapaz, Chimaltenango, Escuintla, Guatemala, Jalapa, Quezaltenango, Sacatepéquez y Santa Rosa (10,31).

e. Usos populares

La infusión o decocción de la planta se usa por vía oral para tratar afecciones gastrointestinales (cólico, diarrea, disentería, gastritis), respiratorias (asma, amigdalitis, bronquitis, catarro, carbundo, fiebre, otitis, parotiditis, tos, tuberculosis), y urinarias (cistitis, enuresis, litiasis, infección), caries, conjuntivitis, convulsiones, epilepsia, epistaxis, estomatitis, gonorrea, gota, hemoptisis, hemorroides, hepatitis, ictericia, litiasis renal, malaria y sífilis. Tópicamente la infusión se aplica en abscesos, contusiones, heridas, mordeduras, quemaduras, raspones, úlceras, hemorragias y tuneas; las hojas frescas en cataplasma y el jugo se aplican en lesiones herpéticas y conjuntivitis; las hojas y semillas en cataplasma, emplasto o compresa se aplican en induraciones, inflamaciones, verrugas, pólipos, cáncer y tumores, llagas y úlceras varicosas, en colutorio se usa como laxante,

diurético y expectorante. Se le atribuye propiedad antipirética, antiséptica, astringente, cicatrizante, depurativa, desinflamante, diaforética, diurética, emoliente, expectorante, hemostática, mucoprotectora, pectoral y vulneraria. Las semillas tienen propiedad laxante y emoliente (10,37).

f. Actividad farmacológica y toxicidad

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas inhibe *E. coli*, *S. typhi*, *S. aureus*, *S. flexneri*. La decocción de hojas tienen moderada actividad diurética en ratas, la cumarina de hojas tienen actividad antiulcerogénica en ratones e inhibe el edema inducido experimentalmente; los extractos acuosos y metanólicos de hojas tienen marcada actividad antiulcerogénica en la úlcera inducida por estrés de inmersión en ratas. Los extractos acuosos y etanólicos tienen poca toxicidad en peces del género *Mollinesia*. El plantaglucósido no es tóxico. Clasificada por el Food and Drug Administration (FDA), como una hierba de seguridad no definida (31).

IV. JUSTIFICACIÓN

Las infecciones vaginales representan un alto índice de consulta en la mayoría de las instituciones que presentan los servicios de salud en Guatemala. Estas infecciones son importantes por las molestias que pueden provocar a la paciente y por las complicaciones al diseminarse a otros órganos (útero o las trompas de Falopio), representan también un riesgo para el feto. Estas infecciones pueden ser causadas por bacterias, hongos, virus y parásitos, de los cuales pueden o no ser transmitidos sexualmente. Estas infecciones incluyen: la vaginosis bacteriana, asociada a *G. vaginalis* y la vaginitis que es provocada por diferentes especies de *Candida*. La vaginosis es una de las causas más común de infección vaginal en las consultas clínicas, así como de transmisión sexual. En edad reproductiva de la mujer se presenta con una frecuencia de hasta 40% en embarazadas, por lo que ha sido relacionada con riesgo de complicaciones durante la gestación y de parto pretérmino; y aumenta el riesgo de enfermedad inflamatoria pélvica. La vaginitis es la segunda infección en importancia, ya que en mujeres no embarazadas la incidencia de vaginitis por *Candida* spp. puede ir desde el 10 al 70%, pero esta incidencia puede aumentar al doble durante el embarazo.

En Guatemala, el uso de plantas medicinales para el tratamiento de infecciones vaginales es una práctica popular, que ha sido heredada de generación en generación, dando lugar a una mezcla actualmente de prácticas y costumbres que han logrado la aplicación de la fitoterapia en nuestro país. Se han realizado estudios para confirmar la actividad farmacológica de las plantas medicinales de uso común por la población, para el tratamiento de las infecciones vaginales. Sin embargo, es importante continuar con estudios que evalúen esta actividad de extractos preparados a partir de plantas que se utilizan para el tratamiento de infecciones vaginales y proporcionar así nuevas opciones terapéuticas al tratamiento que sean más accesibles.

V. OBJETIVOS

A. General

Determinar la actividad inhibitoria contra *G. vaginalis* y especies de *Candida* de extractos de plantas medicinales utilizadas para el tratamiento de infecciones vaginales.

B. Específicos

1. Evaluar la actividad contra *G. vaginalis* y seis especies de *Candida* de las seis plantas en estudio.
2. Determinar la concentración inhibitoria mínima de los extractos con actividad en la fase del tamizaje.

VI. HIPÓTESIS

Por lo menos una de las seis plantas utilizadas para el tratamiento de infecciones vaginales en estudio, inhibe el crecimiento de *G. vaginalis*, *C. albicans*, *C. krusei*, *C. stellatoidea*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

Plantas utilizadas popularmente para el tratamiento de infecciones vaginales

B. Muestra

Seis extractos metabólicos y diclorometanólicos de plantas medicinales de Guatemala, que no han sido estudiadas y son utilizadas con frecuencia para el tratamiento de infecciones vaginales por su fácil obtención:

1. *Buddleja americana* L. (Salvia santa)
2. *Salvia microphylla* HBK. (Mirto)
3. *Dioscorea alata* L. (Ñame)
4. *Tagetes lucida* Cav. (Pericón)
5. *Lippia graveolens* HBK. (Orégano)
6. *Plantago major* L. (Llantén)

C. Cepas

Cepa de *G. vaginalis* aislada e identificada, a partir de secreciones vaginales, proporcionada por el Laboratorio Clínico Popular LABOCLIP.

Cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. stellatoidea*, *C. parapsilosis*.

D. Recursos

1. Humanos

a. Tesista

Br. Wendy Marisol Barrascout López

b. Asesores

Licda. Isabel Cristina Gaitán Fernández

Lic. Armando Cáceres Estrada

2. Institucionales

- a. Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- b. Laboratorio de Productos Naturales Farmaya, S.A.
- c. Laboratorio de Productos Naturales (LIPRONAT), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC
- d. Laboratorio Clínico Popular (LABOCLIP), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC

3. Físicos

- a. Equipo
 - Asas bacteriológicas en argolla
 - Autoclave OMRON Miny Manual Timer STMW Y222
 - Balanza analítica Mettler AE 200 y Mettler PM 600
 - Campana de flujo laminar bacteriológica Labconco Purifies Class II Biosafety Cabinet
 - Desecadora
 - Equipo de Rotavapor BÜCHI Flawil 461 Brinkmann Precisión
 - Estufa
 - Incubadora Fisher Scientific Isotemp Incubador 37 °C
 - Percolador
 - Refrigeradora de 4-8°C ADMIRAL dualtemp y Fisher Scientific isotemp, de - 80°C
 - Vortex Thermolyne Maxi Mix II 27600
- b. Reactivos
 - Agar Base Columbia Marca Oxoid (CNA)
 - Agar Mueller Hinton
 - Agar Tripticasa Soya
 - Agua desmineralizada estéril
 - Caldo Tripticasa Soya
 - Diclorometano

- Dimetilsulfoxido (DMSO)
- Etanol 50 %
- Etanol 95 %
- Etanol al 70%
- Metronidazol (disco de 50 μ g)
- Sangre de carnero
- Solución salina 0.85%

E. Materiales

1. Algodón
2. Bata blanca de manga larga
3. Beakers de 250 y 1000 mL
4. Caja de petri descartables
5. Caja de petri cuadrilate
6. Cinta adhesiva
7. Cinta testigo
8. Erlenmeyer de 1000 mL
9. Espátula pequeña
10. Fósforos
11. Guantes de látex
12. Hisopos estériles
13. Jabón desinfectante
14. Marcador permanentes
15. Papel mayordomo
16. Papel aluminio
17. Papel filtro
18. Pipetas automáticas de 2-1000 μ L
19. Probetas de 25 mL y 100 mL
20. Tips amarillos de 10 a 200 μ L
21. Tijeras
22. Tubos de vidrio de fondo plano y con tapadera de rosca de 15 mL

23. Vaso de precipitar
24. Viales o frascos pequeños para almacenar el extracto
25. Varillas de vidrio

F. Procedimiento

1. Selección de las plantas en estudio

Se seleccionaron las plantas a estudiar con base en su utilización para el tratamiento de infecciones vaginales por medio de información recopilada por CEMAT-FARMAYA, y se incluyeron otras plantas que no tienen datos de su uso para estas infecciones.

2. Obtención de extracto vegetal por percolación

Se identificaron las plantas a estudiar, secaron, molieron, y se pesaron 400 g (corteza, rizoma, semilla), y 100 g si eran hojas.

3. Llenado del percolador

a. Se colocó en la punta del percolador un pedazo de algodón para que sirviera como filtro, se cortó un pedazo de papel filtro de forma circular para cubrir el fondo del percolador, y se tapó la punta del percolador con un tapón plástico.

b. Se pesaron 100 g de la materia a utilizar (hojas) o 400 g cuando se trataba de corteza, rizoma o semilla y se colocaron dentro del percolador.

c. Se humedeció el material vegetal con diclorometano o metanol adecuado para la extracción, utilizando un vaso de precipitar.

d. Se transfirió todo el material al percolador y se agregó diclorometano al 90% y metanol respectivamente hasta cubrir el material vegetal. Se observó que no se formaran burbujas y se dejó en reposo por 12 a 24 horas para que reaccionara.

e. Se retiró el tapón plástico y se dejó gotear hasta que saliera todo el disolvente. Se agregó todo el disolvente recuperado a la materia en extracción en el percolador. Después se pasó el disolvente recogido al balón del rotavapor y se llevo a cabo la concentración.

4. Concentración en Rotavapor

a. Todas las bocas esmeriladas se engrasaron y se armó el rotavapor según el instructivo específico. El balón colector se colocó y se fijó con la llave respectiva. Se revisó el nivel del agua del baño de calentamiento, y se llevó a una temperatura entre $40\pm 1^{\circ}\text{C}$, después se colocó el balón con la muestra (alcohol y percolado), se encendió la bomba de vacío y el rotavapor, iniciando la destilación del extracto hasta llevar a consistencia semisólida.

b. El extracto concentrado se vertió en una caja de Petri de vidrio debidamente tarada y rotulada. Se colocó en una desecadora durante 7 a 15 días, cuando el extracto tuvo consistencia sólida se pasaron a viales tarados y rotulados. Se calculó el rendimiento del extracto y se guardaron en viales o recipientes herméticos a 4°C .

5. Obtención de la cepa de *G. vaginalis*

La cepa se obtuvo de pacientes ambulatorios de la consulta externa en el LABOCLIP que presentaron síntomas de infección vaginal, se tomaron muestras de secreción vaginal, se sembraron en medios de agar sangre, Maconckey y chocolate, se observó su crecimiento, características de las colonias, y se realizaron pruebas de identificación.

6. Bioensayo para *G. vaginalis*

Para demostrar la actividad *in vitro* de los extractos diclorometánicos y etanólicos de las plantas contra *G. vaginalis* se procedió de la siguiente manera:

a. Preparación del extracto de las plantas

- Se pesaron 50 mg del extracto y se disolvió en 1 mL de dimetilsulfoxido (DMSO), para obtener una concentración final 10 mg/mL.
- Del extracto con DMSO se tomaron 600 μL y se agregaron a 2,400 μL de etanol al 50% en un frasco para obtener una concentración final de 1mg/mL.

b. Impregnación de taxos

- Se impregnaron los taxos de papel filtro con 50 μL del extracto (1 mg/mL) y dejaron secar.
- Se impregnaron cuatro discos por cada extracto, cuatro discos con la solución de metronidazol (50 μg) como control positivo y cuatro discos con etanol al 50%, como control negativo.

c. Preparación de agar CNA en bicapa

- Se pesaron 39 g de agar Columbia en 1000 mL de agua destilada, se calentaron hasta ebullición y que estuviera disuelto completamente.
- Se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 min.
- Se enfrió a 50°C y se agregó un 5% de sangre carnero.
- Se agregó el contenido rehidratado (con etanol al 95%) de suplemento selectivo *Gardnerella* SR0070E, Marca Oxoid (5 mL de suplemento en 500 mL de agar).
- Las cajas de Petri estériles se llenaron con una capa fina de agar sin sangre y cuando se solidificó se le agregó encima una capa de agar con sangre y suplemento. Se dejó solidificar y se incubó a 36°C durante 24 horas para comprobar su esterilidad, luego se refrigeró hasta su uso.

d. Preparación del inóculo

Se transfirieron colonias frescas y aisladas a un tubo de ensayo con solución salina estéril comparándolo con el estándar de McFarland 0.5 (44).

e. Inoculación de las placas

Se sumergió un hisopo de algodón estéril dentro de la suspensión (inóculo estandarizado) y se presionó fuertemente en el interior del tubo para remover el exceso de líquido, en la superficie de una placa de agar se estrió en tres direcciones, rotando la caja en un ángulo de 60° para obtener una distribución lisa, después de cada aplicación se dejó secar las cajas de 3 a 5 minutos, pero no más de 15 minutos, con la tapadera cerrada antes de colocar los discos (44).

f. Colocación de los discos

Una vez la placa estaba seca se colocaron los discos con pinzas estériles a una distancia de 30 mm uno del otro, se colocaron totalmente al azar seis discos en cada caja, y se incubaron a 36°C en presencia de CO₂ por 48 horas (44) (Anexo 2).

g. Medición de las zonas de inhibición

Se midió en milímetros el diámetro de los halos de inhibición con una regla por detrás de la caja de Petri, se consideraron inhibitorios aquellos extractos con halos mayores de 6 mm de diámetro.

7. Bioensayo para *Candida* spp.

a. Preparación de cajas con agar-extracto

Se preparó una solución de cada extracto con una concentración de 10 mg/mL, disolviendo 30 mg de extracto en 3 mL de etanol al 50%.

Se prepararon 13.5 mL de agar Sabouraud en tubo. Se esterilizó en autoclave, se dejó enfriar a 50°C. Se agregó a la caja de petri 1.5 mL del extracto preparado (1:10) y 13.5 mL de agar se mezcló y se dejó solidificar el medio. Se utilizó como control negativo 13.5 mL de agar Sabouraud con 1.5 mL de etanol al 50%. Se incubó a 36°C durante 24 horas para comprobar su esterilidad, después se guardó en refrigeración hasta el momento de su uso.

b. Preparación del inóculo

- Se sembró la cepa en una caja de agar Sabouraud y se incubó a 36°C por 48 horas.
- Se tomó un inóculo del cultivo fresco, se sembró en 5 mL de caldo Tripticasa Soya y se incubó durante 24 a 48 horas. Con una pipeta estéril se tomó 0.05 mL (50µL) y suspendieron en 4.95 mL de solución salina estéril (dilución 1:100).

c. Inoculación de la levadura en placa

- Se inoculó con asa la suspensión de levaduras en cada sección según la plantilla y se hicieron cuatro repeticiones por microorganismo (Anexo 1).
- Se incubaron a 36°C durante 48 horas.

8. Lectura e interpretación de los resultados

- a. Actividad negativa: crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
- b. Actividad positiva: no hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
- c. Contaminación: presencia de microorganismos fuera de la inoculación.

9. Concentración mínima inhibitoria (CIM)

A los extractos que presentan efecto inhibitorio (actividad positiva) en el bioensayo, se les determinó la CIM, a diferentes valores de concentración para evaluar el efecto inhibitorio que causa cada uno de los extractos sobre el crecimiento de especies de *Candida* y el valor de sus CIM, para ello:

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

- a. 3.6 mL de agar Mueller Hinton + 0.4 mL de solución del extracto = 1.0 mg/mL
- b. 3.8 mL de agar Mueller Hinton + 0.2 mL de solución del extracto = 0.5 mg/mL
- c. 3.9 mL de agar Mueller Hinton + 0.1 mL de solución del extracto = 0.25 mg/mL
- d. 4 mL de agar Mueller Hinton como control negativo

Se inocularon tres estrías de cada microorganismo con un asa bacteriológica en cada uno de los cuadrantes. Se incubaron a 36°C durante 24 a 48 horas. Se realizó la lectura y se interpretan los resultados de acuerdo a su actividad.

G. Diseño estadístico

1. Tipo de Estudio

Experimental. Diseño completamente al azar. La determinación y la detección de la concentración de extractos de las plantas que presentaron actividad contra las levaduras *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. stellatoidea*, *C. parapsilosis* y la bacteria *Gardnerella vaginalis*, se basó en la inhibición del crecimiento a partir de una concentración de 1 mg/mL, se realizaron cuatro réplicas por cada microorganismo analizado, para un nivel $\alpha = 0.10$. Se realizaron diluciones de 0.25 a 1.0 mg/mL.

2. Variables

- a. Variable dependiente. Actividad contra *G. vaginalis*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. stellatoidea*, *C. parapsilosis* de los extractos diclorometánicos y etanólicos de las plantas seleccionadas.
- b. Variable independiente. Plantas utilizadas para el tratamiento de infecciones vaginales en Guatemala.

H. Interpretación de resultados

1. Demostración del tamizaje para *Candida*
 - a. Actividad negativa: crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
 - b. Actividad positiva: ausencia de crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
 - c. Contaminación: presencia de microorganismos fuera de la inoculación

2. Demostración del tamizaje para *G. vaginalis*

- a. Actividad negativa: halo menor de 6 mm.
- b. Actividad positiva: halo mayor de 6 mm.

I. Validez del método

En el bioensayo para las especies de *Candida* se utilizó como control negativo 13.5 mL de agar Sabouraud con 1.5 mL de etanol al 50%, dando como resultado una actividad negativa ya que las especies de *Candida* estudiadas tuvieron un crecimiento homogéneo. En el bioensayo para *G. vaginalis* se utilizaron como control positivo cuatro discos impregnados con solución de metronidazol (50 µg) los cuales inhibieron el crecimiento de este microorganismo, como control negativo se utilizaron cuatro discos impregnados con etanol al 50% donde la bacteria no fue inhibida.

J. Análisis de datos

Los datos se tabularon y posteriormente fueron analizados, se realizó una prueba de hipótesis binomial donde:

Ho. $P \leq 0.50$ (el extracto no tiene efecto)

Ha. $P > 0.50$ (el extracto si tiene efecto)

Se esperaba que para rechazar Ho se obtuvieran los cuatro ensayos con actividad positiva para los extractos probados.

VIII. RESULTADOS

A. Selección de plantas

En la Tabla 1 se describe la familia, nombre científico, nombre común, número de herbario y parte utilizada de las plantas del estudio (*B. americana*, *S. microphylla*, *D. alata*, *T. lucida*, *L. graveolens* y *P. major*).

Tabla 1. Características de plantas en estudio

Familia	Nombre científico	Nombre común	*No. Herbario	Parte utilizada
Loganiaceae/Buddlejaceae	<i>Buddleja americana</i>	Salvia Santa	971	Hojas
Lamiaceae	<i>Salvia microphylla</i>	Mirto	983	Hojas
Dioscoreaceae	<i>Dioscorea alata</i>	Ñame	1117	Rizoma
Asteraceae/Compositae	<i>Tagetes lucida</i>	Pericón	982	Hojas y flores
Verbenaceae	<i>Lippia graveolens</i>	Orégano	994	Hojas
Plantaginaceae	<i>Plantago major</i>	Llantén	642	Hojas

Fuente: Banco de datos listado de extractos Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia Depto. de Citohistología USAC

* Número de herbario proporcionado por FARMAYA

B. Actividad contra especies de *Candida*

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos experimentalmente en el tamizaje contra las seis especies de *Candida*.

Se puede observar que los extractos que presentaron actividad contra *C. albicans* fueron el extracto diclorometánico y metanólico de hojas y flores de *T. lucida*, el extracto diclorometánico de hojas de *L. graveolens* y el extracto diclorometánico y metanólico de hojas de *P. major*.

Contra *C. krusei* los extractos en diclorometano y metanol de hojas de *P. major* también fueron inhibitorios del crecimiento.

Ninguno de los extractos diclorometánicos o metanólicos del estudio presentaron un efecto en el crecimiento de *C. parapsilosis*.

El extracto diclorometánico y metanólico de hojas de *B. americana* y el extracto metanólico de rizoma de *D. alata* presentaron inhibición contra *C. glabrata*.

Los extractos diclorometánico y metanólico de hoja de *S. microphylla* y rizoma de *D. alata* y el extracto metanólico de hojas y flores de *T. lucida* inhibieron el crecimiento de *C. stellatoidea*.

Contra *C. tropicalis* el extracto diclorometánico de hojas y flores de *T. lucida* y el extracto diclorometánico de hojas *L. graveolens* presentaron actividad inhibitoria.

Tabla 2. Tamizaje de la actividad de los extractos contra seis especies de *Candida* a una concentración de 1 mg/mL

Planta	Disolvente	Parte de la planta	A	B	C	D	E	F
<i>Buddleja americana</i>	Diclorometano	H	-	-	-	+	-	-
	Metanol	H	-	-	-	+	-	-
<i>Salvia microphylla</i>	Diclorometano	H	-	-	-	-	+	-
	Metanol	H	-	-	-	-	+	-
<i>Dioscorea alata</i>	Diclorometano	R	-	-	-	-	+	-
	Metanol	R	-	-	-	+	+	-
<i>Tagetes lucida</i>	Diclorometano	H, F	+	-	-	-	+	+
	Metanol	H, F	+	-	-	-	-	-
<i>Lippia graveolens</i>	Diclorometano	H	+	-	-	-	-	+
	Metanol	H	-	-	-	-	-	-
<i>Plantago major</i>	Diclorometano	H	+	+	-	-	-	-
	Metanol	H	+	+	-	-	-	-

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en el estudio

Microorganismos: A: *Candida albicans*, B: *Candida krusei*, C: *Candida parapsilosis*, D: *Candida glabrata*, E: *Candida stellatoidea*, F: *Candida tropicalis*

Parte de la planta: H: Hojas, R: Rizoma, F: Flores

(+) Actividad positiva: ausencia de crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo ($p < 0.10$)

(-) Actividad negativa: crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo

A los extractos que presentaron una actividad inhibitoria ($p < 0.10$) contra alguna de las especies de *Candida* se les determinó la concentración mínima inhibitoria. *Candida albicans* fue inhibido a una concentración de 1 mg/mL por los extracto diclorometánico de *L. graveolens* y los extractos diclorometánico y metanólico de *P. major*.

El extracto diclorometánico de *B. americana* presentó actividad contra *C. glabrata* a concentración de 0.5 mg/mL. Para *C. tropicalis* se demostró actividad a concentración de 0.25 mg/mL con el extracto diclorometanólico de *L. graveolens* (Tabla 3).

Tabla 3. Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos (mg/mL)

Planta	Disolvente	Parte de la planta	A	B	D	E	F
<i>Buddleja americana</i>	Diclorometano	H	-	-	0.5	-	-
	Metanol	H	-	-	-	-	-
<i>Salvia microphylla</i>	Diclorometano	H	-	-	-	-	-
	Metanol	H	-	-	-	-	-
<i>Dioscorea alata</i>	Diclorometano	R	-	-	-	-	-
	Metanol	R	-	-	-	-	-
<i>Tagetes lucida</i>	Diclorometano	H, F	-	-	-	-	-
	Metanol	H, F	-	-	-	-	-
<i>Lippia graveolens</i>	Diclorometano	H	1	-	-	-	0.25
	Metanol	H	-	-	-	-	-
<i>Plantago major</i>	Diclorometano	H	1	-	-	-	-
	Metanol	H	1	-	-	-	-

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente en el estudio

Microorganismos: A: *Candida albicans*, B: *Candida krusei*, C: *Candida parapsilosis*, D: *Candida glabrata*, E: *Candida stellatoidea*, F: *Candida tropicalis*

Parte de la planta: H: Hojas, R: Rizoma, F: Flores

(-) Actividad negativa

C. Actividad contra especies de *G. vaginalis*

Los resultados obtenidos experimentalmente en el tamizaje contra la *Gardnerella vaginalis* se muestra en la Tabla 4, los extractos de diclorometano y metanol de las plantas seleccionadas no presentaron actividad positiva ($p > 0.10$).

Tabla 4. Tamizaje de la actividad de los extractos contra *Gardnerella vaginalis*

Planta	Disolvente	Resultado
<i>Buddleja americana</i>	Diclorometano	-
	Metanol	-
<i>Salvia microphylla</i>	Diclorometano	-
	Metanol	-
<i>Dioscorea alata</i>	Diclorometano	-
	Metanol	-
<i>Tagetes lucida</i>	Diclorometano	-
	Metanol	-
<i>Lippia graveolens</i>	Diclorometano	-
	Metanol	-
<i>Plantago major</i>	Diclorometano	-
	Metanol	-

Fuente: Datos obtenidos experimentalmente

(-) Actividad negativa

IX. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó la actividad antimicrobiana de seis plantas nativas guatemaltecas, *Buddleja americana*, *Salvia microphylla*, *Dioscorea alata*, *Tagetes lucida*, *Lippia graveolens*, *Plantago major*; utilizadas por la población para el tratamiento de diversas infecciones incluyendo vaginitis y vaginosis (Tabla 1).

De estas plantas existen estudios previos que demuestran resultados de inhibición frente a microorganismos, como por ejemplo *S. microphylla* posee actividad contra *Cryptococcus neoformans*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* y *Trichophyton rubrum* (41). Otro estudio indica que las hojas de *L. graveolens* presentaron actividad antifúngica contra la fase miceliar y la levadura de *Sporothrix schenckii* (42). Debido a estos antecedentes se esperaba que los extractos de las plantas estudiadas presentaran actividad inhibitoria para distintas especies de *Candida* y de *G. vaginalis*.

Los ensayos se realizaron con cuatro repeticiones de cada uno para obtener 95% de confianza ($p=0.05$). Los microorganismos se enfrentaron con los extractos diclorometánicos y metanólicos a una concentración inicial de 1 mg/mL.

La Tabla 2, muestra los resultados del tamizaje preliminar; se encontró actividad inhibitoria para el género *Candida* en las especies de *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis*. Ningún extracto presentó efecto inhibitorio ($p > 0.10$) contra *C. parapsilosis*. Lo anterior demuestra que alguno de los compuestos fitoquímicos como taninos, alcaloides, flavonoides, glicósidos saponínicos, etc., que se encuentran en las plantas con actividad, actúan como inhibidores del crecimiento de las levaduras. Basados en la composición y datos de la literatura (44), podemos decir que algunos de los posibles mecanismos de acción son, la inhibición del ergosterol o de otros esteroides, lesionando la pared celular fúngica y alterando su permeabilidad, como consecuencia se produce la pérdida de elementos intracelulares esenciales. Otro posible mecanismo es la inhibición de la biosíntesis de triglicéridos y fosfolípidos o la inhibición de la actividad enzimática oxidativa y peroxidativa, lo que conlleva a la acumulación de concentraciones tóxicas de peróxido de hidrógeno, que contribuye al deterioro de los órganos subcelulares y necrosis

celular. Pero no se puede definir el mecanismo de los extractos activos ya que aún no se cuenta con el compuesto puro al que se le atribuya la actividad en forma precisa.

De las plantas seleccionadas solo tres plantas demostraron actividad, *L. graveolens* *B. americana* *P. major*, dando como resultado la inhibición del crecimiento de; *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*.

A los extractos que presentaron inhibición en la prueba de tamizaje se les determinó la CIM a concentraciones de 1mg/mL, 0.5 mg/mL y 0.25 mg/mL (Tabla 3). El extracto diclorometánico de hojas de *B. americana* mostró un efecto inhibitorio ($p < 0.10$) a una concentración de 0.5 mg/mL contra *C. glabrata*; se ha encontrado en estudios previos que el extracto etanólico de esta planta es activo contra *S. aureus* y que los preparados de hojas se usan para tratar leucorreas y que los extractos de diclorometano y etanol son activos contra *C. albicans* (31). Esta actividad se puede atribuir a los compuestos fitoquímicos presentes en las hojas como los taninos y flavonoides, los cuales tienen actividad antibacteriana y antifúngica.

Candida tropicalis fue inhibida ($p < 0.10$) a concentración de 0.25 mg/mL y *C. albicans* a 1 mg/mL por las hojas de *L. graveolens*. Este resultado confirma la revisión de literatura donde se indica que esta planta es activa contra estas dos levaduras.

Los extractos con diclorometano y metanol de hoja de *P. major* presentaron inhibición ($p < 0.10$) a concentración de 1 mg/mL contra *C. albicans*, estudios han demostrado que la administración oral de extracto acuoso de *P. major* muestra actividades antiinflamatorias y analgésicas (43), y también que la tintura de hojas inhibe el crecimiento bacteriano (31). En las hojas de esta planta se presentan varios compuestos de los cuales se le puede atribuir a uno de ellos la actividad antiviral, antifúngica y antibacteriana que posee, siendo estos los flavonoides que pudieron ser los compuestos que evitaron el crecimiento de esta levadura.

La cepa de *G. vaginalis* se obtuvo de secreción vaginal patológica, se cultivó en condiciones de temperatura y CO₂ adecuadas, se aisló e identificó. El ensayo se realizó en agar CNA bajo los mismos requerimientos ambientales, se utilizó como control de calidad

taxos impregnados con solución de metronidazol como control positivo y con etanol al 50% como control negativo.

El metronidazol tiene una acción bactericida, inhibiendo los microorganismos sensibles en la fase de crecimiento, actúa sobre las proteínas que transportan electrones en la cadena respiratoria de las bacterias anaerobias. Debido a su mecanismo de acción, bajo peso molecular y unión a las proteínas, es muy eficaz como antimicrobiano.

La metodología utilizada fue difusión de disco, el extracto se utilizó a una concentración de 1 mg/mL y se impregnaron los taxos con esta solución, fueron colocados en cajas de petri siguiendo las normas para la realización correcta (Anexo 2).

En el ensayo el control positivo y negativo presentaron el patrón de crecimiento esperado validándolo, los extractos diclorometánicos y metanólicos no presentaron un patrón de inhibición de la bacteria ($p > 0.10$), se esperaba que alguna de las plantas dieran un resultado significativo, ya que los fitocomplejos de cada una de las plantas tienen actividad bactericida y se han demostrado que pueden inhibir el crecimiento de algunas bacterias antes mencionadas. A pesar de que se utilizaron diferentes disolventes para la obtención de los extractos, ninguno logró inhibir el crecimiento de *G. vaginalis* posiblemente por que la concentración utilizada haya sido demasiado baja para esta bacteria.

Este estudio aportó datos interesantes confirmando la actividad contra levaduras de tres plantas que pueden ser utilizadas para el tratamiento de infecciones vaginales, pero es importante tomar en cuenta que solo una planta inhibió a concentraciones muy bajas y que las otras no; y solo pueden ser utilizadas para uso comunitario en preparaciones caceras.

X. CONCLUSIONES

1. El extracto de diclorometano de hojas de *L. graveolens* mostró un efecto inhibitorio ($p < 0.10$) a una concentración de 0.25 mg/mL contra *C. tropicalis*.
2. El extracto de diclorometano de hojas de *B. americana* mostró un efecto inhibitorio ($p < 0.10$) a una concentración de 0.5 mg/mL contra *C. glabrata*.
3. El extracto de diclorometano de hojas de *L. graveolens* y el extracto diclorometánico y metanólico de hojas de *P. major* mostraron un efecto inhibitorio ($p < 0.10$) a una concentración de 1 mg/mL contra *C. albicans*.
4. *Candida parapsilosis* no fue inhibida ($p > 0.10$) por ningún extracto de diclorometano y metanol de las plantas estudiadas.
5. *Candida krusei*, *C. stellatoidea* no presentaron crecimiento a concentraciones bajas, por lo que no dan un dato importante sobre su utilización para aliviar o curar las infecciones vaginales.
6. De las plantas seleccionadas solo tres plantas demostraron actividad, *L. graveolens*, *B. americana*, *P. major*, dando como resultado la inhibición de del crecimiento de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*.
7. *Gardnerella vaginalis* no fue inhibida ($p > 0.10$) por ningún extracto de diclorometano y metanol de las plantas estudiadas.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios fitoquímicos de las plantas que presentaron actividad para aislar, los metabolitos responsables de la actividad inhibitoria que posee cada extracto de las plantas estudiadas.
2. Realizar otros estudios con diferentes partes de las plantas para evaluar si presentan inhibición contra alguna especie de *Candida* y de *G. vaginalis*.
3. Difundir los resultados obtenidos en esta investigación para apoyar el uso popular de las plantas medicinales.

XII. REFERENCIAS

1. Torres M. Manual Práctico de Bacteriología Médica. Guatemala: Editorial Serviprensa C.A., 1996. 229p. (p. 157-160).
2. Cires P *et al.* Guía práctica para las infecciones vaginales. Revista Cubana Farmacia 2003;37(1):38-52.
3. Cutié M. *et al.* Vaginosis bacteriana en edades tempranas. Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología 1999;3:304-310.
4. Logemann H. Manual Práctico de Micología Médica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1995. 227p. (p.125).
5. Jonathan S. Ginecología de NOVAK. 13. ed. Estados Unidos de América: Editorial McGraw Hill, 2003. 830p. (p.372-375).
6. Girón L. Investigación de la inhibición de *Candida albicans* por preparaciones de plantas usadas en la medicina popular. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1983. 78p.
7. Girón L. *et al.* Anticandidal Activity of plants used for the treatment of vaginitis in Guatemala and Clinical trial of a *Solanum nigrescens* preparation. Journal of Ethnopharmacology 1988;22:307-313.
8. Montes A. Estudio de la actividad antibacteriana *in vitro* contra *Gardnerella vaginalis* de seis plantas de la flora guatemalteca: *Psidium guajava* L. (Guayaba), *Bixa orellana* L. (Achiote), *Persea americana* Mill (Aguacate), *Theobroma cacao* L. (Cacao), *Hymenaea courbairl* L. (Guapinol) y *Solanum nigrescens* Mart & Gal (Quilete), Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1993. 84p.
9. Navarrete P. *et al.* Evaluación de los criterios de Nugent y Amsel para el diagnóstico de vaginosis bacteriana. Revista Ginecología Médica de Chile 2000;128(7):767-771.
10. Samayoa C. Inhibición de *Gardnerella vaginalis* por extractos vegetales utilizados en el nororiente de Guatemala para el tratamiento de vaginitis. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2004. 52p.

11. Palacios M. Inhibición del crecimiento de *Gardnerella vaginalis* por seis plantas de uso medicinal de la flora suroccidental Guatemalteca. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2004. 44p.
12. Wesley B. *Gardnerella vaginalis*: Characteristics, clinical considerations, and controversies. *Clinical Microbiology Reviews* 1992;5(3):213-237.
13. Sánchez J. *et al.* Diagnóstico clínico, de laboratorio y tratamiento de la vaginosis por *Gardnerella vaginalis*, *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 2007;48:382-395.
14. Martínez J. *et al.* Ginecología y Atención Primaria Problemas clínicos. México: Editorial Grupo Aula Médica, S.A., 2001. 292p (p.193-210).
15. Marrazzo J. Persistent Enigmatic Ecological Mystery: Bacterial Vaginosis. *Journal of Infectious Diseases* 2006;193:1475-1477.
16. Leopold S. Heretofore undescribed organism isolated from the genitourinary system. *US. Armed Forces Medicine Journal*. 1953;4:263-266.
17. Hernández F. *Gardnerella vaginalis* y *Gardnerella mobiluncus* en la etiología de la vaginosis bacteriana, *Revista Costarricense de Ciencias Médicas* 1998;19:1-2.
18. Fosch S. *et al.* Vulvovaginitis: correlación con factores predisponentes, aspectos clínicos y estudios microbiológicos. *Revista Argentina de Microbiología* 2006;38:202-205.
19. Catlin B. *Gardnerella vaginalis*: Characteristics, Clinical Considerations, and Controversies. *Clinical Microbiology Reviews* 1992;5(3):213-237
20. Gini G. Manual de Procedimientos para la identificación de las bacterias con importancia clínica. 2 ed. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, 1995. 130p. (p 85-86).
21. Vaginosis bacteriana. Departamento de salud y servicios humanos. Centro para el control y la prevención de enfermedades. Fecha de consulta 12 de julio de 2008. Disponible en: <http://www.cdc.gov/std/Spanish/STDFact-Bacterial-Vaginosis-s.htm>.
22. Montes A. Estudio de la Actividad antibacteriana *in vitro* contra *Gardnerella vaginalis* de seis plantas de la flora guatemalteca. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1993. 79p.

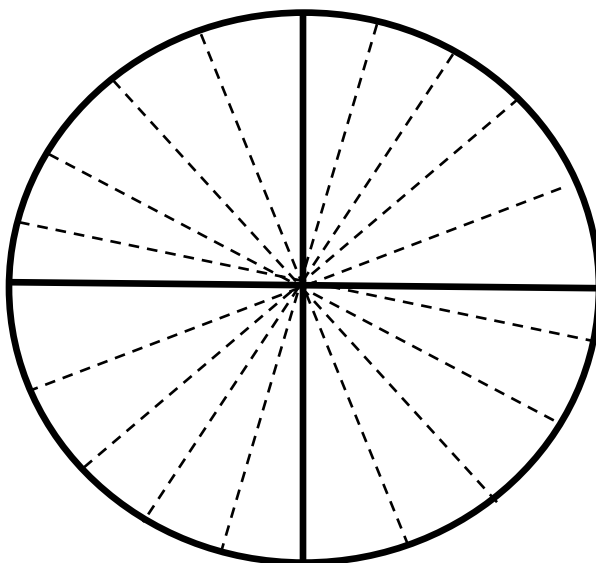
23. Navarrete P. *et al.* Evaluación de los criterios de Nugent y Amsel para el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Revista Médica de Chile* 2000;128(7):767-771.
24. Caballero R. *et al.* Vaginosis bacteriana. *Revista Médica Cubana* 2000;13(2):63-75.
25. Acevedo L, Arroyo G. Incidencia y etiología de vaginitis infecciosa en mujeres guatemaltecas. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia* 2009:1-4. (Artículo en impresión).
26. Holmes K. *et al.* Sexually Transmitted Diseases. United States of America: Editorial McGraw-Hill, 1984. 1079p. (p.525-534).
27. Hernández E. *et al.* Bacterial and Micotic Infections of the Lower Genital Tract in HIV Positive Female Patients. *Revista Científica de Medicina Tropical y Microbiología* 2003;31(2):104-111.
28. Ióvine E. *et al.* El laboratorio en la Clínica, Metodología Analítica, Fisiopatología e Interpretación Semiológica. 3 ed. Bogotá: Editorial Médica Panamericana, 1998. 831p. (p.341-344).
29. Forbes B. *et al.* Diagnostic Microbiology. 11 ed. Estados Unidos de América: Editorial Mosby, 2002. 1400p. (p.942-943).
30. Bermúdez A. *et al.* La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: Una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Revista de Ciencia y Tecnología de América* 2005;30(8):453-459.
31. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria. 1996. 402p. (p.287-289, 305-307,335-336).
32. Gibson D. Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 1970;24(8):278.
33. Standley P & Williams L. Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 1970;24(8):278-279.
34. Standley P & Williams L. Flora de Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 1970;24(9):291.
35. Standley P & Williams L. Flora de Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 1970;24(3):147-149.
36. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria. 1996. 402p. (p.305-307).
37. Nash D, Williams L. Flora de Guatemala. *Fieldiana: Botany*, 1979;24(9):382-384.
38. Linares E. *et al.* Selección de plantas medicinales de México. Noriega México: Editorial Limusa, 1988. 121p. (p.68-69).

39. Méndez A. Evaluación de la actividad ante *Candida albicans in vitro* de diez plantas de uso medicinal en Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1991. 52 p.
40. Standley P & Williams L. Flora de Guatemala. Fieldiana: Botany, 1970;24(4):211.
41. Lorenzana L. *et al.* Actividad biocida de seis plantas de uso medicinal en el municipio de Tacaná, San Marcos, Guatemala. Revista Científica, Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala 2005;3(1):8-13.
42. Gaitán I. Actividad de doce plantas nativas guatemaltecas contra *Sporothrix schenckii* Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2005. 59p.
43. Núñez M. *et al.* Analgesic and Antiinflammatory Activities of the Aqueous extract of *Plantago major* L. International Journal of Pharmacognosy 1997;35(2):99-104.
44. Hernández E. *et al.* Micotic Infections and treatment of the Lower Genital Tract in HIV Positive Female Patients. Revista Científica de Medicina Tropical y Microbiología 2003;31(2):104-111.

XIII. ANEXOS

Anexo 1

Plantilla para la realización de Tamizaje de actividad antilevadura

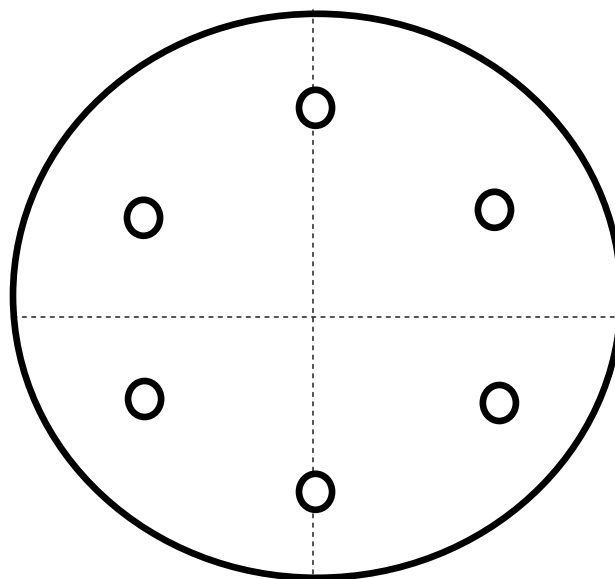


Nota: Cada línea punteada representa una repetición

Fuente: Manual de Operaciones. Tamizaje antilevadura. Laboratorio de Productos Naturales (LIPRONAT), de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Anexo 2

Plantilla para la realización de Tamizaje de actividad contra *Gardnerella vaginalis*



Nota: Cada círculo representa un taxo impregnado con extracto, distribuidos aleatoriamente en la placa

Fuente: Manual de Operaciones. Tamizaje contra *Gardnerella vaginalis*. Laboratorio de Productos Naturales (LIPRONAT), de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Wendy Marisol Barrascout López
Autora

Lic. Armando Cáceres
Asesor

Licda. Isabel Gaitán
Asesor

MSc. Martín Gil
Revisor

Licda. Rebeca Méndez
Revisora

MSc. Vivian Matta
Directora

Lic. Óscar Cobar Pinto, Ph.D.
Decano