



UNIVERSIDAD DE CUENCA

RESUMEN

En la presente investigación se trata de determinar la actividad vermífuga de las semillas de Cucúrbita *Aff. maxima*, para lo cual se realizó el tratamiento de la droga que consistió en: recolección del fruto, separación y selección de las semillas, secado, trituración y desengrasado de las mismas.

Posteriormente se procedió con el estudio fitoquímico de la misma a partir del extracto alcohólico, el mismo que luego se procedió a liofilizarlo, donde se obtuvo un extracto 99,9% puro y de este liofilizado se re disolvió en agua destilada con un volumen exactamente igual a su peso y a partir de este se preparó la solución madre al 15,38% y se procedió con diluciones al 1,5%, 3,07, 4,6, 6,15, 7,69 11,53, de igual manera se realizó un control positivo de piperazina, un control negativo con agua destilada y el blanco con suero fisiológico.

Una vez preparadas las diluciones se procedió a inocular a los modelos biológicos, analizando el comportamiento y los efectos que produjeron a las distintas diluciones.

La investigación se realizó en 9 grupos y cada uno constituido por 10 lombrices y por duplicado, para corroborar los datos.

Para verificar la toxicidad y la dosis letal media (DL50) de las semillas de *Cucúrbita Aff. maxima*, se utilizó el método de Artemia Salina.

De donde se pudo comprobar la efectividad vermífuga de las semillas fue con la dilución al 15,38 y 11,53 comparable con los controles positivos.

Palabras claves:

PARASITISMO, AGENTES ETIOLÓGICOS, FITOTERAPIA, INFESTACIONES GÁSTRICAS, ENTEROPARÁSITOS

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

OBJETIVOS

RESUMEN

INDICE GENERAL

INDICE DE FIGURAS

INDICE DE TABLAS

INTRODUCCION

CAPITULO I

1.1. DEFINICIONES GENERALES

1.1.1. PARASITISMO

1.1.2. ENTEROPARASITÓISIS

1.1.3. HELMINTOS

1.1.3.1. Clasificación

1.1.3.2. Nemátodos

1.1.3.3. Tremátodos

1.1.3.4. Céstodos

1.1.3.5. Estructura de los Agentes etiológicos

1.1.3.5.1. Agente etiológico: *Áscaris lumbricoides*

1.1.3.5.2. Agente etiológico: *Trichuris trichura*

1.1.3.5.3. Agente etiológico: *Uncinarias*

1.1.3.5.4. Agente etiológico: *Ancylostoma duodenale*

1.1.3.5.5. Agente etiológico: *Necator americanus*

1.1.3.5.6. Agente etiológico: *Strongyloides stercoralis*

1.1.3.5.7. Agente etiológico: *Enterobius vermicularis*

1.1.3.6. Síntomas asociados a helmintiasis

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala

Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- 1.1.3.7. Céstodos causales de infestaciones gástricas
 - 1.1.3.7.1. Taenia solium y saginata
 - 1.1.3.7.2. Diphylobothrium latum
 - 1.1.3.7.3. Hymenolepis nana
 - 1.1.3.7.4. Hymenolepis diminuta
 - 1.1.3.7.5. Dipylidium caninum
- 1.1.3.8. Tremátodos causales de infecciones gástricas
 - 1.1.3.8.1. Fasciolopsis buski
- 1.1.4. FÁRMACOS ANTIHELMÍNTICOS
 - 1.1.4.1. Bencimidazoles
 - 1.1.4.2. Tetrahidopirimidinas
 - 1.1.4.3. Compuesto tiazónicos
 - 1.1.4.4. Prazicuantel
 - 1.1.4.5. Piperazina
 - 1.1.4.5.1. Indicaciones terapéuticas
 - 1.1.4.5.2. Posología
- 1.1.5. FITOTERAPIA
 - 1.1.5.1. Fitoterápico
 - 1.1.5.2. Cucurbitáceas
- 1.1.6. GENERALIDADES DE LA PLANTA
 - 1.1.6.1. Descripción botánica
 - 1.1.6.2. Antecedentes
 - 1.1.6.3. Hábitat y distribución
 - 1.1.6.4. Usos medicinales
 - 1.1.6.5. Composición química
 - 1.1.6.6. Farmacobotánica y Farmacognosia
 - 1.1.6.7. Indicaciones terapéuticas.
 - 1.1.6.8. Tratamiento de la droga
 - 1.1.6.8.1. Recolección

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- 1.1.6.8.2. Secado
- 1.1.6.8.3. Trituración
- 1.1.6.8.4. Desengrasado
- 1.1.6.8.5. Almacenamiento
- 1.1.6.8.6. Cálculo de rendimiento
- 1.1.6.8.7. Estabilidad microbiológica
 - 1.1.6.8.7.1. Microorganismos mesófilos aerobios
 - 1.1.6.8.7.1.1. Recuento estándar en placa (R.E.P)
 - 1.1.6.8.7.1.2. Recuento estándar de mohos y levaduras
- 1.1.6.8.8. Determinación del contenido de humedad
 - 1.1.6.8.8.1. Método gravimétrico
- 1.1.6.8.9. Obtención de extracto
- 1.1.6.8.10. Extracto seco
- 1.1.6.8.11. Ensayo de toxicidad en artemia salina
- 1.1.6.8.12. Marcha Fitoquímica
 - 1.1.6.8.12.1. Determinación de metabolitos
 - 1.1.6.8.12.2. Reconocimientos de metabolitos
 - 1.1.6.8.12.3. Glúcidos o Hidratos de carbono
 - 1.1.6.8.12.4. Polisacáridos
 - 1.1.6.8.12.5. Lípidos
 - 1.1.6.8.12.6. Prótidos
 - 1.1.6.8.12.6.1. Determinación de aminoácidos (aa)
 - 1.1.6.8.12.7. Flavonoides
 - 1.1.6.8.12.8. Compuestos fenólicos
 - 1.1.6.8.12.9. Taninos
 - 1.1.6.8.12.10. Isoprenoides

1.1.7. DESCRIPCIÓN DEL MODELO BIOLÓGICO

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

CAPITULO II

METODOLOGIA

2.1. MÉTODO

2.2. MATERIALES Y EQUIPOS

2.3. MUESTREO DEL MATERIAL VEGETAL

2.3.1. Requisitos macromorfológicos

2.4. TRATAMIENTO DE LA DROGA...

2.4.1. Secado

2.4.1.1. Método natural

2.4.1.1.1. Deseccación al aire libre

2.4.2. Trituración

2.4.3. Desengrasado

2.4.4. Análisis microbiológico

2.4.4.1. Recuento estándar en placa

2.4.4.2. Recuento de mohos y levaduras

2.4.5. Obtención de extractos

2.4.5.1. Percolación

2.4.5.2. Liofilización

2.4.6. Ensayo de toxicidad en Artemia salina

2.4.7. Marcha fitoquímica

2.4.7.1. Procedimientos de las reacciones realizadas de la marcha fitoquímica

2.4.8. Muestreo del modelo de experimentación

2.5. MANEJO ESTADISTICO DE LOS DATOS

CAPITULO III

3.1. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSION

3.1.1. Interpretación de datos obtenidos

3.2. ANÁLISIS CUANTITATIVO

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.3. ANALISIS DE REGRESION LINEAL

3.4. ANALISIS CUALTITATIVO

3.4.1. Dilución al 6,15

3.4.2. Control negativo: parálisis y muerte con agua destilada

3.4.3. Análisis de comportamiento de modelos biológicos en función del

Tiempo de exposición

3.5. DISCUSION

.

CAPITULO IV

4.1. CONCLUSIONES

4.2. RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFIA

Anexos

Glosario

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala

Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Clasificación de helmintos

Figura 2: *Áscaris lumbricoides*

Figura 3: *Fasciola hepática*

Figura 4: *Taenia solium*

Figura 5: Hojas de *Cucúrbita Aff. maxima*

Figura 6: Flor de *Cucúrbita Aff. Máxima*

Figura 7: Fruto de *Cucúrbita Aff. Máxima*

Figura 8: Semillas de *Cucúrbita Aff. Máxima*

Figura 9: Recuento estándar en placa

Figura 10: Recuento de mohos y levaduras

Figura 11: Tiempo de parálisis en diferentes diluciones

Figura 12: Tiempo de muerte en diferentes diluciones

Figura 13: Tiempo de parálisis con control positivo

Figura 14: Comparación de parálisis de las diluciones al 11,53 y 15,38% en Hexahidrato de Piperazina y blanco

Figura 15: Comparación de parálisis de las diluciones al 11,53 y 15,38% en Citrato de piperazina y blanco

Figura 16: Comparación de muerte de las diluciones al 11,53 y 15,38% en Hexahidrato de Piperazina y blanco

Figura 17: Comparación de muerte de las diluciones al 11,53 y 15,38% en Citrato de piperazina y blanco

Figura 18: Regresión lineal de artemia salina

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Síntomas, manifestaciones clínicas y patologías de Helmintiasis

Tabla 2: Diferencias morfológicas entre *Taenia solium* y *Taenia saginata*

Tabla 3: Siglas de denominación de compuestos químicos

Tabla 4: Escala utilizada en el estudio fitoquímico de la droga

Tabla 5: Procedimientos para determinar compuestos químicos presentes en la droga.

Tabla 6: Ensayos organolépticos

Tabla 7: Ensayos botánicos

Tabla 8: Ensayos farmacodinámicos y biológicos

Tabla 9: Ensayos de control de pureza

Tabla 10: Ensayos Físicos químicos

Tabla 11: Resultados de marcha Fitoquímica

Tabla 12: Tiempo de parálisis en diferentes diluciones

Tabla 13: Tiempo de muerte en diferente diluciones

Tabla 14: Comparación de parálisis de las diluciones al 11,53 y 15,38% en Hexahidrato de Piperazina y blanco

Tabla 15: Comparación de parálisis de las diluciones al 11,53 y 15,38% en Citrato de Piperazina y blanco

Tabla 16: Comparación de muerte de las diluciones al 11,53 y 15,38% en Hexahidrato de Piperazina y blanco

Tabla 17: Comparación de muerte de las diluciones al 11,53 y 15,38% en Citrato de Piperazina y blanco

Tabla 18: Resultados obtenidos de artemias

Tabla 19: Nomenclatura de denominación

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 20: Observación de contorsiones de los modelos biológicos

Tabla 21: Observación de parálisis de los modelos biológicos

Tabla 22: Observación de muerte de los modelos biológicos

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

DETERMINACIÓN DEL EFECTO VERMÍFUGO DE SEMILLAS
TRATADAS DE *Cucúrbita Aff. maxima*

TESIS PREVIA A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICA FARMACEUTICA

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala

Andrea Paola Vásquez Álvarez

DIRECTOR:

Dr. Fausto Zaruma Torres

ASESORA:

Dra. Adelina Astudillo Machuca Mst.

CUENCA – ECUADOR

2011

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala

Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

DEDICATORIA

El fruto de este trabajo y esfuerzo se lo dedico en primer lugar a Dios que me ha permitido y me ha dado todos los medios necesarios para alcanzar esta nueva meta.

A mis padres José Ávila y Rosa Ayala quienes han sido un pilar fundamental y apoyo incondicional en mi proceso de formación, y a mis hermanos Mayra y José que de una u otra manera han influido positivamente en la culminación exitosa del mismo.

A toda mi familia de manera especial a mi abuelita Manuela Baculima, a Cecilia Ayala por su apoyo incondicional y desinteresado en mi formación universitaria, a Manuel Ávila y Lucila Cortez que son como mis segundos padres.

A mis amigas en especial a Gabriela Piedra y Jennifer Chacón, que estuvieron a mi lado en los buenos momentos, así como en los momentos más duros de mi vida.

Marcia Ávila A.

Quiero dedicar este trabajo a mi Poder Superior y a mi familia que me han apoyado para cumplir con esta meta más en mi vida.

Paola Vásquez A.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

AGRADECIMIENTO

Al culminar el siguiente trabajo de tesis, queremos agradecer en primer lugar a Dios, que en todo momento nos ha sabido guiar, siendo la luz de nuestro camino y de nuestro conocimiento.

Al Doctor Fausto Zaruma, Docente de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, quien nos guió, siendo nuestro director de tesis en el desarrollo de esta tesis, brindándonos toda su colaboración y conocimiento en relación al tema desarrollado.

De igual manera a la Doctora Adelina Astudillo, nuestra asesora de tesis quien nos prestó su colaboración para culminar el mismo.

Queremos también expresar nuestra gratitud al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, y de manera especial a la Dra. Denisse Peña y su equipo, que nos brindaron su colaboración en el desarrollo del presente trabajo de tesis.

Y expresar nuestro agradecimiento a todos aquellos que han hecho posible, que este trabajo concluya exitosamente, y que de una u otra forma han aportado a nuestra formación.

LAS AUTORAS

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

OBJETIVOS

GENERAL:

- Determinar la actividad vermífuga, presente en el extracto alcohólico re disuelto en agua de las semillas de *Cucúrbita Aff. maxima*.

ESPECIFICOS:

- Determinar los grupos metabólicos generales, mediante marcha fitoquímica.
- Evaluar la seguridad de la droga a partir del extracto, mediante en ensayo de toxicidad con *Artemia salina*
- Detectar la concentración que produzca el efecto vermífugo de la solución acuosa a partir del extracto alcohólico en el modelo biológico de *Eisenia foetida* (lombriz roja californiana).
- Evaluar el potencial vermífugo in vitro frente al patrón de referencia.

HIPOTESIS

Las soluciones del extracto alcohólico re disuelto en agua de ***Cucúrbita Aff. maxima***, presentan efecto antihelmíntico comparable con el patrón de referencia, piperazina.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

INTRODUCCIÓN

El hombre desde sus inicios en un proceso de relación e integración con el entorno, buscó siempre en la naturaleza, la manera de encontrar la cura a las enfermedades que le aquejaron; de forma empírica en su afán de encontrar la sanación de sus dolencias, fue descubriendo el efecto del buen uso de las plantas y con el paso del tiempo investigando y extrayendo sus propiedades.

Hoy en día, en pleno siglo XXI, con el desarrollo de una conciencia ambiental surge una nueva tendencia de la medicina moderna cuya directriz fundamental es volver a la medicina natural y ancestral, una medicina basada en el manejo de plantas medicinales y energías alternativas.

Es necesario meditar también, en torno a las condiciones económicas de la mayoría de la población, que pese a la gratuidad de servicios de salud consagrada en la Constitución, recibe servicios de calidad y cobertura no muy apropiadas y medicinas genéricas que no siempre son la mejor ni más efectiva alternativa para tratar dolencias; en tanto que, en el mercado farmacéutico es una constante el costo excesivo de las medicinas y cada vez menor participación del sector público en respuesta a las necesidades de regulación de costos de medicamentos; lo cual devuelve actualidad y vigencia al uso de las plantas medicinales, como la más económica y accesible opción para un importante grupo de la población.

Sin lugar a dudas, el primer tratamiento que se utiliza antes de recurrir a la medicina moderna es el uso de infusiones, emplastos, o ingestión de plantas medicinales de manera empírica; según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las parasitosis son problema de salud a nivel mundial, que afecta en nuestro país al 80% de la población rural y el 40% en la población urbana, con alta incidencia en los niños; una de las grandes causas para esta problemática, como tantas otras que inciden en la salud pública, es la desnutrición y la insalubridad que asociadas a la pobreza.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Como enseñó Einstein: ***“...Todo trabajo es una invitación a la duda y toda duda es la célula de un nuevo conocimiento...”***

CAPITULO I

1.1. DEFINICIONES GENERALES

1.1.1. PARASITISMO

El parasitismo es una asociación del tipo simbiótico, que se establece entre dos organismos heteroespecíficos: parásito y hospedero. El parásito puede vivir una parte o la totalidad de su ciclo vital a expensas del hospedero, siendo utilizado como biotipo temporal o permanente, dejándole además la función de regular una parte de sus relaciones con el medio ambiente, e incluso su propio desarrollo.

Además el parasito depende del hospedero para otras funciones como fuente alimenticia para lo que utiliza sus tejidos o bien de los productos de metabolismo del mismo.¹

1.1.2. ENTEROPARASITÓISIS

Son un conjunto de padecimientos, causados principalmente por protozoarios y helmintos. Estos permiten analizar los diversos indicadores: ya sean del estado sanitario ambiental, así como también de las características sociales, económicas y culturales de la población.²

1.1.3. HELMINTOS

El término helminto viene del griego *helmint*, que significa gusano o verme. Estos son de cuerpos redondos, planos y blandos, pluricelulares e invertebrados, sin apéndices articulados que carecen de aparato circulatorio, órganos de respiración.

Se caracterizaran por ciclos de vida cortos y sencillos; en otros casos son de ciclos largos, por lo general en anaerobiosis. Necesitan para su reproducción de huéspedes

¹ GALLEGO Berenger Jaime, Manual de Parasitología, Morfología y Biología de los parásitos de interés sanitario, Ediciones de la Universidad de Barcelona, 2006, Pág. 33.

² es.scribd.com/doc/3448914/parasitosis.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



directos o intermediarios; además son agentes de morbimortalidad en ciertas poblaciones del mundo.³

1.1.3.1. Clasificación

Los helmintos se clasifican en tres grupos que son:

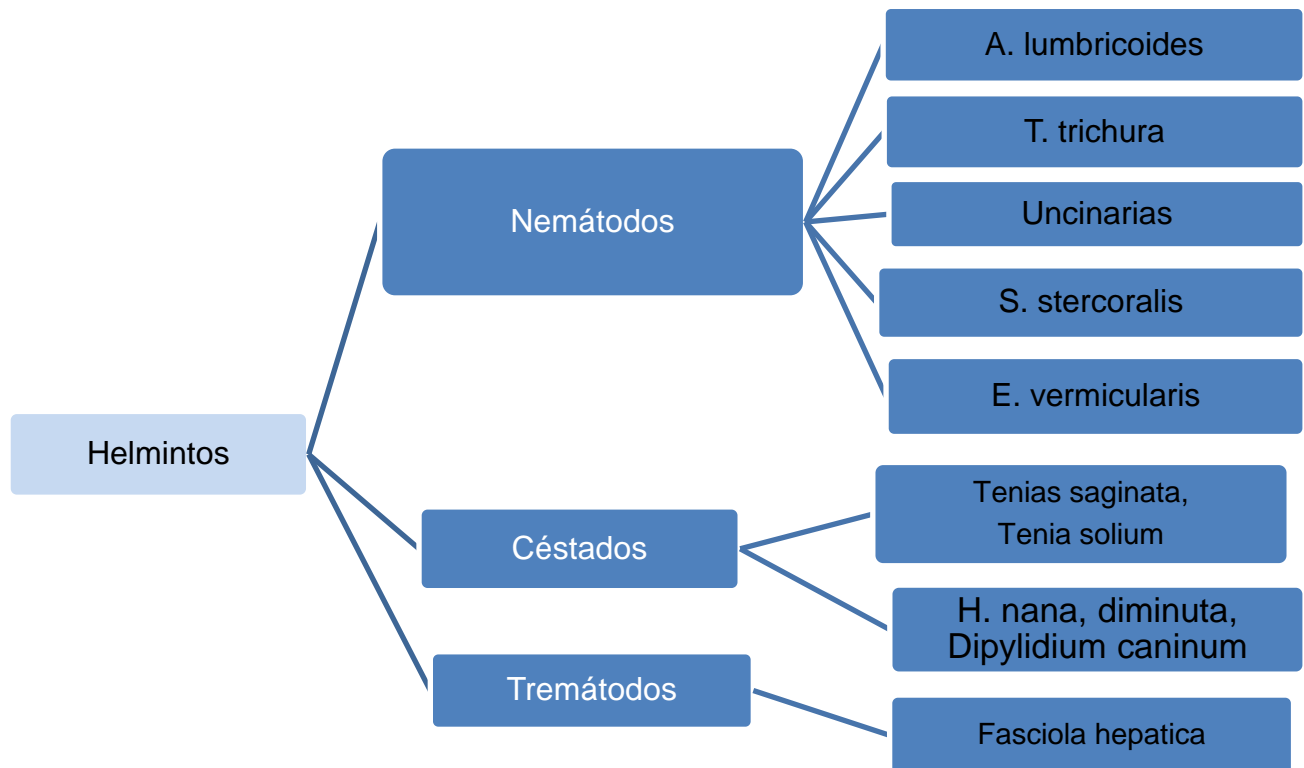


Figura 1: Clasificación de helmintos

1.1.3.2. Nemátodos

Son gusanos libres o parásitos carentes de segmentación, normalmente de forma cilíndrica y alargada con simetría bilateral, las hembras de algunas especies desarrollan dilataciones corporales más o menos globulosas. El tamaño de los nemátodos varía de pocos milímetros hasta varios centímetros de longitud. Con unas pocas excepciones,

³ MONTOYA, Villafañe Hugo Humberto, Microbiología básica para el área de la salud y afines, Editorial Universidad de Antioquia , Segunda edición, 2008, Pág. 195.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

son de sexos separados y su ciclo de vida puede ser directo o incluir un hospedador intermediario.⁴



Figura 2: *Áscaris lumbricoides*

1.1.3.3. Tremátodos

Constituyen un grupo heterogéneo de gusanos que se caracterizan por poseer un solo cuerpo no segmentado, pueden ser alargados u ovalados de diversos tamaños.

La mayoría son hermafroditas, son aplanados en sentido dorso ventral, presentan simetría bilateral, tienen un órgano de fijación que es una ventosa y poseen un solo poro excretor.

Los tremátodos de importancia médica se ubican en los géneros *Fasciola*, *Echinostoma* y *Schistosoma*, estos presentan ciclos de vida complejos, que incluyen habitualmente uno o dos hospederos hasta el hospedero definitivo.

El patrón básico del ciclo biológico de los tremátodos lo integran los componentes: huevo, miracidio, esporoquiste, redia, cercaría, metacercaria adulto, con variaciones que se puede identificar en los respectivos ciclos de vida.⁵

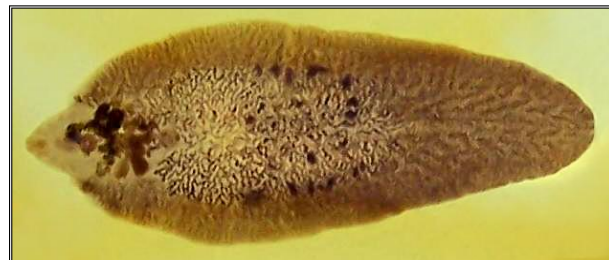


Figura 3: *Fasciola hepática*

⁴ BOTERO David, RESTREPO Marcos, Parasitosis Humanas, Editorial Corporación para Investigaciones biológicas, Cuarta Edición, Medellín, Colombia, 2005, Pág. 93

⁵ <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/tremátodos/generalidades.php>

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.3.4. Céstodos

Son parásitos de cuerpo plano con aspecto de cinta, están compuestos por un órgano de fijación llamado escólex, el cuerpo está formado por segmentos individuales llamados proglótide que conforma el estróbilo.

Todos los céstodos son hermafroditas, poseen órganos reproductores tanto masculinos como femeninos en cada proglótide madura. Están desprovistos de tubo digestivo por lo tanto se alimentan por osmosis de los nutrientes existentes en el intestino del huésped.⁶



Figura 4: *Taenia solium*

1.1.3.5. Estructura de los Agentes etiológicos

Los nemátodos presentan en su estructura interna las siguientes capas:

- **Cutícula:** Es gruesa y está estratificada, puede ser una capa exterior lisa o puede tener estrías longitudinales y circulares que pueden ser modificadas para formar parte de una variedad de estructuras, es parcialmente translúcida y está compuesta fundamentalmente de quitina, lo que le permite colonizar ambientes hostiles, es relativamente impermeable y permite el paso de agua y ciertos iones solubles en agua. Las capas de la cutícula están arregladas de manera tal que permitan mantener un diámetro corporal constante, al mismo tiempo que permiten al nemátodo estirarse longitudinalmente.

⁶ MURRAY Patrick, ROSENTHAL Ken, PFALLER Michael, Microbiología Médica, Publicaciones ELSERVIER MOSBY, Quinta Edición, Madrid España, 2006 Pág. 907.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Esta cutícula se conoce como "esqueleto hidrostático de los nemátodos", debido a que las cavidades corporales de los mismos contienen fluidos que funcionan bajo presión. La cutícula aparentemente ayuda a mantener el cuerpo en un diámetro constante resistiendo la presión interna, ayudando a mantener la forma y estructura de los nemátodos y al mismo tiempo provee de un ancla para los músculos.

Una variedad de compuestos orgánicos han sido identificados en las cutículas de muchos nemátodos. Estos incluyen aminoácidos, proteínas, carbohidratos, lípidos, ARN, ácido ascórbico, ATP y hemoglobina. Su presencia y variedad sugiere que la cutícula no es inerte, al contrario la misma está activa metabólicamente la mayor parte del tiempo, también se reconoce que la cutícula es antigénica y posee un papel importante en iniciar una respuesta inmunológica en hospedadores infectados.^{7, 8}

- **Epidermis:** Es una capa monoestratificada, puede ser celular o sincitial, presenta 4 entrantes hacia el pseudoceloma que reciben el nombre de cordones epidérmicos; éstos recorren longitudinalmente el cuerpo del animal uno por la línea medio dorsal, otro por la línea medio ventral y otros 2 medio laterales. En los cordones están los núcleos de las células epidérmicas. En el cordón epidérmico dorsal y ventral se localizan los cordones nerviosos longitudinales. Y en los cordones epidérmicos laterales se localizan los conductos excretorios.
- **Musculatura:** Las células están ordenadas longitudinalmente, esto hace que el movimiento de estos animales esté reducido al serpenteo, las mismas están estrechamente asociadas con la dermis y también se conectan a la cutícula mediante fibras que pasan por la parte contráctil de cada célula muscular. Cada célula muscular tiene una parte contráctil con fibras musculares y una parte no contráctil o cuerpo celular que contiene al núcleo, mitocondrias y otros orgánulos

⁷ <http://www.ucm.es/info/tropico/docencia/Textos/C3Tremátodos.pdf>.

⁸ http://cal.vet.upenn.edu/projects/merialsp/nems_msp/nm_3asp.htm.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

además de glucógeno y almacenes de lípidos. Las células musculares en los nemátodos son poco comunes debido a que no son invadidas por fibras nerviosas, en vez de ello presentan prominencias de los cuerpos de las células musculares que se encadenan a las mismas y a los troncos nerviosos.^{7,8}

Además de las capas que poseen los nemátodos se presentan otras estructuras como:

- **Tubo Digestivo:** Es sencillo, consiste en un tubo simple en donde la mayoría de variaciones ocurren en el tamaño de la apertura a nivel de la cavidad bucal, esófago e intestino.

El sistema digestivo se inicia con la cavidad bucal. Los nemátodos que presentan una gran apertura bucal son los que se alimentan mordiendo la mucosa, mientras que aquellos que se alimentan por ingestión de fluidos presentan la cavidad bucal más pequeña, la misma que desemboca en el esófago que es una estructura muscular también llamada hexófago, la misma que ayuda a la deglución debido a que es muscular y es utilizada para bombear el alimento hacia el interior del intestino.

Continúa con el intestino que es un tubo vertical casi circular al observar su sección transversal, y una pared del mismo consiste en una sola capa de células columnares. Las superficies libres de estas células contienen múltiples células cilíndricas que son utilizadas en la absorción. Debido al gran número de estas proveen una inmensa capacidad de absorción, el intestino es muy largo y se extiende por todo el cuerpo del animal hasta el extremo posterior del cuerpo para desembocar en el ano en el caso de las hembras y en los machos en el recto.

⁷ MORENO G. Ana. Apuntes de Zoología. Pág. 1,2. Disponible en: <http://www.ucm.es/info/tropico/docencia/Textos/C3Trematodos.pdf>.

⁸ http://cal.vet.upenn.edu/projects/merialsp/nems_msp/nm_3asp.htm

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- **Intercambio Gaseoso:** No tienen sistema respiratorio. El intercambio gaseoso se verifica a través de la pared del cuerpo. Los parásitos habitan en zonas pobres de oxígeno por lo que recurren a rutas metabólicas anaeróbicas para obtener energía.^{9,7,8}
- **Sistema Nervioso:** Está formado por el cerebro y los cordones nerviosos longitudinales. El cerebro tiene forma de anillo nervioso perifaríngeo, y lleva seis ganglios nerviosos unidos por anillos.

1.1.3.5.1. Agente etiológico: *Áscaris lumbricoides*

Conocida también como lombriz intestinal, es de forma cilíndrica con extremos aguzados. La hembra mide de 20 a 35 cm de largo y de 3 a 6mm de ancho y el macho mide de 12 a 31 cm de largo y de 2 a 4 mm de ancho.

Tienen un tiempo de vida de aproximadamente un año. Al cabo de este tiempo mueren y son eliminados espontáneamente. Son de color rosado o blanco amarillento, los sexos pueden diferenciarse macroscópicamente por la forma del extremo posterior, en el caso de la hembra es recta esta puede llegar a producir 200000 huevos diarios y el macho en forma curva con 2 espículas quitinosas y retractiles que sirven para la copulación.

El aparato digestivo está constituido por la boca ubicada en el extremo anterior constituido por 3 labios prominentes, por un corto esófago y por el intestino el cual se observa aplanado y de color verdoso que desemboca en el ano.

La mayor parte de la cavidad interior está constituida por el aparato genital que se observa como ovillos de conductos de diferente diámetro.

Los parásitos adultos no tienen órganos de fijación por lo que viven en la luz del intestino delgado sometidos por las paredes, el cual logran estar adheridos a esta por

⁷ <http://www.ucm.es/info/tropico/docencia/Textos/C3Trematodos.pdf>.

⁸ http://cal.vet.upenn.edu/projects/merialsp/nems_msp/nm_3asp.htm

⁹ ZAMAN, Viqar, Atlas de Parasitología médica, Editorial Medicina Panamericana, 1979, Pág. 123.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

su capa muscular existente debajo de la cutícula, evitando ser arrastrados por el peristaltismo intestinal.

Los huevos fértiles tienen forma oval o redondeada, miden alrededor de 60 micras de diámetro mayor y poseen 3 membranas: una externa mamelonada y 2 internas lisas, estos maduran a larva dentro de 4 a 6 semanas y a forma adulta después de 2 meses. Madurado el parásito comienza su ciclo infeccioso.⁷

1.1.3.5.2. Agente etiológico: *Trichuris trichura*

Son gusanos blancos que pueden llegar a medir entre 3 a 5 cm de largo. Se caracterizan porque su ingreso es por la piel o por ser ingeridos. La parte anterior es delgada y ocupa dos terceras partes del parásito. El tercio posterior es más grueso y en conjunto simula un látigo.

Los huevos son muy característicos y fáciles de identificar, estos miden aproximadamente 25 micras de ancho por 50 de largo, son de color café con doble membrana y tapones en los extremos.⁴

1.1.3.5.3. Agente etiológico: *Uncinarias*

Son parásitos también conocidos como anquilostomas. Éstos producen la denominada anemia tropical. Pertenecen a la familia Ancylostomidae, el hombre es afectado las dos especies principales son: *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*.⁴

1.1.3.5.4. Agente etiológico: *Ancylostoma duodenale*

Son más gruesos y un poco más largos de color blanco; el macho mide aproximadamente de 7 a 10mm de diámetro, mientras que la hembra de 9 a 15mm y éstas últimas son más gruesas. El extremo anterior de estos parásitos generalmente es recto.

⁷ <http://www.ucm.es/info/tropico/docencia/Textos/C3Trematodos.pdf>.

⁸ http://cal.vet.upenn.edu/projects/merialsp/nems_msp/nm_3asp.htm

⁴ BOTERO David, RESTREPO Marcos, Parasitosis Humanas, Editorial Corporación para Investigaciones biológicas, Cuarta Edición, Medellín, Colombia, 2005, Pág. 93

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



1.1.3.5.5. Agente etiológico: *Necator americanus*

Éstos son más delgado y de menor tamaño que el *A. duodenale*. La hembra mide de 9 a 11mm, mientras que el macho de 5 a 9mm.

Tanto *A. duodenale* y *N. americanus*, se caracterizan por tener una morfología similar de sus huevos y en el tamaño que va de 40 a 60 micras de membrana lisa y uniforme.⁴

1.1.3.5.6. Agente etiológico: *Strongyloides stercoralis*

Son gusanos transparentes que pueden llegar a medir entre 1 y 3 cm. Se caracterizan porque su ingreso es por la piel o ingeridos, se sitúan en los túneles de la submucosa intestinal, no se ha evidenciado la presencia de machos, la hembra es parteenogénica, es decir que ella misma se autofecunda.⁴

Las larvas se forman en la tierra y son de 2 tipos con morfología diferente:

Larva rhabditiforme: Es la primera en salir del huevo mide 250 micras de largo por 20 micras de diámetro, es poco móvil se divide en tres partes que son cavidad bucal larga, esófago con divisiones y ano.

Larva filariforme: Una vez madura la larva rhabditiforme, su tamaño es de 500micras de largo por 25 de diámetro, es de igual morfología al anterior con la diferencia por poseer una membrana envolvente el esófago, ya no presenta divisiones y el extremo posterior tiene forma puntiaguda.

1.1.3.5.7. Agente etiológico: *Enterobius vermicularis*

Es un gusano blanquecino y delgado, tiene características especiales debido a que la hembra sale del ano del paciente a depositar los huevos en la región perianal y después de copular los machos son eliminados. Pueden medir alrededor de 0.5 a 1 cm de longitud por 0.4 y 0.6 mm de diámetro. Los huevos son traslucidos con una cara plana y otra convexa, de 50 a 60 micras de largo y 30 micras de diámetro.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

El sistema digestivo está constituido por una boca, esófago y el resto del tubo digestivo. En la hembra éste es recto y en el macho enroscado, su estructura interna está formada por un aparato genital muy desarrollado.⁴

⁴ BOTERO David, RESTREPO Marcos, Parasitosis Humanas, Editorial Corporación para Investigaciones biológicas, Cuarta Edición, Medellín, Colombia, 2005, Pág. 93

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



1.1.3.6. Síntomas asociados a helmintiasis

Helmintos			
Nemátodos			
	Agente causal	Manifestaciones clínicas	Patología
Ascariasis	<i>Áscaris lumbricoides</i>	<p>Pueden ser asintomáticas, pero también pueden presentar infecciones en cualquier momento como:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dolor y distensión abdominal • Pérdida de peso • Diarrea y vomito • Obstrucción hepática e intestinal • Fiebre • Hipersensibilidad • Anemia y eosinofilia 	<p>Depende donde se encuentre presente el parásito para causar diferente sintomatología. Cuando estos irrumpen el sistema respiratorio producen ruptura de capilares y alveolos, produciendo irritación de la mucosa respiratoria.</p> <p>A nivel intestinal el problema radica cuando hay gran cantidad de estos parásitos pudiendo producir apelonamiento de los mismos produciendo obstrucción intestinal</p> <p>La patología se agrava cuando estos migran a diferentes partes del organismo en algunos casos se puede ver obstrucción a nivel de vesícula biliar produciendo obstrucción de la misma, si la hembra deposita huevos estos</p>

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



			extravasan el parénquima hepático produciendo granuloma de cuerpo extraño.
Tricocefalosis	<i>Trichuris trichura</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dolor tipo cólico • Diarrea con moco y sangre • Pujo • Tenesmo • Pérdida de peso • Anemia • Falta de desarrollo en la estatura 	<p>La patología se da por la lesión mecánica al introducirse parte de la porción anterior en la mucosa del intestino grueso como inflamación local, edema y hemorragia con pocos cambios histológicos.</p> <p>En niños con infecciones crónicas se han detectado aumentos de inmunoglobulina E circulante y en mucosa de colon. En la cual se ha encontrado elevadas cantidades de histamina y aumento de mastocitos.</p> <p>La gravedad de la patología es proporcional al número de parásitos que está asociada a desnutrición. Puede haber prolapso rectal.</p>
Uncinariasis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ancylostoma duodenale</i> • <i>Necator americanus</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Está asociado a la intensidad de la infección. • Dolor epigástrico 	<p>Se produce en cuatro niveles:</p> <ul style="list-style-type: none"> • En un comienzo hay lesiones producidas por la penetración de las larvas filariformes, consistentes con

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

		<ul style="list-style-type: none"> • Nauseas • Pirosis • Ocasionalmente diarrea • Anemia crónica • Dermatitis pruriginosa • Tos, expectoraciones, fiebre en caso de que la sintomatología se presente a nivel pulmonar. 	<p>eritema, pápulas, edema, vesículas y pústulas cuando hay infecciones secundarias.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cuando las larvas llegan a los pulmones se producen pequeñas hemorragias debido a la ruptura de capilares que causa una reacción inflamatoria predominantemente de células mono nucleadas. • Fijación de parásitos adultos a la mucosa intestinal causa una lesión inflamatoria y mecánica. Microscópicamente hay una reacción inflamatoria sangrante y macroscópicamente no hay cambios aparentes. • El principal daño es pérdida de sangre debido a la succión y hemorragia.
Estrongiloidiasis	<i>Strongyloides</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dermatitis pruriginosa 	Depende de los etapas de invasión al

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

	<i>stercoralis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Tos, expectoración y elevación de temperatura. • Dolor epigástrico a veces agudo • Eosinofilia • Diarrea • Nausea, vomito 	<p>organismo humano, que corresponden a cuadros patológicas diferentes que pueden ser:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Invasión a la piel • Lesiones pulmonares • Localización intestinal • Invasión a otras viseras
Oxiuriasis	<i>Enterobius vermicularis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Prurito • Inflamación en la región anal • Ligero dolor o sensación de un cuerpo extraño. • Rasquiña 	<p>No hay lesiones anamopatologicas características producidas por oxiuros.</p> <p>La migración de los parásitos adultos por la piel a diferentes sitios puede desencadenar una reacción inflamatoria local.</p>

Tabla 1: Síntomas, manifestaciones clínicas y patologías de helmintiasis causada por Nemátodos. ⁴

⁴ BOTERO David, RESTREPO Marcos, Parasitosis Humanas, Editorial Corporación para Investigaciones biológicas, Cuarta Edición, Medellín, Colombia, 2005, Pág. 93.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



1.1.3.7. Céstodos causales de infestaciones gástricas

1.1.3.7.1. *Taenia solium* y *saginata*

Son parásitos largos y aplanados. Se observan como una cinta blanca o amarillenta con un extremo más delgado que corresponde al escólex, tiene la forma de una cabeza de alfiler mide de 1 a 2mm. Posee 4 ventosas, el escólex continúa aumentando su tamaño hasta 1cm que son los proglótides inmaduros continuando con los maduros que son los de la parte terminal y en esta última están los grávidos que son 3 veces más largos y anchos. El huevo o cisticerco mide de 5micras ancho y 10mm de largo, posee un escólex invaginado con ventosas y ganchos.

Las principales diferencias para el diagnóstico de las 2 especies son:

<i>Taenia solium</i>	<i>Taenia saginata</i>
<ul style="list-style-type: none">• Escólex posee 4 ventosas y un róstelo con una corona doble de ganchos.• Proglótides grávidos con menos de 12 ramas uterinas principales a cada lado• Menor tamaño (hasta 5 metros) y un menor número de proglótides (hasta 1000).• Los proglótides grávidos salen solos con menos frecuencia en cambio se observa eliminación de porciones de estróbilo con la defecación.• Presenta 3 lóbulos ováricos en los proglótides maduros y carece de esfínter vaginal.	<ul style="list-style-type: none">• Escólex posee 4 ventosas sin róstelo ni ganchos.• Proglótides grávidos con más de 12 ramas uterinas principales a cada lado• Mayor tamaño (hasta 10 metros) y un mayor número de proglótides (hasta 2000).• Los proglótides grávidos se eliminan por el ano con más frecuencia y salen espontáneamente sueltos y con movimiento activo.• Presenta 2 lóbulos ováricos en los proglótides maduros y carece de esfínter vaginal.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 2: Diferencias morfológicas entre *T. solium* y *T. saginata*.⁴

Tanto *T. solium* como *T. saginata* se fijan al intestino delgado por medio de las ventosas y además por los ganchos en *T. solium*. La patología que causa la tenia en su estado adulto es muy escasa y pueden producir una irritación mecánica en la mucosa intestinal y rara vez reacción inflamatoria.

El mayor problema es la migración de los cisticercos hacia el sistema nervioso.⁴

1.1.3.7.2. Diphyllbothrium latum

Son parásitos que se adquieren a partir del consumo de pescado se caracteriza por el escólex de 1mm de diámetro. Posee 2 ventosas longitudinales llamadas botrias, un cuello largo y delgado, el estróbilo mide de 3 a 10 metros de longitud con miles de proglótides, el aparato reproductor está a la mitad, éste presenta un poro genital por donde elimina los huevos que miden 70 por 45 micras.⁴

1.1.3.7.3. Hymenolepis nana

Es el más pequeño de los céstodos humanos mide de 2 a 4cm, el escólex posee 4 ventosas con róstelo retráctil y una corona de ganchos, el cuello es largo y delgado y se continua con el estróbilo el cual puede tener hasta 200 proglótides más anchos que largos, estos contienen principalmente los órganos genitales que desembocan en los poros genitales por donde salen los huevos.

Los huevos miden de 40 a 50 micras son de color blanco transparente con una doble membrana con filamentos en forma de mechones.⁴

⁴ BOTERO David, RESTREPO Marcos, Parasitosis Humanas, Editorial Corporación para Investigaciones biológicas, Cuarta Edición, Medellín, Colombia, 2005, Pág. 93

⁴ BOTERO David, RESTREPO Marcos, Parasitosis Humanas, Editorial Corporación para Investigaciones biológicas, Cuarta Edición, Medellín, Colombia, 2005, Pág. 93

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.3.7.4. Hymenolepis diminuta

El parásito adulto mide 20 a 60cm, se caracteriza el escólex porque no tiene ganchos y posee 4 ventosas, las proglótides son cortas y anchas, los proglótides maduros son hermafroditas que desembocan en un poro genital lateral.

Los proglótides grávidos se deprenden en el intestino donde liberan los huevos que son de 60 a 80 micras de color amarillo de membrana externa gruesa.⁴

1.1.3.7.5. Dipylidium caninum

Parásito que mide 20 a 60cm, el escólex es pequeño de forma romboidal provisto de 4 ventosas y de un róstelo retráctil armada de varias coronas de ganchos.

Los huevos se acumulan dentro de una cápsula ovigera, los cuales pueden ser eliminados en la materia fecal.⁴

1.1.3.8. Tremátodos causales de infecciones gástricas

1.1.3.8.1. Fasciolopsis buski

Se localizan en el intestino delgado, el tamaño oscila de 20 a 75 mm de longitud por 8ª 20 mm de ancho. Este gusano es carnoso, alargado, ovoide y externamente está recubierto por un tegumento espinoso. El tiempo de vida media de *F. buski* es aproximadamente de 6 meses.

1.1.4. FÁRMACOS ANTIHELMÍNTICOS

Los antihelmínticos son fármacos que tiene una acción terapéutica en la eliminación del parásito del organismo.

El modo de acción de estos fármacos tiene tres objetivos:

1. Actuar a nivel de la coordinación neuromuscular del parasito, produciendo parálisis.
2. Actuar inhibiendo la captación de glucosa del parasito, produciendo la muerte del parásito.

⁴ BOTERO David, RESTREPO Marcos, Parasitosis Humanas, Editorial Corporación para Investigaciones biológicas, Cuarta Edición, Medellín, Colombia, 2005, Pág. 93

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3. Actuar a nivel de la membrana microtubular alterando las funciones bioquímicas del mismo.¹⁰

1.1.4.1. Bencimidazoles

Químicamente son derivados del grupo de los imidazoles, dentro de este grupo tenemos al albendazol, mebendazol y flubendazol, son los antihelmínticos de elección en parasitosis asociadas a helmintos, debido a su amplio espectro, este grupo de fármacos actúan de la siguiente manera:

1. Inhibición de la fumarato Reductasa.
2. Inhibición de la captación de glucosa, produciendo agotamiento de las moléculas de glucógeno y el detenimiento de la producción de ATP que lleva a la parálisis o la destrucción.
3. Alteración de la función micro tubular.

Este grupo de fármacos se absorbe poco (<5%) tras la administración oral, el fármaco sufre rápidamente un metabolismo de primer paso en hígado y no se detecta generalmente en plasma. El sulfóxido que se forma es el metabolito primario, el cual se considera la fracción activa en la eficacia frente a las infecciones tisulares sistémicas. La semivida plasmática del sulfóxido es de 8,5 horas.¹⁰

1.1.4.2. Tetrahidropirimidinas

El pirantel es una tetrahidropirimidina preparada en forma de pamoato, su mecanismo su acción se fundamenta en la activación al receptor nicotínico excitatorio de la acetilcolina del musculo de los nemátodos, produciendo se una despolarización y parálisis espática por incremento del sodio y potasio causando parálisis irreversible, lo cual permite la expulsión natural de los vermes por las heces del hospedero.

Este grupo de fármacos se puede utilizar con un análogo que es el oxantel para producir mejor eficacia en el tratamiento.¹⁰

¹⁰ MURRAY Patrick, ROSENTHAL Ken, PFALLER Michael, Microbiología Médica, Publicaciones Elsevier Mamby, Quinta edición, Madrid España, 2006, Pág. 786, 907, 986.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



1.1.4.3. Compuestos tiazónicos

La nitazoxanida es un nitroimidazólico, éster del metronidazol. A diferencia del resto de fármacos de este grupo, debido a que un átomo de azufre reemplaza al nitrógeno en el anillo tiene menos toxicidad, mayor espectro de acción y más eficacia clínica. La actividad antiparasitaria y antibacteriana se produce por interferir con el ciclo de Replicación del DNA mediante la inhibición de la síntesis de glicoproteínas, necesarias para la replicación.^{10, 11}

1.1.4.4. Praziquantel

El praziquantel es un antihelmíntico antiparasitario de amplio espectro, aumenta la permeabilidad de la membrana al calcio aumentando así la contracción marcada, aumenta la parálisis muscular y vacuolización y desintegración del tegumento.

El praziquantel sufre una importante biotransformación metabólica en el hígado (fenómeno de primer paso hepático) y sus metabolitos inactivos, se eliminan por hidroxilación.

1.1.4.5. Piperazina

El efecto predominante de la piperazina sobre las helmintiasis es causar parálisis flácida del músculo que resulta en la expulsión del verme por el peristaltismo. La piperazina bloquea la respuesta del músculo del helminto a la acetilcolina, aparentemente alterando la permeabilidad de la membrana celular a los iones responsables del mantenimiento del potencial de reposo.

1.1.4.5.1. Indicaciones terapéuticas

Está indicada en Enterobiasis y Ascariasis.

¹⁰ MURRAY Patrick, ROSENTHAL Ken, PFALLER Michael, Microbiología Médica, Publicaciones Elsevier Mosby, Quinta edición, Madrid España, 2006, Pág.907, 986

¹¹ PLM , Diccionario de especialidades Farmacéuticas, Editorial PLM DEL ECUADOR S.A , EDICION 36,Ecuador, 2010

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.4.5.2. Posología

Ésta es oral, siendo una dosis expresada en Hexahidrato de piperazina. Las dosis a utilizar son:

- Enterobiasis, adultos y niños: 65 mg/kg/día, en 1 toma, 7 días.
- Ascariasis: adultos: 3,5 g, en 1 toma, 2 días; niños: 75 mg/kg/día, en 1 toma, 2 días.
- En infestaciones graves, repetir tratamiento al cabo de 1 semana.

1.1.5. FITOTERAPIA

Es la aplicación y uso de fármacos de origen vegetal con el afán de prevenir, curar, o atenuar síntomas de enfermedades; las preparaciones farmacéuticas a partir de principios activos vegetales tienen cada vez mayor aceptación por parte del personal de salud y de la población en general.¹²

1.1.5.1. Fitoterápico

Forma farmacéutica preparada a partir de las plantas de las que se ha demostrado actividad terapéutica por tradición o experimentación. Éstas se clasifican en:

- **Categoría A:** respaldado por estudios farmacológicos, toxicológicos experimentales y clínicos.
- **Categoría B:** respaldado por estudios farmacológicos y toxicológicos experimentales.
- **Categoría C:** respaldado por referencias bibliográficas de uso tradicional en estudios de toxicidad aguda y que no presentan formas farmacéuticas definidas.

1.1.5.2. Cucurbitáceas

¹² www.vademecum.es/principios-activos-piperazina-p02cb0. acceso: 15 de julio de 2011.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



La familia cucurbitácea comprende alrededor de 118 géneros y 825 especies, estas son cultivadas o silvestres, son de alto consumo en algunas poblaciones del mundo debido que son fuentes alimenticias y medicinales.¹³

Las cucúrbitas más representativas son *Cucúrbita pepo*, *C. fixifolia*, otra planta con actividad medicinal perteneciente a las cucurbitáceas es el pepino (*Cucumis sativus*).

De sus hojas no se conocen con certeza las propiedades medicinales debidas que no se documentan estudios siendo más utilizados el fruto para consumo humano y las semillas como antiparasitario por su actividad vermífuga y las raíces por su actividad purgante.¹⁴

Las semillas del genero cucúrbita contienen las cucurbitinas que son las responsables del efecto vermífugo sobretodo en tenias y oxiuros.¹⁵

1.1.6. GENERALIDADES DE LA PLANTA

Cucúrbita Aff. maxima

Familia: Cucurbitáceas

Género: *Cucúrbita*

Especie: *máxima*

1.1.6.1. Descripción botánica

Se trata de una planta anual de grandes dimensiones caracterizada por presentar un tallo rastrero provisto de zarcillos que puede alcanzar a medir hasta 10 metros.

Las hojas son grandes codiformes, ásperas, de color verde, cubiertas de una pilosidad urticariante.

¹³ KLUKLINSKY Claudia, Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural, Editorial Omega, 2000.

¹⁴ ASTUDILLO Machuca Adelina, Practicas de Farmacognosia, 2005.

¹⁵ RODRIGUEZ Arévalo Lira, "Catálogo de la familia cucurbitáceas de México", Unidad Biológica, Tecnológica y Prototipos, FES Iztacla. Base de datos SNIB-Conabio DS002. Disponible en: http://www.conabio.gob.mx/informacion/catalogo_autoridades/doctos/cucurbitaceas.html.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA



Figura 5: hojas de *Cucurbita Aff. maxima*

El tallo es hirsuto acanalado, las hojas son acorazonadas y lobuladas, presentan vellosidades, las flores en campana son diclino monoica, es decir, tiene flores femeninas y flores masculinas en la misma planta; flores masculinas cuando presentan el estambre soldados a la columna y las femeninas son simples.



Figura 6: flor de *Cucurbita Aff. maxima*

Las flores masculinas tienen pedúnculos largos y tres estambres con filamentos libres, donde se encuentra el polen. Las flores femeninas tienen el ovario en su base que se visualiza como un pequeño zapallito.

La polinización la realizan los insectos (entomófila) y generalmente son las abejas las que provocan cuando buscan el néctar en la base de las flores.

Estas se mantienen abiertas durante 12 horas, tiempo durante el cual deben ser fecundadas para que se forme el fruto.

Los frutos pueden ser pequeños denominados calabacines y los grandes calabazas o zapallo, son carnosos grandes y huecos, de color amarillo verdosos al madurar,

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

conteniendo gran cantidad de semillas ovales cubiertas por un epispermo de color blanquecino y duro, recubriendo al embrión.^{16, 17}



Figura 7: fruto de *Cucurbita Aff. maxima*

1.1.6.2. Antecedentes

El zapallo se cree que es de origen americano, habiendo constituido un importante alimento en las épocas precolombinas. Se comenzó a cultivar muchos siglos antes del descubrimiento de América de acuerdo con las evidencias antropológicas halladas en México según Alonso (2010).¹⁸

Los indígenas Cherokee e Iroquois, empleaban la infusión de las semillas como antihelmíntico y para combatir trastornos urinarios. La planta fue difundida por toda Europa a partir del siglo XV, para algunos autores el origen del zapallo sería asiático, basándose en antiguos escritos que datan de tiempos bíblicos, sin embargo, en estos textos se hablan de otras plantas con diversos nombres que corresponderían al melón, pepinos o la calabaza vinatera; que en descubrimientos arqueológicos incaicos se ha encontrado restos de estas semillas, lo que haría suponer que existió algún tipo de contacto entre Asia y América.¹⁸

1.1.6.3. Hábitat y distribución

La mayoría de especies de zapallos proceden de las regiones áridas o desérticas de México y suroeste de Estados Unidos, existen muchas variedades y especies

¹⁶ <http://www.inta.gov.ar/valleinferior/info/r48/02.pdf>.

¹⁷ <http://www.botanical-online.com/llavor.htm#The%20seed%20coat>.

¹⁸ ALONSO Jorge, tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos, Editorial Omega, España, 2010

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

emparentadas, crece entre los 2000 a 4000 metros sobre el nivel del mar, son cultivadas en la agricultura tradicional de temporada, se hallan comúnmente en cultivos de maíz en las zonas andinas y a veces se encuentran en estado semi silvestre.^{18, 19}

1.1.6.4. Usos medicinales

- **Semillas:** Las semillas son utilizadas desde la antigüedad por sus propiedades alimentarias y medicinales, tradicionalmente se las utilizado por su efecto antihelmíntico y como diurético.
Desde el punto de vista alimentario son muy ricas en ácidos grasos insaturados, y a partir de las semillas se obtiene el aceite de Estiria.



Figura 8: semillas de *Cucurbita Aff. maxima*

- **Hojas:** En decocción se utiliza como antipirético y antidiarreico.
- **Pulpa:** Se utiliza en emplastos como cicatrizante y emoliente en la piel.
- **Otros usos populares:** En hiperplasia prostática disminuyendo el tamaño de la misma.¹⁸

1.1.6.5. Composición química

- **Semillas:**

¹⁹ TAPIA, M. E. y A.M. Fries. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. FAO y ANPE. Lima. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ai185s/ai185s.pdf>

¹⁸ ALONSO Jorge, tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos, Editorial Omega, España, 2010

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- AMINOACIDOS: alanina, cucurbitina, arginina, cistina, glicina.
- ACIDOS GRASOS: Oleico y palmítico.
- VITAMINAS: A y E
- FIBRA
- MINERALES: calcio magnesio, zinc, potasio ³

1.1.6.6. Farmacobotánica y Farmacognosia

El material utilizado con fines medicinales lo constituyen las hojas y semillas. El principio de la semilla es la cucurbitina que ejerce actividad vermífuga.

1.1.6.7. Indicaciones terapéuticas

Semillas: se puede emplear las semillas frescas trituradas sin la cáscara o epispermo en dosis de 30-50 gramos para niños y 100 gramos para adultos en ayunas y se puede acompañar con algún laxante salino o con semillas de zen mezcladas con miel. ¹⁸

1.1.6.8. Tratamiento de la droga

1.1.6.8.1. Recolección

Éste proceso depende de las características de la especie y de la parte de la planta en estudio; pudiendo ser la recolección mecánica o manual.

La recolección es un proceso que se debe hacer de manera condicionada ya que de esta dependerá la cantidad y la calidad de los principios activos, es por esto que se debe tener en cuenta factores como: la edad de la especie vegetal, época del año, momento del día y la parte de la planta que se recolecta.

1.1.6.8.2. Secado

Ésta se considera una fase crítica e importante, ya que en el momento del secado, la planta está propensa a ser contaminada por agentes patógenos.

³ MONTOYA, Villafañe Hugo Humberto, Microbiología básica para el área de la salud y afines, Editorial Universidad de Antioquia , Segunda edición, 2008, Pág. 195

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Por lo general, todas las plantas se secan para almacenarlas y para procesos de extracción de los principios activos a excepción de las que se van a emplear para la extracción de aceites esenciales, las temperaturas de secado son entre 30 y 60°C, para evitar la pérdida de los principios activos volátiles y termolábiles. Se debe considerar que en aquellas plantas que poseen aceites esenciales la temperatura no debe ser mayor a 40°C, en cualquiera de los casos mencionados lo importante es garantizar una buena corriente de aire para facilitar el proceso de secado, el mismo que puede ser rápido o lento dependiendo de cada droga.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



1.1.6.8.3. Trituración

Es una operación unitaria que reduce el tamaño promedio de las partículas de la muestra, la reducción se lleva a cabo dividiendo o fraccionando la muestra por medios mecánicos hasta el tamaño deseado.²⁰

1.1.6.8.4. Desengrasado

Tiene por finalidad la eliminación de grasas, aceites, espumas y materias flotantes más ligeras que el agua que pueden interferir en el proceso de determinación de los principios activos.²¹

1.1.6.8.5. Almacenamiento

Permite conservar la droga y sus principios activos. Las condiciones de almacenamiento dependen de las características de cada especie y de la parte de la planta en estudio. Se deben seguir estos pasos para una buena conservación de la droga:

- lugar seco, evitando la luz y contacto con polvo.
- sol y roedores.

1.1.6.8.6. Cálculo de rendimiento

Este cálculo sirve para saber cuánto de droga fresca se requiere para obtener una determinada cantidad de droga seca.¹⁴

El rendimiento se realiza con la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{gramos de la droga seca}}{\text{gramos de la droga fresca}} \times 100$$

1.1.6.8.7. Estabilidad microbiológica

²⁰ MORENO G. Ana. Apuntes de Zoología. Pág. 1,2. Disponible en:
<http://bdigital.eafit.edu.co/bdigoal/PROYECTO/P664.022CDE184/capitulo5.pdf>

¹⁴ ASTUDILLO Machuca Adelina, Practicas de Farmacognosia, 2005.

²¹ <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/tesisdigitales/texto/58322C355.pdf>.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

La invasión de microorganismos en una planta puede ocasionar la disminución de los principios activos y por lo tanto altera la calidad de la droga por la presencia de estos elementos nocivos. Cuanto más rica en sustancias nutritivas es una droga y el proceso de secado se lo realice de manera muy lenta, el número de gérmenes presentes en la droga será mayor, por esta razón, el número de microorganismos de una droga a otra varía notablemente.

En general, la droga durante su manipulación en las operaciones de cosecha, recolección, almacenamiento, secado se contamina con gérmenes provenientes del suelo del ambiente y la tierra. De los innumerables microorganismos que pueden contaminar la droga seca se destacan las esporas aerobios, estreptococos fecales, pseudomonas, enterobacterias; los más peligrosos son los hongos filamentosos, porque producen micotoxinas y algunas especies son productoras de aflatoxinas las cuales son consideradas altamente tóxicas. Esta contaminación varía por lo general de 10^3 y 10^6 gérmenes por gramo de planta.

1.1.6.8.7.1. Microorganismos mesófilos aerobios

La mayoría de estos microorganismos se encuentran en casi todos los productos. En este grupo se incluyen todas las bacterias, capaces de desarrollarse a 30° C en las condiciones establecidas, debido a que su temperatura de desarrollo es óptima para muchas formas de vida libre que se encuentran difundidos en el medio ambiente. El recuento de estos microorganismos estima la microflora total, sin especificar tipos de microorganismos, reflejando la calidad sanitaria del producto a examinar, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de la materia prima.

1.1.6.8.7.1.1. Recuento estándar en placa (R.E.P.)

INEN 1529:05

Es un método cuantitativo que se basa en el cálculo del número de microorganismos aerobios, a partir de diluciones decimales de la muestra. Éstas se colocan alícuotas en cajas de petri estériles y se vierten un medio sólido adecuado, fundido y temperado a 45° C e incubado a la temperatura de 37° C durante 24 horas;

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

transcurrido este tiempo se cuantifica la cantidad de microorganismos viables que se encuentran en una determinada cantidad de la muestra.

1.1.6.8.7.1.2. Recuento estándar de mohos y levaduras

NTE INEN 1529:11

Los recuentos de mohos y levaduras sirve como criterio de re contaminación de la droga después de un proceso higienizante y en drogas desecadas y tratados por calor.

Las levaduras y los mohos crecen con menor rapidez que las bacterias y favorece al crecimiento de las mismas con:

- medios poco ácidos
- humedad del medio
- actividad acuosa

El peligro potencial de la producción de metabolitos tóxicos son las micotoxinas y las más peligrosas las aflatoxinas producidas por el género *aspergillus*.

Las levaduras crecen más rápido que los mohos pero con frecuencia junto a ellos y en el mismo medio de cultivo a pH ácido igual o menor a 5 y toleran bajas actividades de agua (aproximadamente del 0,95% y el 0,5%), toleran altos contenidos de sales y azúcares, bajas temperaturas de almacenamiento, para inhibir el crecimiento de las bacterias. La temperatura óptima de incubación esta alrededor de los 22°C y el tiempo de incubación más adecuado es de 5 a 7 días.

Los mohos se identifican según su morfología macroscópica y microscópica. Se toma en cuenta las características de la colonia como: tamaño, superficie, aspecto, textura, color, además las características propias de los micelios vegetativos como la presencia de tabiques, diámetro y forma de las hifas. En tanto que para identificar las levaduras es necesario recurrir a las pruebas bioquímicas ya que la diferenciación microscópica es difícil.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



1.1.6.8.8. Determinación del contenido de humedad

1.1.6.8.8.1. Método gravimétrico

Se lo define, como la relación de la masa de agua libre en una masa de material, respecto a la masa de sólidos que lo constituyen.

El contenido de humedad dependerá si la planta está fresca o si ya ha sido sometida a un proceso de secado y de la parte de la planta con la que se está trabajando. En el caso de la semilla de *Cucúrbita Aff. maxima*, se indica que para las semilla es permitido hasta un 14% de humedad; los cálculos de esta técnica se describe en el capítulo II.

1.1.6.8.9. Obtención de extracto

Tanto para la marcha fitoquímica como para la preparación del extracto, se utilizó el método de extracción de percolación.

Un extracto se define como preparados concentrados de drogas vegetales o animales, obtenidos mediante la remoción de los constituyentes activos a través de un solvente.

La obtención del extracto es uno de los puntos claves en la identificación de los metabolitos y en la efectividad fitofarmacológica del mismo, los procesos previos de tratamiento de la droga garantizan una buena calidad del extracto.

Una vez acondicionada la droga para la obtención del extracto se realizan las siguientes operaciones:

- **Maceración:** Es una técnica de extracción que se fundamenta en el intercambio de la célula con el solvente en 72 horas, se debe cambiar el solvente durante 3 veces hasta que haya agotamiento total de la droga, el inconveniente que se presenta es que se necesita de movimiento y tiempo.²²

²² REGMINTON, FARMACIA, Editorial medica Panamericana, Edición 17, Buenos Aires, 1987, Pág. 2054,

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- **Percolación:** Es una técnica de extracción que consiste en extraer los principios activos mediante solventes en la droga seca realizando la maceración por 24 horas, el reposo permite el intercambio dentro y fuera de la célula. Se procede al goteo XX añadiendo nuevo solvente hasta el agotamiento de los principios activos presentes en la droga.²²
- **Liofilización:** Es el método de desecación en el que se elimina el agua por congelación del producto húmedo y posterior sublimación del hielo en condiciones de vacío, el hielo sublima y se evita el paso por la fase líquida.²²

1.1.6.8.10. Extracto seco

Se define como: “el producto obtenido después de la desecación y extracción total del agua contenida en un líquido o en un sólido”.

1.1.6.8.11. Ensayo de toxicidad en artemia salina

La *Artemia salina* o Brine Shrimp pertenece a un grupo de crustáceo la *A. salina* tal cual como lo indica su nombre, no es un habitante directo del mar sino de salinas. Este pequeño camarón es utilizado comercialmente como alimento en la cría de peces y crustáceos, también ha sido usado durante años como modelo para realizar investigaciones en disciplinas básicas y/o aplicadas, en el análisis de residuos de pesticidas y micotoxinas entre otras.

Los huevos de *A. salina* pueden obtenerse fácilmente y una vez colocados en agua de mar artificial, estos eclosionan en aproximadamente 48 horas obteniéndose grandes cantidades de nauplios, lo que permite su uso para comprobar la actividad biológica en extractos de productos naturales.

El bioensayo de la *Artemia salina* Leach se basa en la premisa de que los compuestos bioactivos son tóxicos a altas dosis y la letalidad en un organismo simple puede ser utilizada para detectar y guiar el fraccionamiento de los extractos. Este ensayo se caracteriza principalmente por ser de bajo costo, no requiere

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

condiciones estériles de trabajo, es relativamente rápido y no utiliza medios de cultivo. Actualmente, el ensayo de Toxicidad contra *A. salina* se utiliza en la investigación de la fuente de toxicidad en mezclas de compuestos químicos y muestras ambientales, toxicidad aguda, estudios de modelos de acción tóxica de sustancias y para detectar la actividad biológica de sustancias tan diversas como pesticidas, micotóxicas, anestésicos, aceites esenciales, compuestos tipo morfina, entre otros. Se han demostrado su utilidad en la determinación de compuestos antitumorales y en el fraccionamiento biodirigido para el aislamiento de moléculas a partir de productos naturales.²³

1.1.6.8.12. Marcha Fitoquímica

1.1.6.8.12.1. Determinación de metabolitos

Estos se determinan como:

- Metabolitos primarios: Son los productos químicos necesarios para la vida resultantes del metabolismo vital de todo ser vivo son: carbohidratos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.
- Metabolitos secundarios: Otros compuestos llamados metabolitos secundarios son subproductos de rutas metabólicas normales que ocurren en ciertas especies siendo particulares dentro de un grupo taxonómico, estado de vida o tejido presentando una distribución restringida dentro del Reino Vegetal dando origen a la quimiotaxonomía. Su ocurrencia depende de condiciones externas tales como ataques de patógenos, predadores, cambios térmicos o lumínicos, deficiencias nutricionales o presencia de otros organismos intra o interespecíficos. El metabolismo secundario es una característica fundamental de la especialización, es decir que el compuesto resultante puede no ser importante para la célula pero sí

²³ LAUGHLIN Mc. Dr. Universidad de Purdue. Ensayo de toxicidad general en artemia salina.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

para el organismo como un todo. Los metabolitos secundarios pueden ser bioactivos, pero no jugar un papel esencial en los procesos fisiológicos del organismo. Algunos metabolitos secundarios son “residuos bioquímicos”, es decir, productos de actividad enzimática de substratos no apropiados o productos de desecho de importancia para la supervivencia y la buena condición de los organismos. Con pocas excepciones los metabolitos secundarios pueden ser clasificados dentro de cinco grupos, de acuerdo con su base biosintética: fenilpropanos, acetogeninas, terpenoides, esteroides y alcaloides.

1.1.6.8.12.2. Reconocimientos de metabolitos

El reconocimiento de metabolitos secundarios se realiza por medio de pruebas fitoquímicas preliminares, las cuales son una prueba química de caracterización consistente en una reacción química que produce alteración rápida en la estructura molecular de un compuesto.

1.1.6.8.12.3. Glúcidos o Hidratos de carbono

Son compuestos orgánicos resultantes del metabolismo primario de las plantas. Poseen como fórmula general $C_n(H_2O)_m$, se originan a través del metabolismo primario de las plantas siendo los primeros componentes biosintetizados mediante la fotosíntesis, su estructura está compuesto por una función aldehído o cetona y el resto por carbonos hidroxilados (OH), son la principal fuente de reserva energética.

Se clasifica en:

- Monosacáridos o azúcares sencillos: son unidades simples de polihidroxialdehidos y polihidroxicetosas, con un número de carbonos entre 3 y 9.
- Holósidos que resultan de la unión de monosacáridos y se clasifican en:
 - ✓ Polisacáridos contiene más de 10 monosacáridos
 - ✓ Oligosacáridos contiene menos de 10 monosacáridos.
- Heterósidos: Son estructuras químicas de una o varios monosacáridos unidos a otras estructuras no glucídicas.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Para la determinación de glúcidos en una muestra se aplica el Ensayo de Fheling. Esta prueba permite determinar la presencia de glúcidos reductores en la muestra, se fundamenta en la reducción de Cu^{++} a Cu^{+} , en medio alcalino en caliente, por acción reductora de los hidratos de carbono que poseen aldehído libre o un grupo cetónico, que permite la reducción y formación de un precipitado de color amarillo – tomate, en caso de no ser negativa esta prueba se procede a realizar una hidrólisis ácida de los compuestos.

1.1.6.8.12.4. Polisacáridos

- ✓ Polisacáridos heterogéneos: Se caracterizan por tener en su estructura ácido urónico o hidratos de carbono.
- ✓ Pectinas: Es el principal componente enlazante de la pared celular de los vegetales, son polisacáridos compuestos de una cadena lineal de moléculas de ácido D-galacturónico, son derivados complejos de los hidratos de carbono solubles en agua formando una solución viscosa.

1.1.6.8.12.5. Lípidos

Son derivados de los ácidos grasos de cadena larga, la gran mayoría son ésteres entre un ácido graso y un alcohol o poliol, pero también hay un único grupo de esfingolípidos que presentan unión amida, están presentes generalmente en el fruto y la semilla.

1.1.6.8.12.6. Prótidos

Los próticos son un grupo de compuestos químicos que incluyen los aminoácidos y también aquellas estructuras que mediante hidrólisis producen aminoácidos.

Los próticos se pueden clasificar en tres grupos fundamentales: aminoácidos libres, péptidos y proteínas.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.6.8.12.6.1. Determinación de aminoácidos (AA)

Son unidades básicas de los péptidos y las proteínas, en la naturaleza existen aminoácidos libres, son 20 y pueden sufrir transformaciones en su estructura para ejercer acción en los procesos bioquímicos.

Los péptidos son la unión de varios aminoácidos y las proteínas son la unión de aminoácidos mediante enlaces peptídicos.

Para la determinación de aminoácidos se realiza el ensayo de ninhidrina (hidrato de tricetohidrendeno) que es un oxidante que reacciona con los alfa aminoácidos en un pH entre 4 y 8 produciendo un compuesto de color purpura.

1.1.6.8.12.7. Flavonoides

Son compuestos polifenólicos con quince átomos de carbono, cuya estructura consta de 2 anillos de benceno unidos por una cadena lineal de tres carbonos. El esqueleto de los flavonoides se representa por el sistema C6 –C3 – C6.

Los flavonoides se determinan mediante el ensayo de Shinoda y otras sustancias con núcleo γ - benzopirona, los flavonoides con el núcleo benzopirona producen coloraciones rojizas cuando a sus disoluciones acuosas o alcohólicas se les adiciona magnesio seguido de HCl concentrado. Aunque no se conoce el mecanismo de esta prueba, es muy utilizada para reconocer esta clase de compuestos. La aparición de una coloración entre naranja y violeta se considera positiva.

1.1.6.8.12.8. Compuestos fenólicos

Son metabolitos secundarios que pueden proceder de la ruta del ácido shikimico o del acetato actúan como antioxidantes, secuestradores de radicales libres, antimicrobiano y protectores de los rayos UV. Los compuestos fenólicos se determinan mediante el ensayo del tricloruro férrico, permite reconocer compuestos fenólicos debido que se produce una oxidación de Fe^{+++} a Fe^{++} , produciendo la coloración que dependerá del tipo de compuesto fenólico.

Se considera positiva la aparición de coloraciones violetas, verdes, azules u oscuras.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.1.6.8.12.9. Taninos

Son un grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica capaces de precipitar macromoléculas, debido a esto se les utiliza en el curtimiento de piel y por su poder astringente. La determinación de los mismos se fundamenta en que los taninos permiten la precipitación de macromoléculas como las proteínas de la gelatina, debido a su poder astringente.

La formación de precipitado al agregar el reactivo de gelatina y la aparición de colores o precipitados verdes, azules o negros es prueba positiva.

1.1.6.8.12.10. Isoprenoides

Son metabolitos secundarios formados a través de la ruta de la condensación isoprenica o ruta del ácido mevalónico en la que incorporan unidades C_5 .

Se clasifican en:

- Hemiterpenos
- Monoterpenos: regulares e irregulares
- Sesquiterpenos
- Diterpenos
- Triterpenos
- Tetraterpenos
- Poliisoprenoides

Los Triterpenos y/o esteroides con grupos dieno conjugados reales o potenciales, se valoran mediante el Ensayo de Liebermann – Buchard la reacción se hace en un medio anhidro ácido fuerte (anhídrido acético- ácido sulfúrico), la fase inicial del proceso estriba en la protonación del grupo hidroxilo del colesterol seguido de una deshidratación para formar un ion carbonio 3,5-colestadieno. La oxidación secuencial de esta carbonación por el ácido sulfúrico produce un compuesto cromoforo de estructura no bien definida. La formación de colores azules, violetas,

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

rojos o verdes es prueba positiva de que la muestra contiene Esteroides y/o Triterpenoides. ¹⁴

1.1.7. Descripción del modelo biológico

Eisenia foetida
Familia: Lumbricidae
Género: *Eisenia*
Especie: *E. foetida*

La especie más utilizada es la lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*), se caracteriza por la capacidad de descomposición de materia orgánica que puede llegar a consumir una cantidad de residuos equivalentes a su propio peso.

Es de color rojo oscuro y su cuerpo está dividido en anillos o metámeros que son apreciables a simple vista. Mide entre 4 a 10 cm de longitud y 3 a 5 mm de diámetro. Está constituida por el aparato respiratorio primitivo, el intercambio de oxígeno se realiza a través de la pared del cuerpo, el sistema circulatorio, nervioso y excretor está también repartido en los distintos anillos. Así en cada anillo se hallan 5 pares de corazones y un par de riñones; el sistema digestivo de la lombriz inicia con la boca, denominada probóscide continuando con el esófago y cuando llega al estómago unas glándulas especiales se encargan de segregar carbonato cálcico que neutraliza los ácidos presentes en la materia orgánica ingerida.

El sistema muscular está muy desarrollado tanto en sentido longitudinal como en sentido circular, lo que permite al animal efectuar cualquier tipo de movimiento.

Aunque un mismo individuo tiene ambos sexos se reproduce por fertilización cruzada, donde ambos ponen un capullo, llamado cocón, cada 10-30 días. Cada capullo contiene de 2 a 10 lombrices que emergen a los 21 días y se reproducirán en un lapso de 3 a 4 meses, en fase adulta.

Las condiciones ambientales para un óptimo desarrollo son una temperatura de 19 a 20°C, con una humedad del 80%, un pH de desarrollo entre 6.5 y 7.5 y con baja luminosidad. En estas condiciones una lombriz produce unas 10.000 lombrices por

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

año. La lombriz succiona o chupa la tierra y digiere de ella las partículas vegetales o animales en descomposición expulsando los elementos no digeribles y los residuos metabólicos que son los que forman el humus.^{24,25}

²⁴GELER Abraham, Compostadores. Disponible en: <http://www.compostadores.com/descubre-el-compostaje/biodiversidad/anatomia-y-fisiologia-de-la-lombriz-roja>

²⁵Eistenia foetid. Disponible en: <http://graniesworms.s5.com/about.html>.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

CAPITULO II

METODOLOGIA

2.1. Método

Se realizó un estudio observacional descriptivo con el propósito de determinar el nivel de eficacia del extracto alcohólico re disuelto en agua en los modelos de experimentación, por el método in vitro de la actividad antihelmíntica.

2.2. Materiales, equipos y reactivos

Para llevar a cabo el presente estudio en las lombrices se necesita de:

- Cristalería de laboratorio.

Dentro de los Equipos utilizados constan:

- Balanza **OHAUS**
- Baño maría **Memmert**
- Estufa de secado **Memmert**
- Liofilizador **Labconco 4500**
- Equipo de venoclisis **NIPRO**
- Percolador

Los reactivos que se utilizan para la extracción de resultados de este estudio son:

- Agar Sabouraud **BD**
- Agar nutritivo
- Agua destilada
- Etanol al 84.4%
- limaduras de magnesio
- anhídrido acético
- Sulfato de sodio anhidro
- Ácido clorhídrico concentrado
- alcohol amílico
- Solución de gelatina sal

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- Cloruro férrico
- Cloroformo
- Ácido sulfúrico concentrado
- benceno o tolueno
- Hidróxido de sodio al 5%
- Hidróxido de amonio al 2%
- Ácido clorhídrico concentrado
- Hidróxido de amonio
- Ninhidrina
- Sulfato de quinina
- Acido tánico
- Solución semisaturada de cloruro de sodio

2.3. Muestreo del material vegetal

La recolección del fruto (zapallo) se realizó el 18 de febrero del 2011, en la parroquia de Sigsig de la provincia del Azuay.

Para la recolección del fruto se observó que éste se encuentre maduro y en buen estado además que esté libre de contaminación.

Para la selección de las semillas se las separó del fruto y se seleccionó a las que se encontraban en buen estado y de tamaño uniforme. **(Anexo 1)**.

El transporte de este fruto se lo realizó en funda de papel.

2.3.1. Requisitos macromorfológicos

La droga fue categorizada de acuerdo a sus características sensoriales, macroscópicas y microscópicas. La calidad, identidad y pureza se obtiene a partir de estas observaciones y percepciones.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Para realizar esta prueba o ensayo se tomó una muestra de la planta y se observó a simple vista o con ayuda de una lupa; la morfología, el color y el olor; así como las contaminaciones por materias extrañas, insectos y microorganismos.

Para el examen morfológico se determinó las dimensiones de los diferentes órganos vegetales (largo y ancho). Para esto se puede utilizar una regla graduada en milímetros.

Se informó el valor promedio de al menos 30 dimensiones. También se debe examinar la textura y la fractura de la droga cruda. Inicialmente se investigaron los siguientes datos:

NOMBRE CIENTIFICO: *Cucúrbita Aff. maxima*
NOMBRE VULGAR: Zapallo
FAMILIA BOTANICA: Cucurbitáceas
ESPECIE: *Aff. maxima*
LUGAR DE RECOLECCION: Cantón Sigsig
FECHA DE RECOLECCION: 18 de febrero de 2011
FECHA DE ENVASADO: 04 de abril de 2011.

2.4. Tratamiento de la droga

2.4.1. Secado

Se realizó el método natural, es decir exponiendo la droga al aire libre, en este caso fueron las semillas. Por lo general todas las plantas se secan a excepción de las que se van a emplear para la extracción de aceites esenciales. **(Anexo 2)**

2.4.1.1. Método Natural

2.4.1.1.1. Desecación al aire libre

Las semillas fueron expuestas al aire libre y protegidas de los rayos del sol para completar con el proceso de secado.

El tiempo de secado fue realizado en 47 días.¹³

2.4.2. Trituración

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Una vez que las semillas de zapallo se secaron se procedió a retirarles el epispermo para obtener el embrión y así poder triturarlo y se procedió al triturado con ayuda de una licuadora.

En el caso de las semillas de zapallo, se realizó un desengrasado previo debido a que la semilla es rica en grasa. ¹³(Anexo N° 3)

2.4.3. Desengrasado

El desengrasado se realizó para eliminar el exceso de grasa que posee las semillas de *Cucúrbita Aff. maxima* para que no interfieran en el proceso de la marcha fitoquímica, para lo cual se colocó la siguiente relación 1:4 Peso: Volumen (P/V) una parte de éter etílico en 4 partes de muestra triturada y se procedió a realizar lo siguiente:²⁶

En un vaso de precipitación se coloca una porción de la droga y éter hasta humectar, con la ayuda de una varilla se agita hasta que se forme una pasta.

1. Esta pasta se coloca en papel absorbente hasta la total absorción del éter etílico.
2. Se repite el procedimiento las veces que sean necesarias para eliminar la mayor cantidad de grasa y se procede a la eliminación total del solvente a través de la evaporación del mismo.

Después de realizar todos estos pasos, se procedió con un secado para ella unjbef el envasado, que consiste en colocar la droga en un recipiente de vidrio protegido de la luz en un lugar fresco y seco con buena ventilación además de un espacio físico limpio y libre de insectos.

Una vez envasado se etiqueto con los datos de identificación de la planta (nombre científico), nombre de las personas que recolectan, fecha de recolección, lugar de recolección y fecha de envasado. (Anexo N°4)

2.4.4 Análisis microbiológico

²⁶ CASTRO Lina, ALZATE, Mónica GUERRERO, Edith, Estudio preliminar de la bioactividad de extractos de semillas de *Annona cherimolia* de la familia Annonaceae, Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN 0122-1701, Abril del 2010.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez

2.4.4.1 Recuento estándar en placa (REP) (Anexo N°5)

El siguiente esquema presenta los pasos a desarrollarse para obtener el recuento estándar en placa:

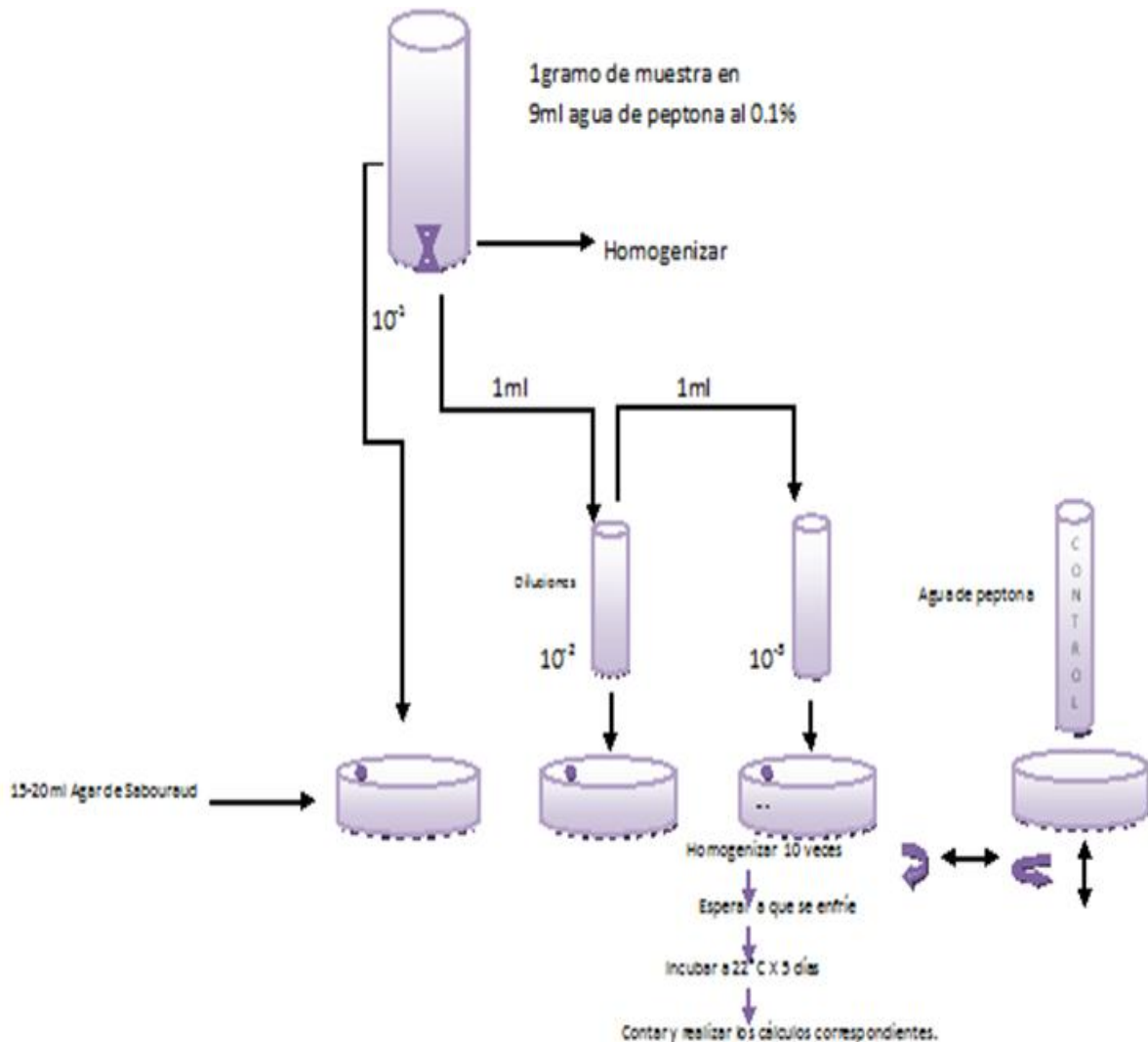


Figura 9: Recuento Estándar en Placa

2.4.4.2. Recuento de Mohos y Levaduras

El siguiente esquema presenta los pasos a desarrollarse para obtener el recuento de mohos y levaduras: (Anexo N° 6)

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez

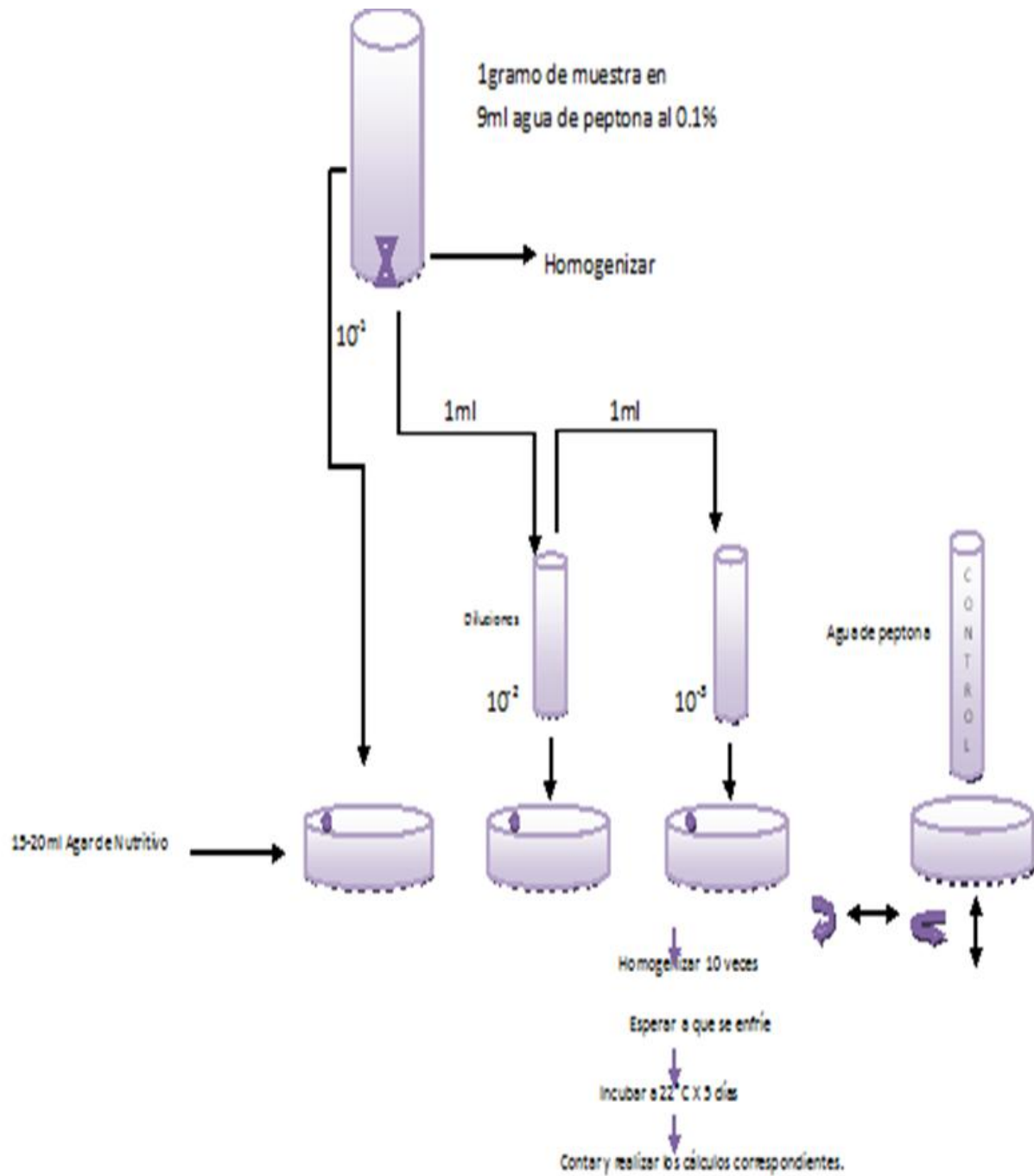


Figura 10: Recuento de Mohos y Levaduras

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.4.5 Obtención de extractos

Para la obtención de extractos, es necesario determinar el contenido de humedad a través del método gravimétrico.

2.4.5.1 Percolación

El procedimiento para llevar a cabo la percolación fue el siguiente:

Armar el percolador en un soporte y colocar el equipo de venoclisis

1. Una vez pesada la droga colocar en el percolador y humectar con alcohol por 15 minutos
2. Igualar el volumen a 3 veces su peso.
3. Colocar un papel filtro del diámetro del percolador sobre la droga y colocar sobre el papel las canicas para evitar que el papel se eleve.
4. Dejar en reposo por 24 horas a temperatura ambiente y protegido de la luz.
5. Transcurrido este tiempo proceder a abrir la llave del equipo de venoclisis y dejar gotear XX gotas por minuto.
6. Se obtiene 2 fracciones:
 - **Fracción A:** es igual al 75% del peso de la droga, porque es donde existe mayor concentración de los principios activos.
 - **Fracción B:** es el resto del filtrado hasta el agotamiento de la droga que se comprueba mediante una prueba que corrobore la ausencia de un metabolitos o por cromatografía de capa fina.

2.4.5.2 Liofilización

Luego de obtener el extracto de la percolación se repartió en los vasos del equipo de liofilización para obtener un extracto libre de agua. **(Anexo N°8)**

2.4.6 Ensayo de toxicidad en Artemia salina

Para realizar esta prueba biológica fue necesario trabajar tres días consecutivos, preferentemente en las mismas horas de trabajo. **(Anexo N° 9)**

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



DIA 1

1. Preparación del agua de mar
2. Incubación de los huevos de Artemia Salina
3. Preparación de las diluciones de la sustancia a ensayar.

1. Preparación de agua de mar

Se pesó 38 gramos de sal de mar y se disolvió hasta un litro de solución con agua destilada, filtrando con papel Whatman.

2. Incubación de los huevos de Artemia salina

Se pesaron 100mg de huevos y se depositaron en un recipiente que contiene 1000 ml de agua de mar, se los colocó en una estufa a una temperatura adecuada (25 – 27°), dejándolo por 24 horas.

3. Preparación de las diluciones

Las sustancias se ensayaron a 1000, 100 y 10 ppm (partes por millón). Las diluciones se obtuvieron de la siguiente forma:

Para la dilución de 1000 ppm, se partió de la solución madre

Para la dilución de 100 ppm, se parte de la de 1000ppm:

0,7ml de sol de 1000 ppm + 6.3 ml de agua de mar

Para la dilución de 10 ppm, se parte de la de 100ppm:

0,7ml de sol de 100 ppm + 6.3 ml de agua de mar

En donde:

mg: miligramo

µl: micro litro

ml: mililitro

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ppm: parte por millón

El control que se aplicó fue en agua de mar, esto nos asegura que la probable muerte de las artemias no se debe a otro factor más que el de la actividad tóxica de la sustancia.

DIA 2

Luego de las 24 horas de incubación, se colocó las artemias en las diluciones respectivas. El número estimado de artemias por dilución debe ser de 10 en cada tubo de ensayo.

Esta es la etapa más laboriosa del ensayo, debido al tamaño reducido de la Artemia. La distribución se realizó con ayuda de una pipeta, sin agitar el contenido del frasco se recogieron los nauplios vivos, los que son muy evidentes por el movimiento que tiene, se colocó el número adecuado de nauplios en cada uno de los tubos a ensayar, se incubaron entre 20 y 25°C.

DIA 3

Transcurridas las 24 horas de incubación, se realizó el recuento de artemias vivas y muertas que están en contacto con la sustancia de ensayo.

El recuento se lo hizo directamente en el frasco observando con una lupa por la parte superior, contra un espacio obscuro. Las artemias muertas se depositaron en el tubo de ensayo y las vivas fueron evidentes por su movimiento, se consideraron Artemia viva aun cuando sólo se observen pequeños movimientos de sus aletas.

Con los datos obtenidos del ensayo se determinó la dosis letal media (DL50), mediante un análisis de regresión lineal, presentada en el siguiente capítulo.

La escala que se utilizó para la respectiva interpretación en el análisis de regresión lineal fue la siguiente:

Interpretación:

DL50 entre 1 – 100 ppm

muy tóxica

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

DL50 entre 100- 1000 ppm

medianamente tóxica

DL50 entre 1000 ppm

atóxica.

2.4.7 Marcha fitoquímica

Una vez realizado el estudio y la comprobación botánica de la planta se procedió con el estudio químico que permitió determinar los principales grupos de constituyentes químicos que pueden estar presentes en una droga.²⁷

Las siguientes siglas que se presentan, ayudaran en el estudio químico para determinar los compuestos químicos:

SIGLAS	SIGNIFICADO
AA	AMINOACIDOS
CF	COMPUESTOS FENOLICOS
TA	TANINOS
FL	FLAVONOIDES
TE	TRITERPENOSY/O ESTEROIDES
QU	QUINONAS
CA	CARDIOTONICOS
LE	LEUCOANTOCIANIDINAS
AL	ALCALOIDES

Tabla 3: siglas de denominación de compuestos químicos

Se presenta a continuación la escala que se utilizará en el estudio químico:

Resultado	Asignación
-----------	------------

²⁷SHARAPIN Nikolai. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéutico. Quebecor Impreandes. Convenio Andres Bello. Bogota – Colombia. 2000. Pag.198.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



NEGATIVO	-
DUDOSO	+/-
POSITIVO	+
FRANCAMENTE POSITIVO	++
NO DETERMINADO	ND

Tabla 4: escala utilizada en el estudio fitoquímico de la droga

El procedimiento que se siguió para obtener los compuestos químicos presentes en la droga se detallan en el **ANEXONº10**.

2.4.7.1 Procedimiento de las reacciones realizadas de la marcha fitoquímica

En la tabla se presenta los procesos que se realizaron para la obtención de las reacciones: (Anexo N° 11, Anexo N° 12, Anexo N° 13, Anexo N° 14)

Ensayo	Procedimiento
Determinación de aminoácidos: Ensayo de la Ninhidrina	Ensayo en papel y tubo: Con una tira de papel filtro utilizando guantes se introducir en el extracto alcohólico o acuoso, esperar que se seque y colocar una gota de ninhidrina sobre la mancha, llevar a la estufa a 50°C por 5 minutos y observar. El desarrollo de coloraciones violeta, azul o rosada se considera la prueba positiva.
Determinación de flavonoides: Ensayo de Shinoda y otras sustancias con núcleo γ-benzopirona	En un 1ml de de extracto colocar cintas de magnesio y añadir por las paredes del tubo 1ml de ácido clorhídrico concentrado. Para patrón comparativo realizar en 0,5ml de morina. La aparición de coloraciones naranja o

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



	violeta es prueba positiva.
Determinación de Leucoantocianidinas: Ensayo de Rosenheim	Colocar unos 2 ml del filtrado en un tubo de ensayo, añadir 1 ml de ácido clorhídrico concentrado. Calentar en baño de agua hirviendo durante 15 minutos y añadir 0,8ml de alcohol amílico y agitar, dejar que se separen las fases. La aparición de coloraciones rojas es prueba positiva de la existencia de leucoantocianidinas en la muestra, para fines comparativos utilizar como patrón el ácido tánico.
Determinación de compuestos fenólicos: Ensayo del tricloruro férrico	En 1ml de extracto colocar una gota de cloruro férrico al 1% acuoso o alcohólico, esperar el cambio de coloración que indica la positividad de la prueba.
Determinación de taninos	1ml de extracto en un tubo de ensayo añadir 1ml del Reactivo Gelatina-Sal, centrifugar si es necesario para observar el precipitado. La presencia de precipitado indica la positividad de la prueba.
Determinación de Isoprenoides: Ensayo de Liebermann – Buchard	En un tubo colocar 1ml de filtrado orgánico, añadir 1ml de anhídrido acético. Por la pared del tubo y con mucha precaución, dejar resbalar 1-2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. El cambio de coloración indica la

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



	positividad.
Determinación para nafto-y antraquinonas: Ensayo de Borntranger	Colocar en un tubo de ensayo unos 5ml de filtrado acuoso. Añadir 1ml de peróxido de hidrógeno al 20% y 1ml de ácido sulfúrico al 8%. Calentar la mezcla en un baño de agua hirviendo durante 15 minutos. Enfriar. Añadir 5ml de tolueno. Agitar sin emulsionar, recuperar la fase toluénica trasvasar 2ml fase toluénica a un tubo de ensayo, añadir 1ml de una solución de hidróxido de sodio al 5% con amoníaco al 2%. La prueba se considera positiva cuando aparecen coloraciones que van del rosado al rojo intenso en la capa alcalina.
Determinación de Cardiotónicos	En un tubo de ensayo colocar 1ml de filtrado, añadir 0.5ml de Reactivo de Kedde (mezclar 1ml de solución A con 1ml de solución B para preparar este reactivo antes de su uso) esperar 10 minutos a temperatura ambiente, la presencia de coloración indica la positividad del ensayo.
	Ensayo de Dragendorf: En 1mL de solución colocar 3 gotas del reactivo. La presencia de precipitado y cambios de coloración indica la positividad del ensayo.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



<p>Determinación de Alcaloides</p>	<p>Ensayo de Mayer: En 1mL de solución colocar 3 gotas del reactivo.</p> <p>Ensayo de Wagner: En 1mL de solución colocar 3 gotas del reactivo</p> <p>Ensayos confirmatorios</p> <p>Ensayo con solución de taninos: En 1mL de extracto colocar 0,5mL de HCl al 1% y añadir 3 gotas de reactivo.</p> <p>Ensayo con solución de ácido fosfowolfrámico: En 1mL de extracto colocar 0,5mL de ácido clorhídrico al 1% y añadir 3 gotas de reactivo.</p> <p>Ensayo con ácido fosfomolibdico: En 1mL de extracto colocar 0,5mL de ácido clorhídrico al 1% y añadir 3 gotas de reactivo.</p> <p>Ensayo con ácido pícrico: En 1mL de extracto colocar 0,5mL de ácido clorhídrico al 1% y añadir 3 gotas de reactivo.</p> <p>Ensayo con reactivo de Marme: En 1mL de extracto colocar 0,5mL de ácido clorhídrico al 1% y añadir 3 gotas de reactivo</p>
---	--

Tabla 5: procedimientos para determinar los compuestos químicos presentes en la droga

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.4.8 Muestreo del modelo de experimentación

Se realizó la técnica in vitro de motilidad y supervivencia de la lombriz de tierra, según el estudio (Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto" Actividad antiparasitaria de una decocción de Mentha piperita Linn M. Sc. José de la Paz Naranjo, Lic. María Acelia Maceira Cubiles, M. Sc. Aida Corral Salvadó y Téc. Carlos González Campos)²⁸

Se utilizó como modelo biológico la lombriz terrestre del género rojo californiana en estadio adulto, con un tamaño entre 6 a 10 cm de largo y 3 a 5mm de diámetro, con un peso de 0,3 gramos; suministradas por un proveedor particular. **(Anexo N°15)**

Las mismas fueron trasladadas al Laboratorio de Farmacognosia de la Universidad de Cuenca en cajas plásticas con respiraderos. Una vez trasladadas al Laboratorio se sometió a la eliminación de la materia orgánica mediante un lavado y se procedió con la selección de las mismas de acuerdo al peso de 0,3 gramos. **(Anexo N°16, Anexo N°17)**

Las lombrices se mantuvieron en un medio rico en materia orgánica a una temperatura de 25 a 27°C y una humedad relativa del 80% y pH de 7.

Para la observación se formaron 9 grupos para las sustancias de ensayo, control positivo, control negativo, blanco y diluciones. **(Anexo N°18)**

La actividad vermífuga se evaluó mediante la observación directa en las lombrices para detectar los cambios en la motilidad y la muerte en función del tiempo. **(Anexo N°19)**

2.5 Manejo estadístico de los datos

Para obtener los resultados del presente estudio se aplicó método in vitro de la actividad antihelmíntica y estos datos fueron recopilados en diferentes tablas o formatos preestablecidos que diferencian el efecto parálisis y muerte de los mismos

²⁸ http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol35_3_06/mil13306.htm.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

y a su vez se fueron describiendo los diferentes comportamientos de estos parásitos, con los parámetros establecidos que se valoraron. **(Anexo N° 20)**

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

CAPITULO III

3.1. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSION

Para poder aplicar el estudio en las lombrices con el extracto alcohólico re disuelto en agua se realizó un estudio previo de la planta, en el que se identificaron los componentes de la misma como se muestra a continuación:

Identificación y control de las drogas

Nombre científico: *Cucúrbita Aff. maxima.*

Nombre común: Zapallo

Droga utilizada: Semillas

Recolección:

Latitud: 03° 03' 19"

Longitud: 78° 48' 00"

Elevación: 2430m

1. Ensayos organolépticos

Características	Droga fresca	Droga seca
Color	Verde	Verde
Sabor	Astringente	Astringente
Olor	Sui generis	Sui generis
Textura	Lisa	Lisa

Tabla 6: Ensayos Organolépticas

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



2. Ensayos Botánicos

Características macroscópicas	Características microscópicas								
<p>1. Generales: Color de la semilla: Verde Aspecto externo: Verde Aspecto interno: Blanco Consistencia: Fibrosa Olor: Suigeneris Sabor: Astringente Tamaño Largo: 1cm ancho: 0,8cm Presencia de vellosidades: no Forma de la semilla: Ovalada Borde de la semilla: Liso</p>	<p>1.Corte Histológico y Micrografía de la droga Presencia de células grasas</p> <p>2.Estudio Histoquímico</p> <table border="1"> <tr> <td>Almidones</td> <td>Neg.</td> </tr> <tr> <td>Determinación de tricomas</td> <td>Neg.</td> </tr> <tr> <td>Determinación Oxalatos de calcio</td> <td>Neg.</td> </tr> <tr> <td>Determinación Carbonato de calcio</td> <td>Neg.</td> </tr> </table>	Almidones	Neg.	Determinación de tricomas	Neg.	Determinación Oxalatos de calcio	Neg.	Determinación Carbonato de calcio	Neg.
Almidones	Neg.								
Determinación de tricomas	Neg.								
Determinación Oxalatos de calcio	Neg.								
Determinación Carbonato de calcio	Neg.								

Tabla 7: ensayos botánicos

3. Ensayos farmacodinámicos y biológicos

Principios Amargos	Negativo
Principios Astringentes	Positivo
Aceites Esenciales	Negativo

Tabla 8: Ensayos farmacodinámicos y biológicos

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



4. Ensayos de Control de Pureza

Determinación de semillas ennegrecidas	0%
Determinación de otras partes de la planta	1%
Materia orgánica extraña	0,4%
Materia inorgánica extraña	0,2%
Contenido de humedad	1 %
Cenizas	1,05%
Recuento de bacterias aerobias mesofilas	$1,4 \times 10^3$
Recuento estándar de Mohos y levaduras	$1,2 \times 10^2$

Tabla 9: Ensayos de Control de Pureza

5. Ensayos Físico Químicos

ENSAYO	RESULTADO EN E. ACUSO	RESULTADO EN E. ALCOHÓLICO
Reconocimiento de los glúcidos:		
➤ Ensayo De Fheling	Positivo	No realizado
➤ Ensayo De Molish	Negativo	No realizado
➤ Formación De Osazonas	Negativo	No realizado
➤ Ensayo De Selivanoff	Negativo	No realizado
➤ Ensayo De Las Pentosas	Negativo	No realizado
Reconocimiento de polisacáridos homogéneos:		
➤ Almidón	Negativo	No realizado

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



Reconocimiento de polisacáridos heterogéneos: <ul style="list-style-type: none"> ➤ Gomas ➤ Mucílagos ➤ Materias pécticas 	<p>Negativo</p> <p>Negativo</p> <p>Positiva</p>	<p>No realizado</p>
Aminoácidos <ul style="list-style-type: none"> ➤ Ensayo en papel ➤ Ensayo en tubo ➤ Cromatografía en papel 		<p>Positivo</p> <p>Positivo</p> <p>No Se realizo</p>
Glicósidos cianogénicos <ul style="list-style-type: none"> ➤ Más concretamente heterósidos 		<p>Negativo</p>
Compuestos fenólicos <ul style="list-style-type: none"> ➤ Compuestos fenólicos en general ➤ Taninos del tipo pirocatecolicos ➤ Taninos del tipo pirogalotánicos 		<p>Negativo</p> <p>Positivo</p> <p>Negativo</p>
Coumarinas <ul style="list-style-type: none"> ➤ Ensayo de hidroxamato férrico ➤ Ensayo de Baljet 		<p>Negativo</p> <p>Negativo</p>

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



Reacciones de coloración ➤ Ensayo de Shinoda Para flaonas, flovononoles, Flovononas, Isoflavonas, Isoflavonas charconas auronas ➤ Identificación de colorantes Antocianinas Flavonas y flavonoles Mezcla Flavononas		Negativo Negativo Negativo Positivo Negativo Negativo
Ensayo de Taninos ➤ Taninos ➤ Com. Relacionados(catequinas)		Positivo
Quinonas y deriva. Antracénicos ➤ Ensayo de Borngrtrager	No realizado No realizado	Negativo
Triterpenos y/o esteroides ➤ Ensayo de Lieberman-Burchard ➤ Esteroides	No realizado	Positivo
Saponinas	Negativo	Positivo
Heterósidos cardiotónicos ➤ Ensayo de Kedde	No realizado	Negativo
➤ Ensayo de Resinas	No realizado	Positivo

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Alcaloides		
➤ Ensayo de Dragendorff	No realizado	Negativo
➤ Ensayo de Mayer	No realizado	Negativo
➤ Ensayo de Wagner	No realizado	Negativo
➤ Ensayo de Marme	No realizado	Negativo
➤ Ensayo de ácido pícrico	No realizado	Negativo
➤ Ensayo de ácido fosfomolibdico	No realizado	Negativo

Tabla10: Ensayos Físico Químicos

6. Resultados de la marcha fitoquímica

Compuestos	Fracción A	Fracción B	Fracción C	Fracción D	Fracción E
FL	-	-	-	+	-
LE	-	-	-	-	-
CF	+	-	-	-	-
TA	+	-	-	-	+
AA	+	-	-	-	-
CA	-	-	-	-	-
TE	-	+	+	-	-
QU	-	-	-	-	-
AL	-	-	-	-	-
Dragendorff	-	-	-	-	-
Mayer	-	-	-	-	-
Wagner	-	-	-	-	-
Marme	-	-	-	-	-

Tabla11: Resultados de la Marcha fitoquímica

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

SIMBOLOS:

+/- Dudoso

+ Positivo

- Negativo

CF= compuestos fenólicos

TA = taninos

FL = flavonoides

TE = Triterpenoides y/o esteroides

QU = quinonas

CA = cardiotónicos

AL = alcaloides

LE = leucoantocianinas.

AA=aminoácidos.

3.1.1. Interpretación de datos obtenidos:

Fracción A: Se pueden determinar los compuestos hidrosolubles donde se evidencio la presencia de: taninos y aminoácidos y compuestos fenólicos.

Fracción B: Es una fracción acida, donde precipitan compuestos de carácter acido como Terpenos.

Fracción C: Es una fracción alcalina, permite identificar la presencia de compuestos que pueden encontrarse tanto en un pH acido como básico como Terpenos

Fracción D: Remanente acida, permite reconocer metabolitos que necesitan de un pH cercano a la neutralidad como los flavonoides.

Fracción E: es una fracción acuosa, permite reconocer si existen compuestos hidrosolubles como los taninos.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



Preparación de diluciones

Luego de este estudio, se realizó el estudio observacional descriptivo, para lo cual se tomo muestras de 10 lombrices y por duplicado, en el que a cada lombriz y el duplicado se le aplicó una dilución a partir del extracto madre para obtener valores más precisos, de los cuales se trabajó con un promedio entre ellos.

Este estudio consistió:

- Análisis cualitativo: contorsiones, parálisis y muerte.
- Análisis cuantitativo: parálisis y muerte frente al tiempo.

3.2. Análisis cuantitativo

A partir de 200g de droga se obtuvo 7,69g de liofilizado, con un una pureza de 99,9%. Este volumen se procedió a llevarlo a 50ml obteniendo una dilución al 15,38% siendo esta la solución madre y a partir de esta se realizaron las correspondientes diluciones:

PESO DE LIOFILIZADO	7,69g	
VOLUMEN SOLUBILIZACIÓN	50mL	
% extracto	15,38%	
SOLUCION	11,53	%
SOLUCION	7,69	%
SOLUCION	6,15	%
SOLUCION	4,6	%
SOLUCION	3,07	%
SOLUCION	1,5	%

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

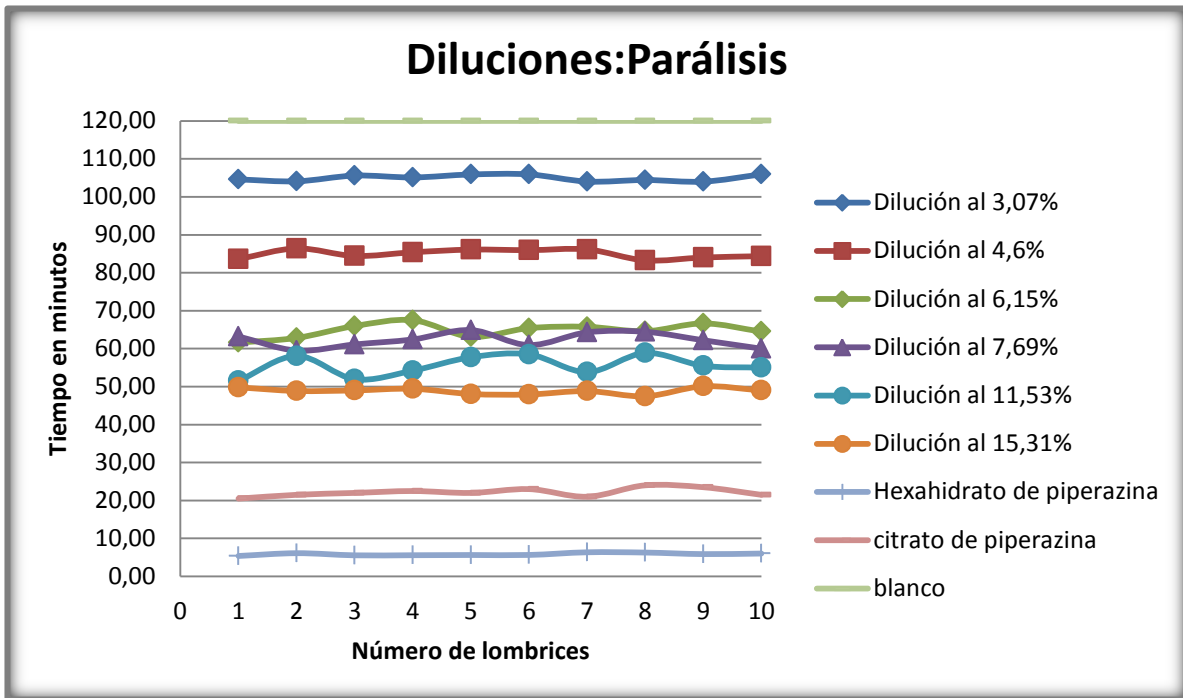
Tabla 12: Tiempo de parálisis en las diferentes diluciones

Nº de muestra	Dilución al 3,07	Dilución al 4,6	Dilución al 6,15	Dilución al 7,69	Dilución al 11,53	Dilución al 15,38	Hexahidrato de piperazina	citrato de piperazina	Blanco
1	104,60	83,61	61,60	63,22	51,53	49,82	5,39	20,50	>120,00
2	104,09	86,40	62,83	59,52	58,08	48,86	6,12	21,50	>120,00
3	105,60	84,43	65,97	61,12	51,96	49,01	5,56	22,00	>120,00
4	105,11	85,40	67,50	62,44	54,21	49,44	5,59	22,50	>120,00
5	105,90	86,10	63,14	64,89	57,75	48,06	5,64	22,00	>120,00
6	105,91	85,96	65,42	60,94	58,50	47,94	5,66	23,00	>120,00
7	104,03	86,15	65,76	64,30	53,84	48,84	6,36	21,00	>120,00
8	104,44	83,27	64,59	64,45	58,86	47,47	6,29	24,00	>120,00
9	104,01	84,03	66,64	62,22	55,50	50,09	5,88	23,50	>120,00
10	105,93	84,37	64,50	60,00	55,01	49,00	6,03	21,50	>120,00

Figura 11: Tiempo de parálisis en diferentes diluciones de *Cucúrbita Aff. maxima*

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



En el presente grafico, indica el tiempo en el que se produjo la parálisis, con respecto a las diluciones aplicadas al modelo biológico, donde se puede observar que las diluciones al 11,53 y 15,38%, producen la parálisis en menor tiempo, con respecto a las diluciones de 4,69; 6,15 y 7,69%.

Tabla 13: Tiempo de muerte en las diferentes diluciones

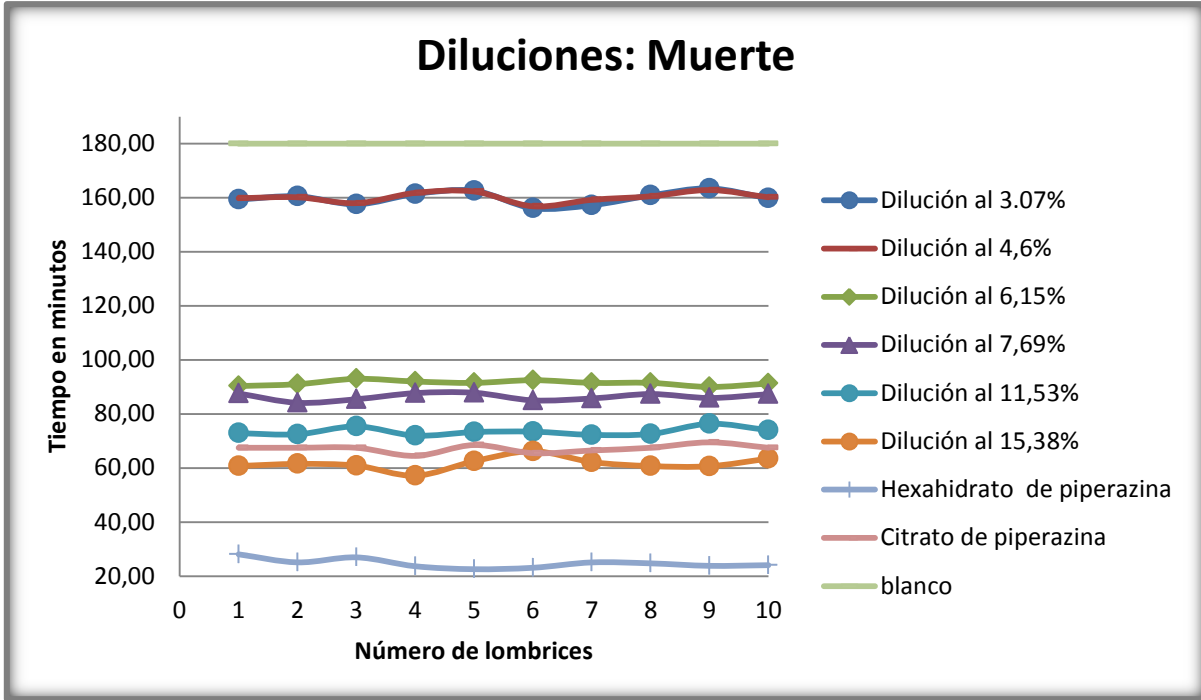
Nº de muestra	Dilución al 3,07%	Dilución al 4,6%	Dilución al 6,15%	Dilución al 7,69%	Dilución al 11,53%	Dilución al 15,38%	Hexahidrato de piperazina	Citrato de piperazina	blanco
1	159,33	159,83	90,32	87,57	72,89	60,76	28,07	67,50	>180,00
2	160,54	160,17	91,02	84,15	72,49	61,51	25,10	67,50	>180,00
3	157,58	157,99	93,00	85,45	75,39	60,90	26,95	67,50	>180,00
4	161,40	161,78	92,00	87,72	71,99	57,18	23,66	64,50	>180,00
5	162,59	162,30	91,50	87,84	73,31	62,51	22,57	68,50	>180,00
6	156,13	156,83	92,50	85,04	73,45	66,22	23,10	65,50	>180,00
7	157,25	159,23	91,50	85,74	72,28	62,21	25,08	66,50	>180,00
8	160,85	160,52	91,50	87,37	72,60	60,73	24,73	67,50	>180,00
9	163,44	162,84	90,00	85,92	76,36	60,67	23,81	69,50	>180,00
10	159,78	160,15	91,24	87,33	74,02	63,49	24,06	67,50	>180,00

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



Figura 12: Tiempo de muerte en distintas diluciones de *Cucúrbita Aff. maxima*



En el presente grafico, indica el tiempo en el que se produjo la muerte, con respecto a las diluciones aplicadas al modelo biológico donde se puede observar que las diluciones al 11,53y 15,38% producen la muerte en menor tiempo con respecto a las diluciones de 4,6; 6,15 y 7,69 donde se puede ver que el tiempo de muerte de estas diluciones son iguales, donde se puede observar que a mayor dilución menor tiempo de muerte.

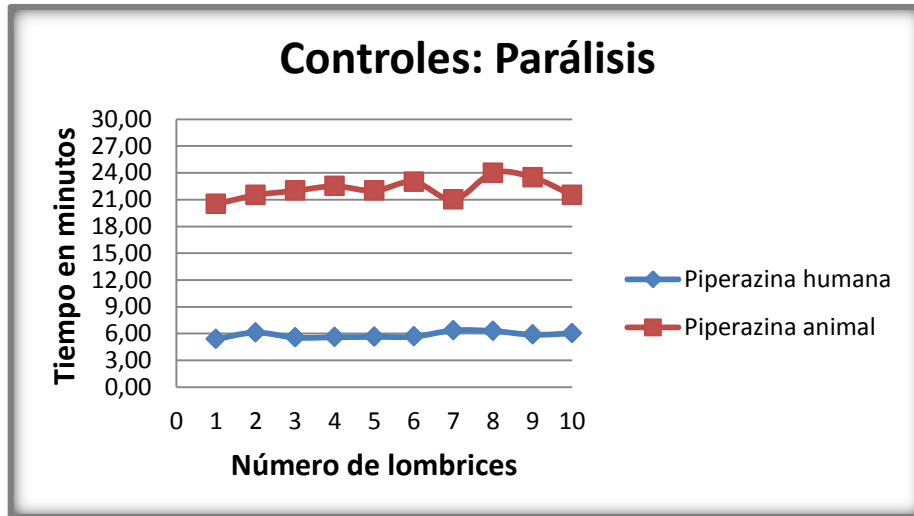
AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Figura 13: Tiempo de parálisis en controles positivos



En el presente grafico se indica que el tiempo de parálisis de las lombrices con Piperazina humana (Hexahidrato) es menor con respecto a la Piperazina animal (citrato), lo que permite evidenciar que la forma farmacéutica de Hexahidrato tiene mayor efectividad frente a la de citrato ya que produce efecto en un tiempo más corto.

AUTORAS:

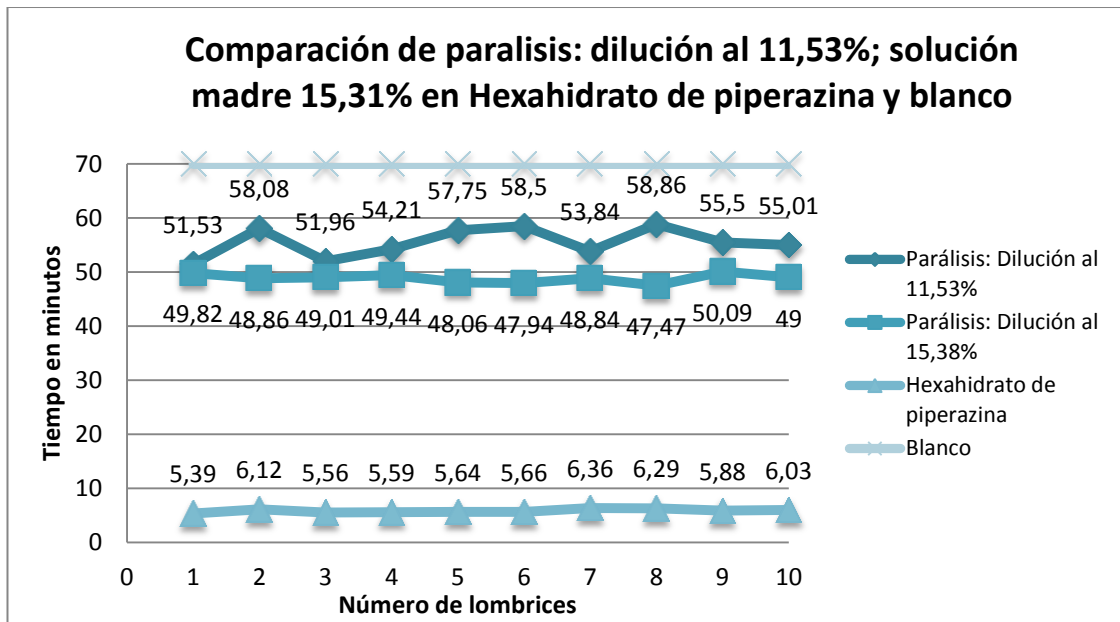
Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



Tabla 14: Comparación de Parálisis de diluciones 11,53 y 15,38% con Hexahidrato de Piperazina y blanco

Nº de muestra	Parálisis: Dilución al 11,53%	Parálisis: Dilución al 15,38%	Hexahidrato de piperazina	Blanco
1	51,53	49,82	5,39	>70,00
2	58,08	48,86	6,12	>70,00
3	51,96	49,01	5,56	>70,00
4	54,21	49,44	5,59	>70,00
5	57,75	48,06	5,64	>70,00
6	58,50	47,94	5,66	>70,00
7	53,84	48,84	6,36	>70,00
8	58,86	47,47	6,29	>70,00
9	55,50	50,09	5,88	>70,00
10	55,01	49,00	6,03	>70,00

Figura 14: Comparación de parálisis de Hexahidrato de Piperazina con las diluciones de 11,53 y 15,38% de *Cucúrbita Aff. maxima*



Comparando el Hexahidrato de Piperazina frente a las diluciones de 11,53 y 15,38% se puede observar que las dos diluciones tienen tiempos de parálisis similares, si

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

bien el tiempo de parálisis demora un poco más en relación al Hexahidrato de piperazina se observa que si hay un efecto farmacológico.

Tabla 15: Comparación de Parálisis: Diluciones 11,53%, 15,38% y Citrato de piperazina

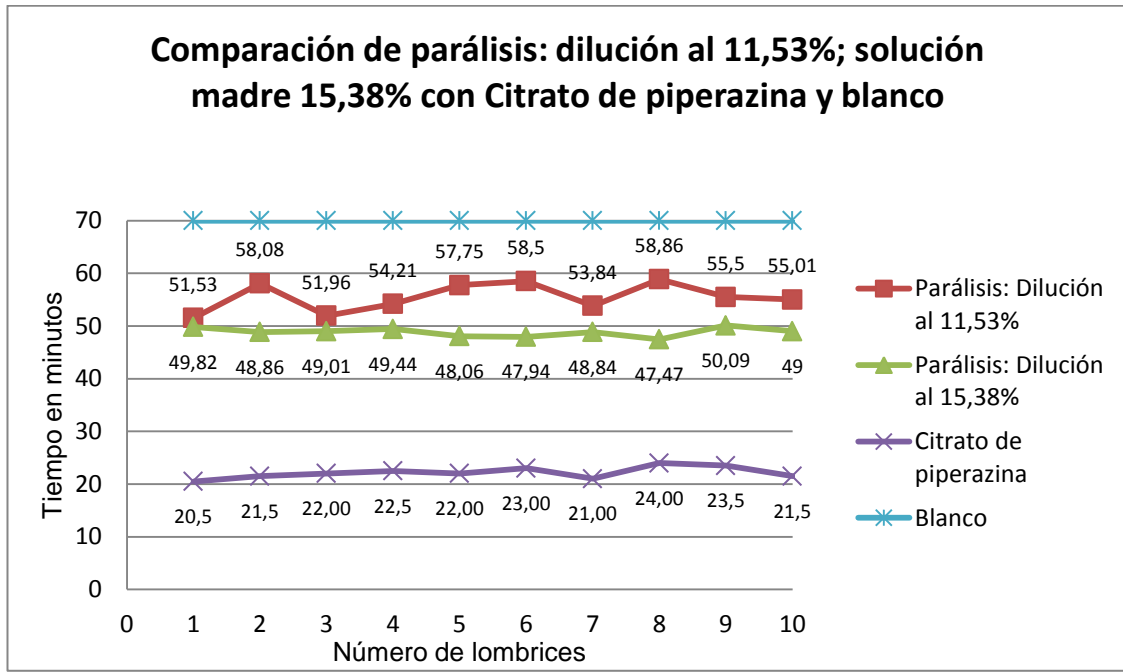
Nº de muestra	Parálisis: Dilución al 11,53%	Parálisis: Dilución al 15,38%	Citrato de piperazina	Blanco
1	51,53	49,82	20,50	>70,00
2	58,08	48,86	21,50	>70,00
3	51,96	49,01	22,00	>70,00
4	54,21	49,44	22,50	>70,00
5	57,75	48,06	22,00	>70,00
6	58,50	47,94	23,00	>70,00
7	53,84	48,84	21,00	>70,00
8	58,86	47,47	24,00	>70,00
9	55,50	50,09	23,50	>70,00
10	55,01	49,00	21,50	>70,00

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



Figura 15: Comparación de parálisis de Citrato de Piperazina con las diluciones de 11,53% y 15,38% de *Cucúrbita Aff. maxima*



Haciendo un análisis se observa que el Citrato de Piperazina frente a las diluciones de 11,53% y 15,38% tienen un efecto farmacológico similar, sin embargo la dilución al 15,38% produce parálisis en menor tiempo en relación al citrato de piperazina.

AUTORAS:

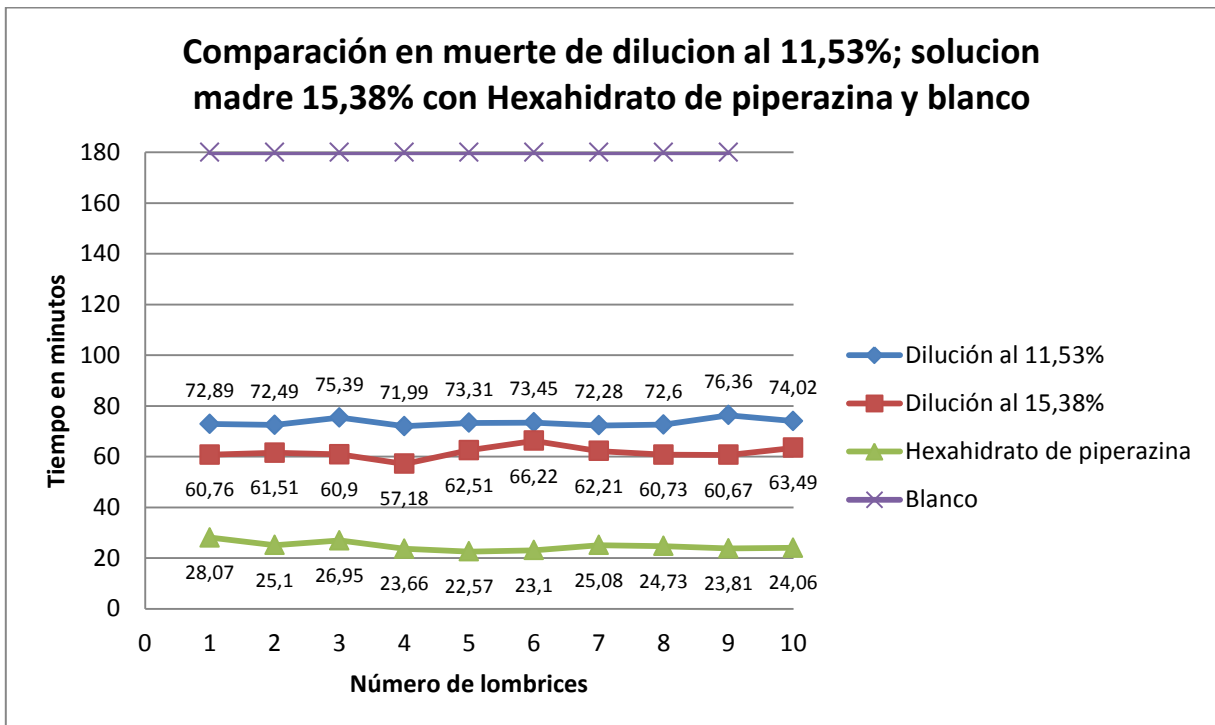
Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



Tabla 16: Comparación de Muerte: Diluciones 11,53%, 15,38% y Hexahidrato de Piperazina

Nº de muestra	Dilución al 11,53%	Dilución al 15,38%	Hexahidrato de piperazina	Blanco
1	72,89	60,76	28,07	>180,00
2	72,49	61,51	25,10	>180,00
3	75,39	60,90	26,95	>180,00
4	71,99	57,18	23,66	>180,00
5	73,31	62,51	22,57	>180,00
6	73,45	66,22	23,10	>180,00
7	72,28	62,21	25,08	>180,00
8	72,60	60,73	24,73	>180,00
9	76,36	60,67	23,81	>180,00
10	74,02	63,49	24,06	>180,00

Figura 16: comparación de muerte con Hexahidrato de piperazina en relación a diluciones de 11,53% y 15,38%



AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Comparando el Hexahidrato de piperazina con las diluciones del 11,53 a y 15,38% se observa que las dos diluciones tienen efecto farmacológico, pero la dilución al 15,38% tiene un mayor efecto farmacológico ya que el tiempo de muerte se produce a partir del minuto 60 y la de 11,53 a partir del minuto 72.

Tabla 17: Comparación de Muerte: Diluciones 11,53, 15,38% y Citrato de piperazina

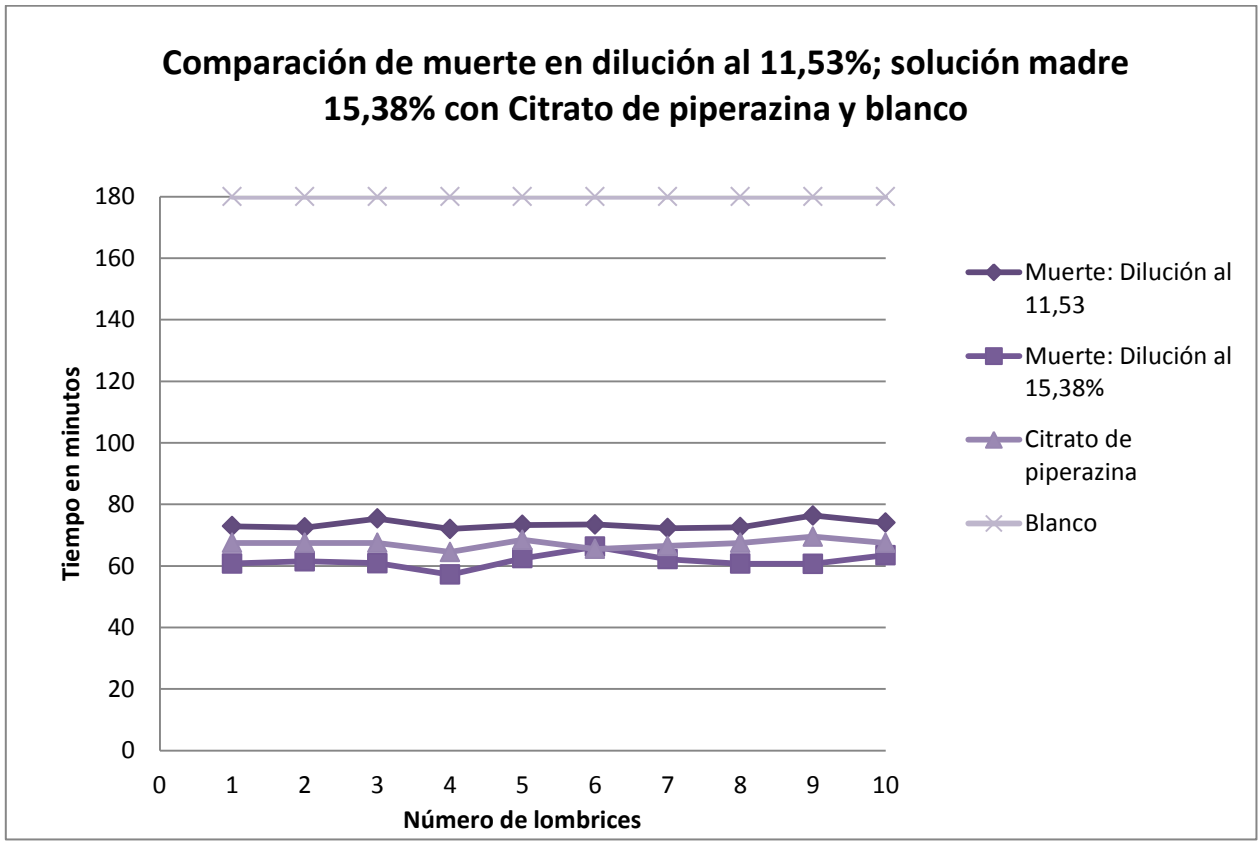
Nº de muestra	Muerte: Dilución al 11,53	Muerte: Dilución al 15,38%	Citrato de piperazina	Blanco
1	72,89	60,76	67,5	>180,00
2	72,49	61,51	67,5	>180,00
3	75,39	60,90	67,5	>180,00
4	71,99	57,18	64,5	>180,00
5	73,31	62,51	68,5	>180,00
6	73,45	66,22	65,5	>180,00
7	72,28	62,21	66,5	>180,00
8	72,60	60,73	67,5	>180,00
9	76,36	60,67	69,5	>180,00
10	74,02	63,49	67,5	>180,00

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



Figura 17: Comparación de muerte con citrato de piperazina y las diluciones de 11,53 y 15,38%



Comparando las diluciones de 11,53 y 15,38% con citrato de piperazina ambas tienen efecto farmacológico similar con el citrato de piperazina ya que los tiempos obtenidos desde los 60 minutos hasta los 75 minutos son próximos en los 3 casos.

3.3. Análisis Regresión Lineal en actividad toxica en *Cucúrbita Aff. maxima*

Tablas:

	Muertos	Vivos	Total
	18	2	20
10ppm	19	1	20

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

	20	0	20
	13	7	20
100ppm	19	1	20
	16	4	20
	1	19	20
1000ppm	0	20	20
	2	18	20

Tabla 18: Resultados de Artemia Salina

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez

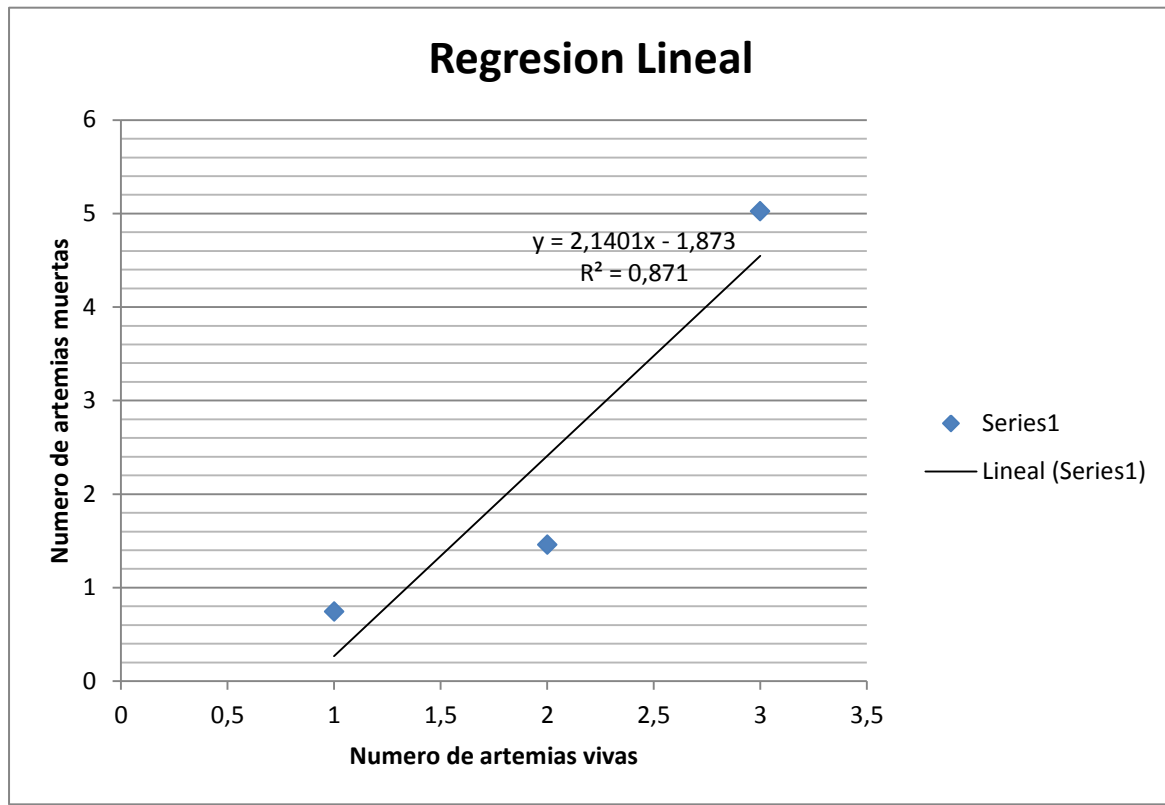


Figura 18: regresión lineal en artemia salina

Respuestas:

R = 0,933

R² = 0,871

a = 0,504

b = 0,238

Interpretación:

De acuerdo a los resultados obtenidos la actividad toxica en cucúrbita Aff. Máxima no presenta actividad toxica por lo tanto si es apto para el consumo humano.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



3.4. Análisis cualitativo

3.4.1. Dilución al 1,5%

Al aplicar la dilución al 1,5% en las lombrices, para determinar la parálisis, no se observó ningún comportamiento anormal dentro de los 180 minutos, correspondiente a 3 horas. De igual manera al aplicar una misma dilución al 1,5% para determinar la muerte, tampoco se observó ningún comportamiento anormal dentro de los 180 minutos correspondientes a 3 horas.

3.4.2. Control Negativo: Parálisis y Muerte con Suero Fisiológico y Agua Destilada

Al aplicar agua destilada y suero fisiológico en las lombrices, no se observó ningún comportamiento anormal, en cuanto a la parálisis y muerte, dentro de los 180 minutos, correspondiente a 6 horas. Por lo que se puede decir que el agua no afecta a ninguna de las estructuras morfológicas de la lombriz ya que su medio vital también puede darse en un medio acuoso.

3.4.3. Análisis de comportamiento de modelos biológicos en función al tiempo de exposición

Al exponer a los modelos biológicos a diferentes diluciones se observaron ciertos comportamientos como: Contorsiones, parálisis y muerte. Para lo cual se realizó un análisis cualitativo de dichos comportamientos en los biológicos.

Para poder interpretar de mejor manera se asignó valores a los distintos comportamientos como se indica en la siguiente tabla:

Nulo	-
Leve	+
Moderado	++
Intenso	+++

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



Tabla 19: Nomenclatura de denominación

CONTORSIONES

dilución / tiempo	15m in	30m in	45m in	60m in	75m in	90m in	105 min	120 min	135 min	150 min	165 min	180 min
1,5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3,07%	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
4,6%	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5%	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7,69%	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11,53 %	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15,38 %	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 20: Observación de contorsiones

Como se puede observar las contorsiones que realizaron los modelos biológicos se dio en menor tiempo de acuerdo a la dilución a la que eran expuestas, además que el número de contorsiones variaba de acuerdo a la dilución así se puede observar que en la dilución al 3,07% no hubo contorsiones en comparación con la dilución al 15% que tubo contorsiones a los 30 minutos y fueron muy seguidas.

PARALISIS

dilución / tiempo	15min	30min	45min	60min	75min	90min	105min	120min	135min	150min	165min	180min
1,5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3,07%	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-
4,6%	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-
6,15%	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-
7,69%	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
11,53%	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
15,38%	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 21: Observación de parálisis

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
 Andrea Paola Vásquez Álvarez



La parálisis de los modelos biológicos se produjo de acuerdo a las diluciones a las que fueron sometidas, se puede observar que en las diluciones más bajas el efecto de la parálisis se dio en mayor tiempo y en el caso de la dilución al 3,07% no se dio parálisis.

MUERTE

dilución / tiempo	15m in	30m in	45m in	60m in	75m in	90m in	105 min	120 min	135 min	150 min	165 min	180 min
1,5%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3,07%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4,6%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++
6,15%	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-
7,69%	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-
11,53 %	-	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-
15,38 %	-	-	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 22: Observación de muerte

La muerte de los modelos biológicos se produjo de igual manera de acuerdo a la dilución a la que fueron expuestas y en el caso de la dilución al 3,07% y 4,6% no se produjo muerte en el tiempo que se realizó la prueba, después de transcurrido este tiempo los modelos biológicos empezaban a sufrir cambios debido a que conforme más tiempo pasaba perdían su medio adecuado, por lo tanto la muerte se producía por otros factores y no por efecto de las diluciones.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.5. DISCUSION

De acuerdo con los datos obtenidos y la investigación bibliográfica permite el análisis de la siguiente investigación:

En la actualidad según la OMS se estima que alrededor del 80% de la población utiliza medicina alternativa herbolaria (Fitoterapia) como tratamiento paralelo a la medicina tradicional y su uso ha estado siempre muy arraigado a la tradición. (Plantas medicinales y Medicina natural, 2009)

El presente estudio se encamino en el afán de corroborar la aplicación empírica de las semillas de Cucurbitáceas en los tratamientos para parasitosis principalmente de helmintiasis corroborando en el estudio Fitofármacos en la Atención Primaria de la Salud: Disponibilidad y Uso, en Cuba, 2002 después del análisis del uso de Fitoterápicos se pudo ver que las cucurbitáceas son usadas para tratamientos de enfermedades parasitarias empíricamente.

Marcha fitoquímica

El manejo de la droga se realizó de acuerdo a la marcha fitoquímica de Domínguez, debido a que la droga es una semilla y por su alto contenido de grasa, y el desengrasado se debe tener en cuenta que pueden existir diferencias en la actividad biológica de los extractos desengrasados frente a los organismos ensayados, posiblemente por las diferencias en la absorción, metabolismo y excreción de los metabolitos secundarios por parte de estos organismos, es decir, a sus diferencias genéticas y fisiológicas; se procedió con el desengrasado de la misma y se procedió de acuerdo a la técnica aplicada en el ESTUDIO PRELIMINAR DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE EXTRACTOS DE *Annona cherimolia* Mill (Chirimoya), 2008.

Realizada la marcha fitoquímica en extracto alcohólico se puede evidenciar la presencia de carbohidratos, pectinas, aminoácidos, compuestos fenólicos tipo pirocatecolicos, flavonoles, taninos, heterósidos, Triterpenos y esteroides y resinas.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Los resultados del análisis fitoquímico realizados en el instituto de alimentos de la Universidad de la Habana (2002), en un estudio de análisis de la droga cruda de Cucurbitáceas, se realizó con 3 especies de cucurbitáceas en el que se aplicó cromatografía en capa fina y el desengrasado de las mismas con Soxhlet se pudo ver la presencia de aminoácidos, y de la cucurbiticina a la que se le atribuye como molécula con efecto vermífugo.

Con lo que se corrobora que la cucurbiticina que es un aminoácido, es la molécula que tiene el potencial vermífugo, a más de estos compuestos se le puede atribuir a los compuestos fenólicos y a los Triterpenos que son moléculas que actúan como antiinflamatorios, razón por la cual es utilizado en tratamientos de hipertrofia prostática según Angol Gutiérrez, 2009.

Por el contenido de aminoácidos y carbohidratos es utilizado en la fabricación de productos alimentarios en estudios realizados en Venezuela, 2010.

Modelo biológico

El uso del modelo biológico lombriz roja californiana se utilizó por la semejanza a los parásitos intestinales en cuanto a su estructura, modelo que también fue utilizado en la investigación Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto", Cuba, 2002 en plantas con efecto vermífugo.

Toxicidad del extracto de *Cucurbita Aff. maxima*

La toxicidad evaluada del extracto acuoso, con la técnica de *Artemia salina*, se pudo comprobar que el extracto es atóxico, en un estudio realizado en el Perú en el 2004 ESTUDIOS PRECLÍNICOS DE CUCURBITA MÁXIMA (SEMILLA DE ZAPALLO) UN ANTIPARASITARIO INTESTINAL TRADICIONAL EN ZONAS URBANO RURALES, se comprobó la toxicidad de la planta en ratas en donde se obtuvo los siguientes resultados, la producción de gastritis a dosis altas 9 g/kg de peso de *Cucurbita*

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

máxima equivalente a 630 g. semilla de zapallo en una persona de 70 kg., nos brinda un amplio rango de seguridad para su uso.

Efectividad del extracto

Para determinar la efectividad del extracto de *Cucúrbita Aff. maxima*, se baso en un estudio de dilución del extracto vs. Tiempo, donde se valoró parálisis y muerte de los modelos biológicos.

En este estudio se observó la efectividad del extracto al 11,53 y 15,38% como se puede ver en la figura N°16 y 17, con lo que se corrobora la efectividad del mismo.

De acuerdo al estudio realizado en Perú en el año 2004 de la efectividad del extracto obtenido por arrastre de vapor, en el cual se observo que el tiempo de parálisis de los modelos biológico fue de 38,4 minutos.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

CAPITULO IV

4.1. CONCLUSIONES

- La humedad después del proceso de secado es de 1%, que está dentro de los valores establecidos por la norma INEN 540 DETERMINACION DE PERDIDA DE PESO POR CALENTAMIENTO.
- La marcha fitoquímica del extracto alcohólico de semillas de *Cucúrbita Aff. maxima* presenta: flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, aminoácidos y Triterpenos como metabolitos secundarios. Se debe recordar que los estos resultados son cualitativos.
- Mediante la obtención del extracto seco y liofilizado de *Cucúrbita Aff. maxima*, se obtuvo una pureza del 99,0% del total de la droga utilizada.
- El extracto alcohólico re disuelto de las semillas de *Cucúrbita Aff. máxima* preparada a partir de la solución madre (15,38%) presenta efecto vermífugo, este hecho se pudo comprobar al realizar varias diluciones y observar que la dilución al 11,53% y la solución madre produjeron parálisis y muerte en el modelo biológico en el cual se realizó el estudio.
- Luego de evaluar la toxicidad de la droga mediante el ensayo con artemia salina se confirmó que el extracto es atóxico por lo tanto el extracto si se puede emplear en humanos.
- Se realizaron varias diluciones a partir de la solución madre y se observó que la dilución al 11,53% y la solución madre (15,38%) fueron las que produjeron parálisis y muerte sobre los modelos biológicos en el tiempo establecido (3

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

horas) además durante ese tiempo se observó el comportamiento que presentaron como el número de contorsiones, parálisis y muerte.

- Se evaluó el potencial vermífugo del extracto alcohólico de disuelto en agua de semillas de *Cucúrbita Aff. maxima*. en los modelos biológicos de forma in vitro frente a la piperazina animal (Citrato de piperazina) y piperazina humana (Hexahidrato de piperazina) y se observó que el Hexahidrato de piperazina y dilución del 11,53% y la solución madre (15,38%) tienen efecto farmacológico comparable con estos fármacos ya que produjeron muerte de los mismos.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

4.2. RECOMENDACIONES

Ante el estudio presentado se recomienda:

- Se pueden realizar estudios in vivo en otros modelos biológicos como protozoarios debido a que las patologías parasitarias no son aisladas sino asociadas a otros parasitosis.
- Se puede realizar estudios cuantitativos de los metabolitos presentes en las semillas de la planta ya que los estudios realizados hasta la presente fecha solo son cualitativos.
- Se puede probar el efecto vermífugo de *Cucúrbita Aff. maxima* en los modelos biológicos a dosis repetidas, es decir, a la hora, dos horas y tres horas para observar el efecto que producen.
- Al momento de realizar la experimentación en los modelos biológicos se debe controlar variables como temperatura, ruido, luz, cantidad de oxígeno ya que estos afectan en el comportamiento de los modelos y ayudan a analizar de mejor manera.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

BIBLIOGRAFÍA:

1. GALLEGO Berenger Jaime, Manual de Parasitología, Morfología y Biología de los parásitos de interés sanitario, Ediciones de la Universidad de Barcelona, 2006, Pág. 33.
2. "Parásitos Intestinales: Enemigos invisibles", Disponible en: es.scribd.com/doc/3448914/parasitosis. Acceso: 16 de mayo de 2011.
3. MONTOYA, Villafañe Hugo Humberto, Microbiología básica para el área de la salud y afines, Editorial Universidad de Antioquia, Segunda edición, 2008, Pág. 195.
4. BOTERO David, RESTREPO Marcos, Parasitosis Humanas, Editorial Corporación para Investigaciones biológicas, Cuarta Edición, Medellín, Colombia, 2005, Pág. 93
5. URIBARREN, Teresa, "Nemátodos y Tremátodos", Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, UNAM, 2011, Disponible en:
<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/trematodos/generales.php>, Acceso: 22 de mayo de 2011
6. MURRAY Patrick, ROSENTHAL Ken, PFALLER Michael, Microbiología Médica, Publicaciones Elsevier Mamby, Quinta edición, Madrid España, 2006, Pág. 907
7. MORENO, Ana, "Apuntes de Zoología", Disponible en:
<http://www.ucm.es/info/tropico/docencia/Textos/C3Trematodos.pdf>, Acceso: 22 de mayo de 2011.
8. JOHNSTONE, Colin, "Parásitos y Enfermedades parasitarias de los animales domésticos", Editorial Universidad de Pensylvania, 1988, Disponible en:
http://cal.vet.upenn.edu/projects/merialsp/nems_msp/nm_3asp.htm. Acceso: 15 de mayo del 2011.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

9. ZAMAN, Viqar, Atlas de Parasitología médica, Editorial Medicina Panamericana, 1979, Pág. 123.
10. MURRAY Patrick, ROSENTHAL Ken, PFALLER Michael, Microbiología Médica, Publicaciones Elsevier Mamby, Quinta edición, Madrid España, 2006, Pág. 786, 907, 986.
11. PLM , Diccionario de especialidades Farmacéuticas, Editorial PLM DEL ECUADOR S.A , EDICION 36, Ecuador, 2010
12. Disponible en: www.vademecum.es/principios-activos-piperazina-p02cb0. acceso: 15 de julio de 2011.
13. KLUKLINSKY Claudia, Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural, Editorial Omega, 2000.
14. ASTUDILLO Machuca Adelina, Practicas de Farmacognosia, 2005.
15. RODRIGUEZ Arévalo Lira, “Catálogo de la familia cucurbitáceas de México”, Unidad Biológica, Tecnológica y Prototipos, FES Iztacala. Base de datos SNIB-Conabio DS002. Disponible en: http://www.conabio.gob.mx/informacion/catalogo_autoridades/doctos/cucurbitaceas.html. Acceso: 16 de mayo de 2011.
16. Cucurbitáceas. Disponible en: <http://www.inta.gov.ar/valleinferior/info/r48/02.pdf>. Acceso: 16 de mayo de 2011
17. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/llavor.htm#The%20seed%20coat>. Acceso: 16 de mayo de 2011.
18. ALONSO Jorge, tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos, Editorial Omega, España, 2010
19. TAPIA, M. E. y A.M. Fries. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. FAO y ANPE. Lima. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/ai185s/ai185s.pdf> Acceso: 16 de mayo de 2011.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

20. MORENO G. Ana. Apuntes de Zoología. Pág. 1,2. Disponible en: <http://bdigital.eafit.edu.co/bdigital/PROYECTO/P664.022CDE184/capitulo5.pdf>
Acceso: 16 de julio del 2011.
21. Disponible en: <http://recursosbiblioteca.utp.edu.co/tesisdigitales/texto/58322C355.pdf>.
Acceso: 17 de julio del 2011
22. REGMINTON, FARMACIA, Editorial medica Panamericana, Edición 17, Buenos Aires, 1987, Pág. 2054,
23. LAUGHLIN Mc. Dr. Universidad de Purdue. Ensayo de toxicidad general en artemia salina.
24. GELER Abraham, Compostadores. Disponible en: <http://www.compostadores.com/descubre-el-compostaje/biodiversidad/anatomia-y-fisiologia-de-la-lombriz-roja>. Acceso: 25 de mayo de 2011
25. Eistenia foetid. Disponible en: <http://graniesworms.s5.com/about.html>.
Acceso: 25 de mayo de 2011
26. CASTRO Lina, ALZATE, Mónica GUERRERO, Edith, Estudio preliminar de la bioactividad de extractos de semillas de Annona cherimolia de la familia Annonaceae, Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN 0122-1701, Abril del 2010.
27. SHARAPIN Nikolai. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Quebecor Impreandes. Convenio Andres Bello. Bogota – Colombia. 2000. Pag.198.
28. SOTO Luis Díaz, Dr. Militar. Mc. José de la Paz Naranjo, Lic. María Acelia Maceira Cubiles, M. Sc. Aida Corral Salvadó y Téc. Carlos González Campos "Actividad antiparasitaria de una decocción de Mentha piperita Linn M.". Instituto Superior de Medicina. Obtenido de: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol35_3_06/mil13306.htm . Acceso: 22 de mayo de 2011.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

29. ESTUDIO FARMACOGNOSICO DE LA DROGA CRUDA DE LA SEMILLA DE CALABAZA (*Cucúrbita SPP*), disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol35_3_01/far07301.pdf. Acceso: 16 de Julio de 2011.
30. LINA MARCELA CASTRO PIEDRAHITA, MONICA YORLADY ALZATE ZULUAGA de la UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA, Colombia 2008. ESTUDIO preliminar de la actividad biologica de extractos de *Annona cherimolia Mill* (chirimoya). Acceso: 16 de Julio de 2011.
31. ESTUDIOS PRECLÍNICOS DE CUCURBITA MÁXIMA (SEMILLA DE ZAPALLO) antiparasitario intestinal tradicional en zonas urbano rurales. Acceso: 16 de Julio de 2011.
32. SEMILLAS DE CALABAZA PARA HIPERTROFIA BENINGNA DE PROSTATA por Miguel Angol Gutiérrez, JUNIO DE 2009. Daysi Díaz Obregón¹; Luis Lloja Lozano²; Victor Carbajal Zúñiga³. Obtenido de : http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292004000400004. Acceso: 16 de Julio de 2011.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXOS

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N°1

Recolección de semillas de *Cucúrbita Aff. maxima*



ANEXO N°2

Secado de semillas de *Cucúrbita Aff. maxima*



ANEXO N°3

Trituración de semillas



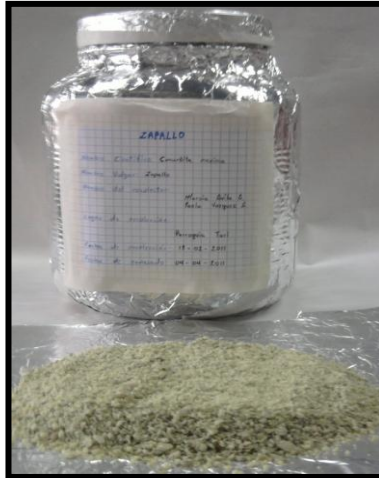
AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N°4
Envasado de la droga



ANEXO N°5
Recuento estándar en placa

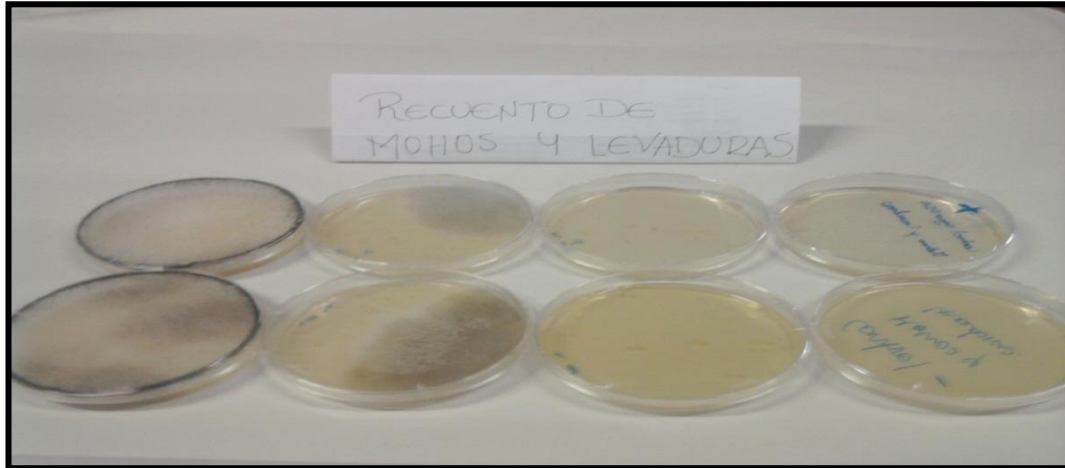


AUTORAS:
Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N°6
Recuento de mohos y levaduras



ANEXO N°7
Percolación



AUTORAS:
Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N°8 Liofilización

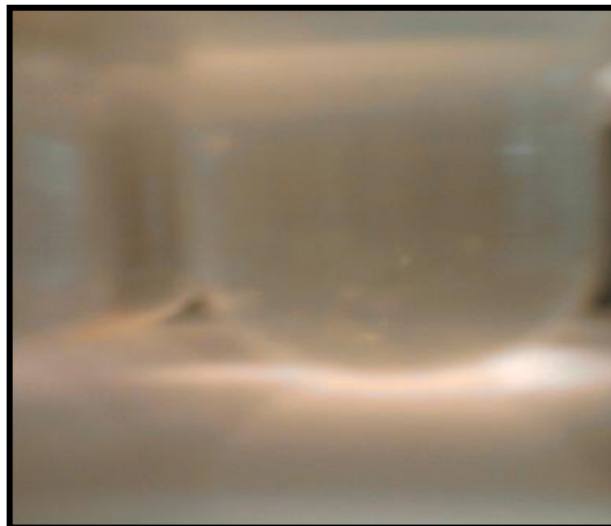


AUTORAS:
Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N°9
Determinación de toxicidad



AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez

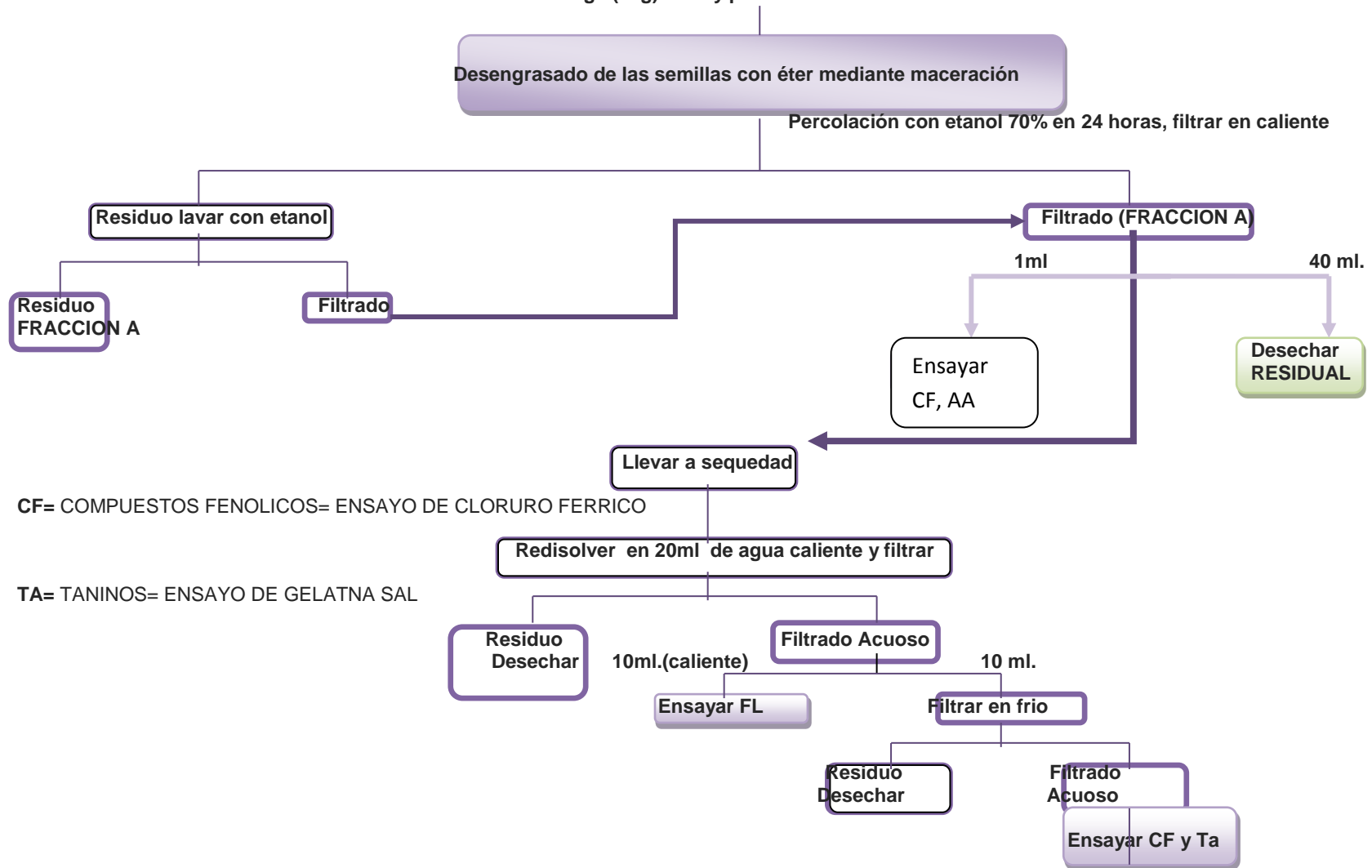


UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N°10

Esquema de procedimiento
Droga (50g) seca y pulverizada

Obtención de metabolitos.-

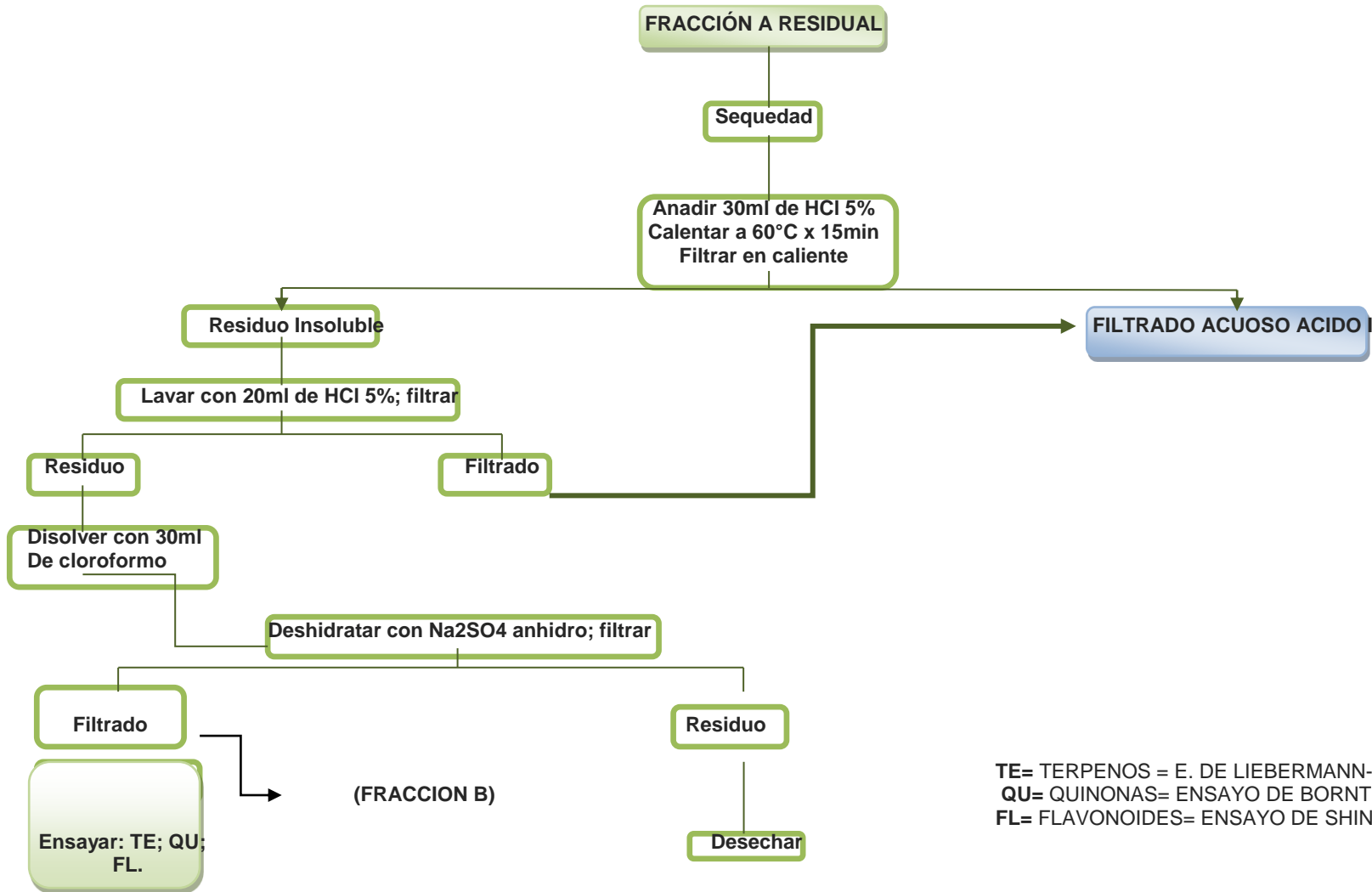


AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA



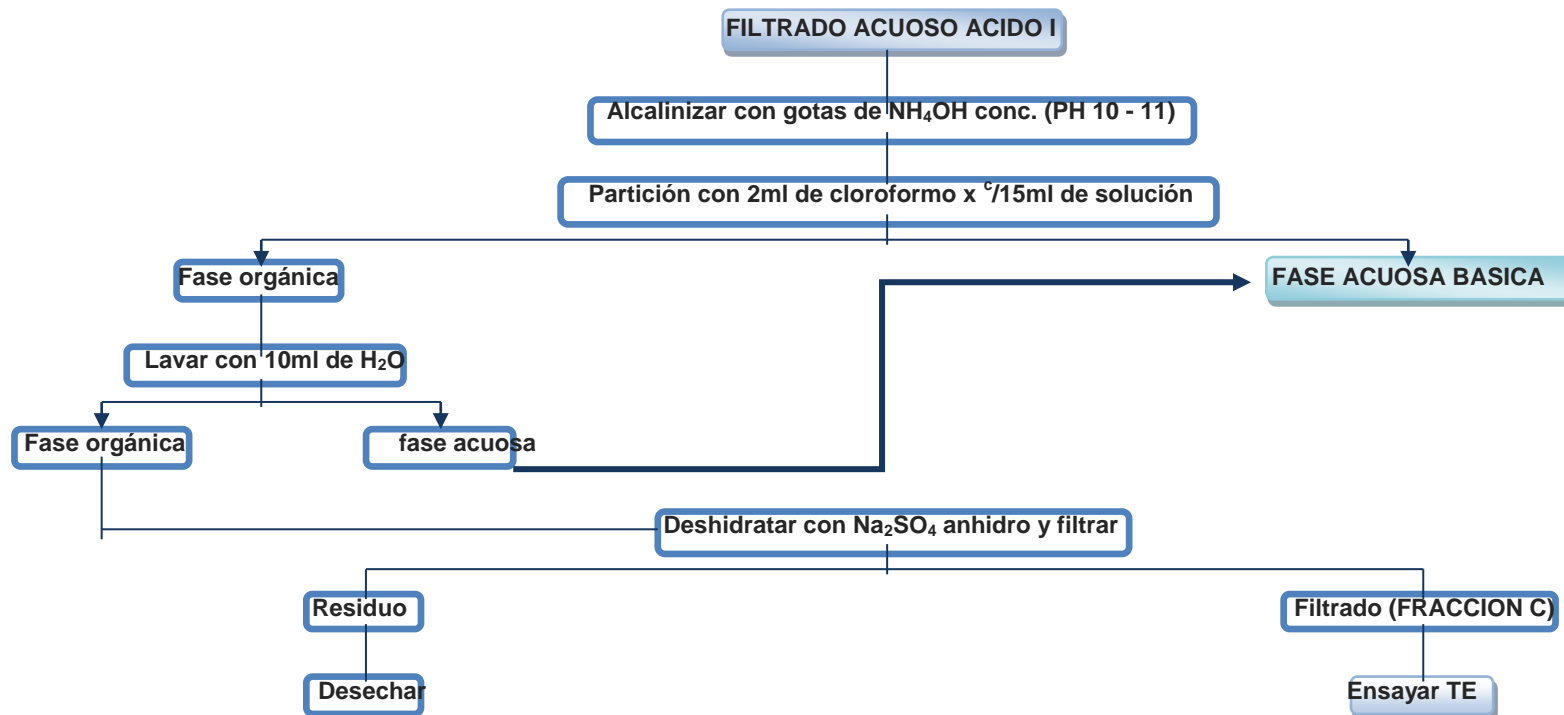
TE= TERPENOS = E. DE LIEBERMANN- BURCHARD
QU= QUINONAS= ENSAYO DE BORNTRANGER
FL= FLAVONOIDES= ENSAYO DE SHINODA

AUTORAS:

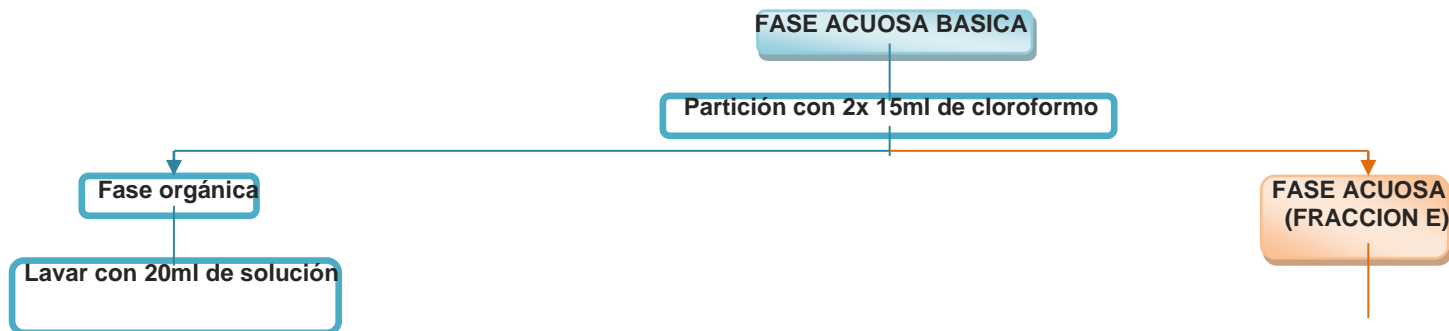
Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA



TE= TERPENOS= E. DE LIEBERMANN- BURCHARD

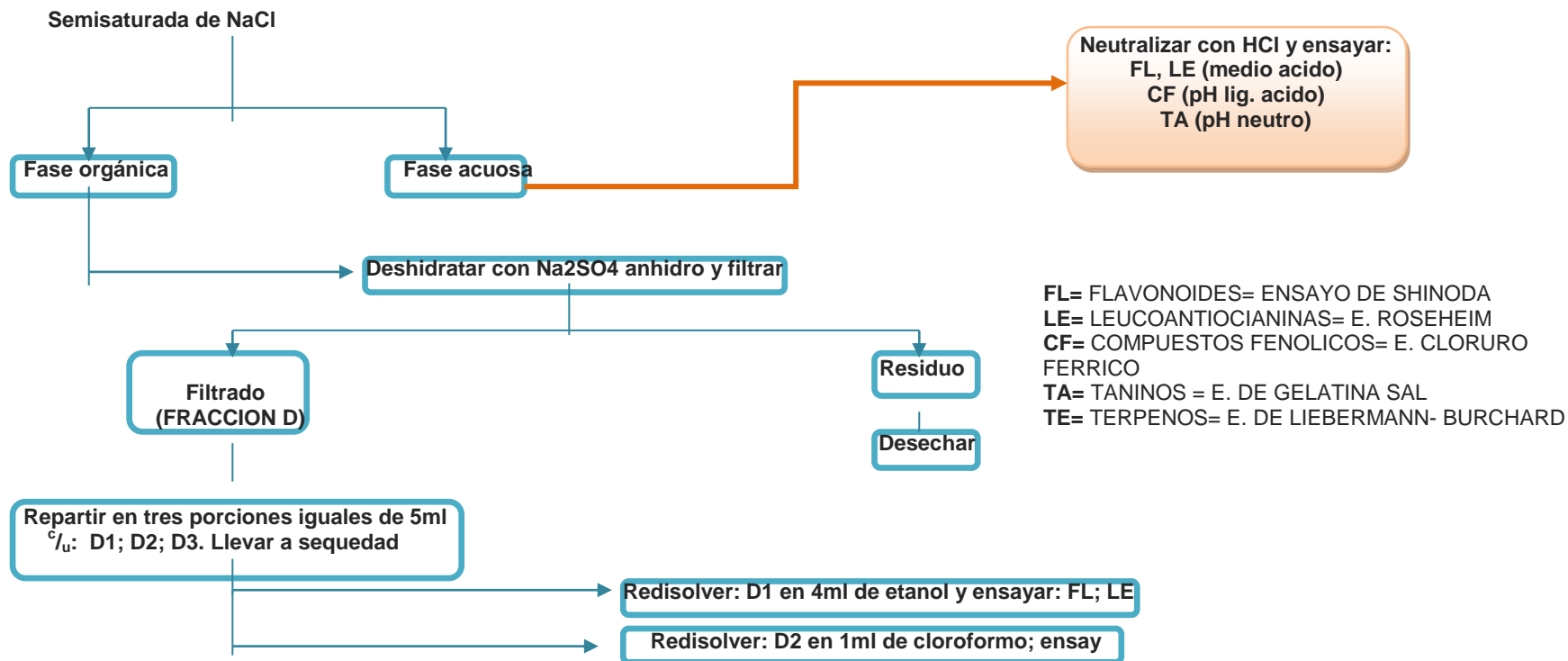


AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA



AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez

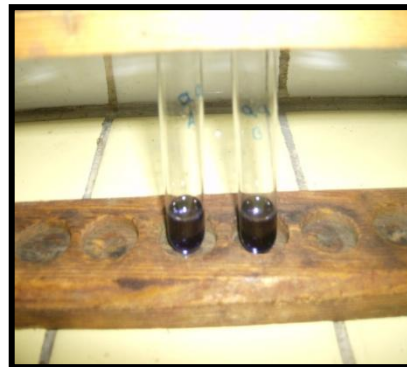


UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N° 11
Reacciones de caracterización
Determinación de glúcidos



ANEXO N° 12
Determinación de aminoácidos





UNIVERSIDAD DE CUENCA

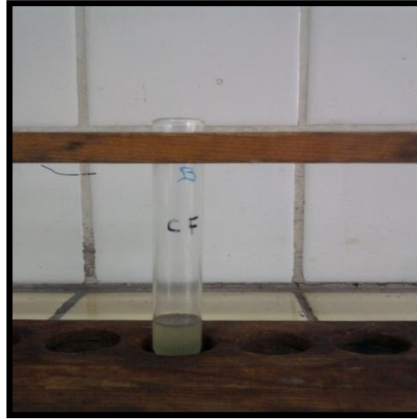
AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez

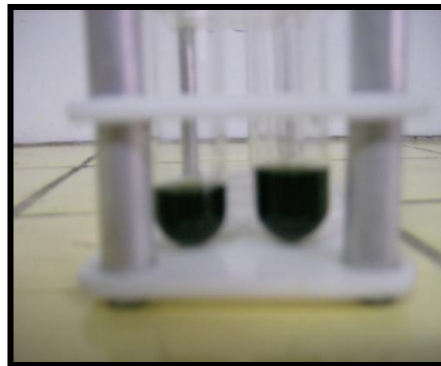


UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N° 13
Determinación de compuestos fenólicos



ANEXO N° 14
Determinación de heterósidos



ANEXO N°15
Habitad de lombrices



AUTORAS:
Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N°16 **Lavado de las lombrices**



Pesos de las lombrices



AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N°18 **Preparación de las diluciones**



ANEXO N°19 **Inoculación de los modelos biológicos**

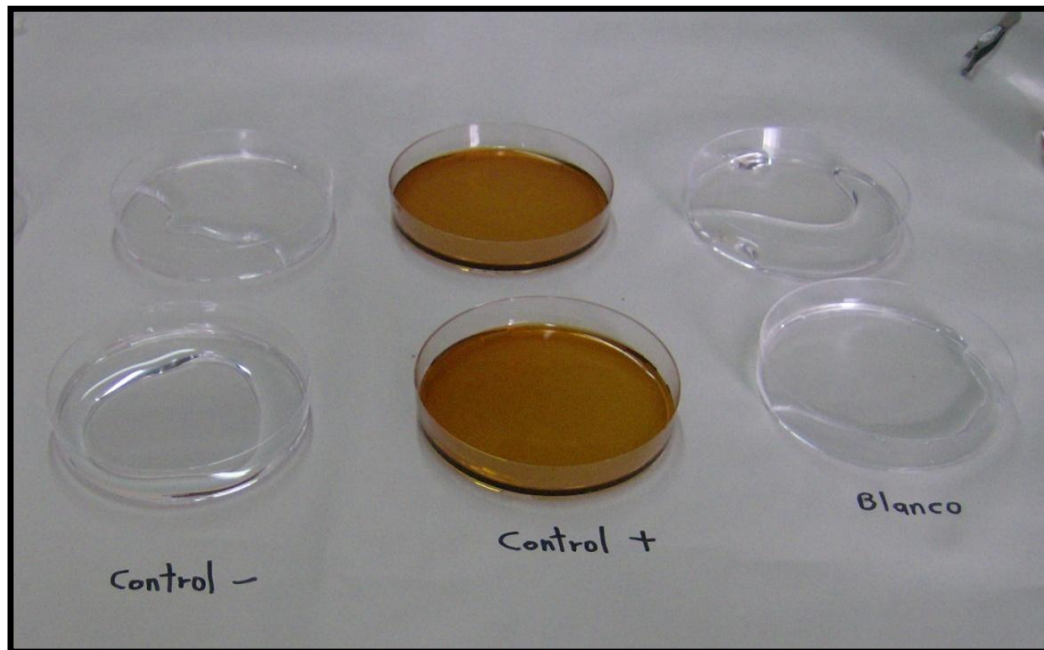


AUTORAS:
Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Controles



Dilución 3,07%



AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Dilución 4,6 %



Dilución 6,15 %

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA



Dilución 7,69%



Dilución 11,53 %

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA



Dilución 15,38%



AUTORAS:
Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N°20
Formato preestablecido

Nº de muestra	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Promedio
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			

Nº de muestra	DESCRIPCION
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

ANEXO N°21

CERTIFICADO DE VALIDACION DE LA PLANTA

Cuenca, 10 de octubre de 2011

Srta. Andrea Paola Vásquez Álvarez

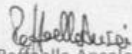
Informo a Usted que la muestra botánica entregada por Usted ha sido revisada e identificada taxonómicamente.

Cucurbita maxima L.

Pertenece a la familia CUCURBITACEAE.

El ejemplar reposa en el Herbario Azuay (HA).

Atentamente,


Dra. Raffaella Ansaloni
Directora HA

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N^o22

NORMA INEN 1529:05

RECuento DE BACTERIAS MESOFILAS R.E.P. INEN 1529-05

1. Objetivo:

Describir la metodología para determinar la carga bacteriana en muestras en alimenticias.

2. Alcance:

Esta metodología servirá para la aplicar a cualquier producto alimentario.

3. Definiciones:

3.1 Recuento Estándar en placa: La técnica de recuento estándar en placa es un método cuantitativo que se basa en la preservación de las formas vegetativas viables presentes en la muestra, a partir de diluciones decimales de la muestra de las cuales se colocan alícuotas para lo cual colocamos una cantidad conocida (pesada ó medida) de la muestra bien homogenizada, en una solución tamponada y nutritiva de agua de peptona al 0,1% de volumen conocido, de tal forma que se pueda cuantificar de la manera más exacta posible, para que el resultado final sea el reflejo real de la carga bacteriana presente en la muestra.

3.2 Bacterias: Son microorganismos unicelulares que presentan un tamaño entre 0,5 y 5 µm, presentan diversas formas incluyendo esferas (cocos), barras (bacilos) y hélices (espirilos).

3.3 Carga bacteriana: Es la cantidad de microorganismos presentes en una muestra.

3.4 UFC: Unidades formadoras de colonias

4. Descripción del proceso:

a. Toma de muestra:

Para suelos y plantas aplicar los protocolos del capítulo 3

b. Diluciones

- Se procede a pesar **10g** de muestra y se coloca en un erlenmeyer con 90ml de agua de peptona o solución salina al 0,9% se deja reposar por 5 minutos.
- La muestra se diluye de manera escalonada, transfiriendo **1 ml** de la muestra a 9 ml de agua de peptona estéril y se homogeniza.
- Este proceso se repite hasta obtener una dilución apropiada en este ejemplo, **1:100000 (10-5)**.

c. Recuento Estándar En Placa (REP) - NTE del INEN 1529-5:06

1. Temperar los medios de cultivo

Se coloca en 225ml de agua de peptona alcalinizada (APA), 25g de muestra y homogenizamos.

3. Tomar **1ml** de esta solución y lo llevamos a 9ml de APA, homogenizar, realizar este procedimiento hasta la dilución deseada.

4. De cada dilución tomamos **1ml** y colocamos el agar fundido, homogenizar, realizar este procedimiento por duplicado

5. Dejar enfriar y colocar invertidas en la estufa a 37°C.

6. Leer a las 24 horas, de no haber crecimiento, hasta 48 horas.

Para calcular el número de UFC por gramo o centímetro cúbico se siguen los siguientes pasos:

- Elegir las cajas que presenten entre **15 y 300** colonias. Separarlas de acuerdo a las diluciones, por ejemplo dos de la dilución **1/10**, dos de la dilución **1/100** y dos de la dilución **1/1000**.
- Proceder a contar las UFC en el cuenta colonias, e ir anotando los datos para luego realizar los cálculos correspondientes.

N= Número de colonias contadas o calculadas

Cantidad de muestra sembrada

N= $\sum C$

$V(n_1 + 0,1n_2) d$

$\sum C$ = Suma de las colonias contadas o calculadas

n_1 = Número de placas contadas en la primera dilución

n_2 = Número de placas contadas en la segunda dilución

d = Dilución de la cual se obtuvieron los primeros recuentos

v = Volumen sembrado en cada placa

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO N°23

NORMA INEN 1529:11

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

RECUESTO ESTANDAR EN PLACA DE MOHOS Y LEVADURAS NTE 1529 –11

1. Objetivo:

Describir la metodología para determinar la carga bacteriana en muestras en alimentos.

2. Alcance:

Esta metodología servirá para la aplicación a cualquier producto alimentario.

3. Definiciones:

3.1. **Moho:** Es un hongo que se encuentra tanto al aire libre como los interiores y en especies microscópicas crecen en forma de filamentos pluricelulares o unicelulares.

3.2. **Levadura:** Se denomina levadura a cualquiera de las diversas hongos microscópicas unicelulares que son importantes por su capacidad para la fermentación de cuerpos orgánicos principalmente carbohidratos.

3.3. **Patógeno:** es un agente biológico capaz de producir enfermedad o daños a la biología de un huésped.

4. Recuento Estándar en Placa de Mohos y Levaduras.

1. Temperar los medios de cultivo
2. Etiquetado de cajas y tubos para las diluciones
3. El medio de cultivo temperarlo a una temperatura que soporte la mano
4. Se coloca en 22,5ml de agua de peptona alcalinizada (APA), 2,5g de tierra y homogenizamos.
5. Tomar 1ml de esta solución y la llevamos a 9ml de APA, homogenizar, realizar este procedimiento hasta la dilución deseada.
6. De cada dilución tomamos 1ml y colocamos el agar fundido, homogenizar, realizar este procedimiento por duplicado
7. Dejar enfriar y colocar invertidas en la estufa a 22°C.
8. Leer a las 72 horas, de no haber crecimiento, hasta 7 días.

Para calcular el número de UFC por gramo o centímetro cúbico se siguen los siguientes pasos:

- Elegir las cajas que presenten entre 15 y 300 colonias. Separarlas de acuerdo a las diluciones, por ejemplo dos de la dilución 1/10, dos de la dilución 1/100 y dos de la dilución 1/1000.
- Proceder a contar las UFC en el cuenta colonias, e ir anotando los datos para luego realizar los cálculos correspondientes.

N= Número de colonias contadas o calculadas

Cantidad de muestras sembradas

$N = \sum C$

$V (n_1 + 0.1n_2) d$

$\sum C$ = Suma de las colonias contadas o calculadas

n_1 = Número de placas contadas en la primera dilución

n_2 = Número de placas contadas en la segunda dilución

d = Dilución de la cual se obtuvieron las primeras recuentos

v = Volumen sembrado en cada placa

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

GLOSARIO

Aflatoxinas: Las aflatoxinas son micotoxinas producidas por muchas especies del género de hongos *Aspergillus*.

Aglicones: Porción de una molécula glicídica que carece de azúcar.

Amilosa: es el producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos α (1,4), que establece largas cadenas lineales con 200-2500 unidades y pesos moleculares hasta de un millón; es decir, la amilosa es una α -D-(1,4)-glucana cuya unidad repetitiva es la α -maltosa.

Anaerobiosis: microorganismos que vive y crece en ausencia completa o casi completa de oxígeno.

Antipirético: se aplica a una sustancia o procedimiento que disminuye la fiebre. 2

Artemia salina: es una especie de crustáceo branquiópodo del orden Anostraca propia de aguas salobres continentales, de distribución cosmopolita.

Biodirigido: Molécula con acción farmacéutica que tiene producirá efecto a nivel específico.

Capullo: Flor que todavía no ha abierto los pétalos.

Cutícula: es la capa más exterior del tegumento, inmediatamente por encima de la epidermis

Emoliente: sustancia que ablanda los tejidos especialmente la piel y las mucosas.2

Espástica: Concerniente a espasmos u otras contracciones no voluntarias de los músculos esqueléticos.

Esporoquiste: segundo estadio larvario en el ciclo vital de las tenias parasitarias.

Extrapiramidales: relativo a los tejidos y estructuras del cerebro que guardan relación con el movimiento del cuerpo.2

Filariforme: La maduración de la forma rabadiforme a la filariforme.

Heteroespecíficos: Que posee o que se acompaña de los caracteres propios a otra especie.

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Hidroxilación: Es una reacción química en la que se introduce un grupo hidroxilo (OH) en un compuesto reemplazando un átomo de hidrógeno, oxidando al compuesto.

Micotoxinas: es una toxina producida por setas, mohos y levaduras, de que producen toxicidad y hasta la muerte.

Miracidio: Larva ciliada de los trematodos parásitos procedente de un huevo, que sólo puede sobrevivir penetrando y desarrollándose posteriormente en un caracol, su huésped, en donde la larva se sigue desarrollando hasta un esporozoíto madre, que a su vez produce más larvas.

Parestesias: cualquier sensación subjetiva experimentada como entumecimiento, hormigueo o sensación de pinchazos. 2

Parteenogénica: una forma de reproducción basada en el desarrollo de células sexuales femeninas no fecundadas, que se da con cierta frecuencia en platelmintos, rotíferos, crustáceos, insectos, anfibios y reptiles, más raramente en algunos peces y, excepcionalmente en aves.

Pirosis: sensación dolorosa de quemazón localizada en el esófago, inmediatamente por detrás del esternón. 2

Protonación: En química, la **protonación** es la adición de un protón (H^+) a un átomo, molécula, o ion.

Pseudoceloma: Es una cavidad de origen blastocélico.

Quimiotaxonomía: Ciencia que estudia las sustancias químicas de los grupos taxonómicos (plantas, animales, microorganismos).

Rabditiformes: La primera etapa juvenil de su existencia se le llama *rabditiforme* (en forma de bastón), de *Necator amaricanus*.

Redia: Segunda o tercera etapa larvaria alargada de un trematodo que se desarrolla en un esporocisto y madura a numerosas cercarias.3

Tenesmo: Deseo continuo, doloroso e ineficaz de orinar o defecar, producido de ordinario por una irritación del cuello vesical o del ano.2

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Terpenoides: Estructuras químicas muy distintas, proceden de la condensación, en número variable, de unidades isoprénicas.

Vermífugo: agente que produce evacuación de gusanos intestinales.

Volatizar: Transformar un cuerpo sólido o líquido en vapor o gas

AUTORAS:

Marcia Elizabeth Ávila Ayala
Andrea Paola Vásquez Álvarez