



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con la finalidad de determinar la posible actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y *Escherichia coli* (*E. coli*), de los extractos de malva olorosa, ortiga y ajeno mediante el método de dilución seriada en tubo de ensayo y considerando la altitud a la que se desarrolla la planta, como un factor que probablemente pudiera influir en el efecto antibacteriano.

La investigación tuvo dos etapas: en la primera, se realizó una prueba preliminar en la que se determinó la actividad antibacteriana de los tres extractos; en la segunda etapa, se estudió dicha actividad tomando en consideración el factor altitud, por lo que se recolectaron las plantas a tres alturas diferentes.

En ambas fases se procedió de la misma manera: recolección y procesamiento de las plantas, extracción de principios activos mediante percolación con mezcla hidroalcohólica al 70% (etanol:agua; 70:30), evaporación del solvente y liofilización del extracto.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Para el análisis microbiológico, se utilizó el método de dilución seriada en tubo de ensayo que permitió determinar la concentración mínima inhibitoria (CIM) de los extractos ensayados. Se realizaron diluciones de los extractos a partir de una solución madre, se inocularon los tubos con la suspensión bacteriana correspondiente y se incubaron a 37°C durante 18-24 horas. No se pudo determinar visualmente la CIM, como indica la técnica, debido a la interferencia provocada por la coloración de los extractos, por lo que se procedió a la siembra en placa con agar tripticasa-soya de 100 μ l de las diluciones incubadas; las cajas se incubaron a 37°C por 18-24 horas. Posteriormente, se observó la ausencia o presencia de crecimiento bacteriano y se calculó el porcentaje de inhibición.

Los resultados de las pruebas mostraron, frente a *S. aureus*, una CIM de 2mg/ml para la malva olorosa y de 8mg/ml para la ortiga y el ajeno con porcentajes de inhibición de 99.99%-100%. Frente a *E. coli*, ninguno de los extractos presentó efecto inhibitorio a las concentraciones empleadas.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Sin embargo, vale destacar, que conforme revela el análisis estadístico realizado, la altitud posiblemente influye en la actividad antibacteriana de los extractos de malva olorosa frente a *S. aureus*, pese a que se observan porcentajes de inhibición, prácticamente, del 100%; no así los extractos de ajeno y ortiga, ya que en la interpretación de los resultados, no se encontró diferencias; sin embargo, no se puede descartar la posible influencia de la altitud sobre la actividad antibacteriana de estas plantas. Sería necesario, entonces, controlar los múltiples factores que pudieran interferir con el estudio de la altura, tales como calidad del suelo, condiciones climáticas, hora de recolección de la planta, etc., para poder afirmar o descartar la influencia del factor altitud sobre la actividad antibacteriana de los extractos de plantas.

Palabras Claves: Actividad antibacteriana, malva olorosa, ajeno, ortiga, *S. aureus*, *E. coli*

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



ÍNDICE

Pág.

RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN

2. MARCO TEÓRICO

2.1 PLANTAS MEDICINALES

2.1.1 AJENJO (*Artemisia absinthium* L.)

2.1.2 MALVA OLOROSA (*Pelargonium
odoratissimum* L.)

2.1.3 ORTIGA (*Urtica urens* L.)

2.2 MICROORGANISMOS

2.2.1 *Staphylococcus aureus*

2.2.2 *Escherichia coli*

2.3 ENVOLTURA BACTERIANA: DIFERENCIAS
ENTRE LAS ESTRUCTURAS DE BACTERIAS
GRAMPOSITIVAS Y GRAMNEGATIVAS

2.4 RESISTENCIA DE LOS MICROORGANISMOS A
LOS ANTIMICROBIANOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 SOLVENTES

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

3.1.2 EQUIPOS

3.1.3 MEDIOS DE CULTIVO Y PRUEBAS
BIOQUÍMICAS

3.1.4 MUESTRAS VEGETALES

3.1.5 MICROORGANISMOS

3.2 MÉTODOS

3.2.1 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

3.2.2 CONTROL DE LA TÉCNICA

3.2.3 DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD
ANTIMICROBIANA: DILUCIÓN SERIADA
EN TUBO DE
ENSAYO

3.2.4 CÁLCULO DEL NÚMERO DE ufc/ml Y DEL
PORCENTAJE DE INHIBICIÓN

3.2.4.1 Fórmula para calcular ufc/ml

3.2.4.2 Cálculo de crecimiento
bacteriano del control Positivo

3.2.4.3 Fórmula para calcular el
porcentaje de Inhibición

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.3.1 ANOVA para los extractos de malva olorosa

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

3.3.2 Prueba t para dos muestras suponiendo
varianzas desiguales, para los extractos de ajeno y
ortiga

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN CONCLUSIONES

6. RECOMENDACIONES

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ANEXO 1. CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA

ANEXO 2. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

ANEXO 3. PREPARACIÓN DEL INÓCULO

ANEXO 4. CONTROL DE LA TÉCNICA

ANEXO 5. PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

GLOSARIO

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



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

INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

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

INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA
OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO
DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Tesis previa a la obtención
del Título de Bioquímica Farmacéutica

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno

DIRECTORA:

Dra. Lourdes Jerves A.

ASESOR:

Dr. Fabián León T.

Cuenca-Ecuador

2009

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



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

INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios por darme la fuerza necesaria para continuar luchando día tras día.

A mis padres, por brindarme su apoyo, comprensión, confianza y ayuda en todo momento.

A mis hermanos, por su ayuda incondicional.

A mi familia por haber estado siempre conmigo.

Gracias de todo corazón.

MARIA FERNANDA

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



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

**INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO**

Con todo el cariño del mundo, dedico esta tesis a mis padres, Carlos e Irma, por haber sido siempre mi punto de apoyo; a mis hermanos Juan Carlos, César e Irene; y a mi pequeña sobrina, Paula, por haber compartido conmigo esta aventura.

GABRIELA

AUTORAS:

**María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno**



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

AGRADECIMIENTO

El tiempo transcurre inexorablemente y de ese incesante tic-tac del reloj, lo que queda al final de cada día es una lección aprendida y, por ende, una vida enriquecida.

Muchas, muchísimas lecciones que a pulso de estudio y trabajo, satisfacciones y desconciertos, paciencia y empeño nos han exigido la sistemática sincronización de la mente, las emociones y la voluntad, elevando nuestro nivel de satisfacción y ventaja en el plano personal, académico y profesional.

El tiempo y las vivencias nos han demostrado que la gratitud es un sentimiento que beneficia mucho más a quienes la conciben que a aquéllos que la inspiran; es el motor que impulsa a conquistar nuevos horizontes con la confianza de que siempre está al alcance una mano dispuesta a crear experiencias mutuas sin vanaglorias del crédito que les corresponde.

De allí que, reconocemos y manifestamos que la senda que hemos recorrido está impregnada de huellas imborrables que evidencian la grandeza y generosidad de quienes custodiaron nuestros pasos, corrigieron el rumbo, vigorizaron nuestro agobio, alumbraron el camino, alentaron nuestra marcha, para ahora, al final, en la meta,

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

ya listas, entregarnos el mundo en un cofre de satisfacciones, esperanzas y proyectos.

Nuestra fe inquebrantable en Dios; Él, con su fuerza espiritual, nos ha permitido culminar nuestra carrera.

Un agradecimiento muy especial a nuestra Directora de Tesis, Dra. Lourdes Jerves y a nuestro Asesor, Dr. Fabián León; ellos son el principio y el fin de esta tesis y los pilares fundamentales en que se sustenta.

Nuestro reconocimiento también, al Proyecto de Plantas Medicinales VLIR, en la persona de su Directora, Dra. Isabel Wilches, por permitirnos hacer uso de sus laboratorios; al personal del Laboratorio de Atención al Público de la Universidad de Cuenca, Dra. Luz María Samaniego, Dra. Alexandra Vásquez, y Dra. Paulina Escobar, por compartir con nosotras su espacio de trabajo; al Ing. Vladimiro Tobar, por su valiosa ayuda en el análisis estadístico de la investigación.

Mención de aprecio y gratitud para nuestras incondicionales amigas Rosangela y Susana.

Nuestro agradecimiento se hace extensivo a todas aquellas personas que de una u otra forma aportaron para que este proyecto sea una realidad.

A todos, mil gracias.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

1. INTRODUCCIÓN

Desde la antigüedad, las plantas medicinales han ostentado un rol fundamental en el tratamiento de dolencias, y es probable que continúe mientras la humanidad haga presencia en cualquier parte del universo. Quizás con variaciones, producto de la permanente inquietud del hombre por descubrir las potencialidades del mundo en que vive, como ocurrió con la penicilina; o en respuesta a la imperativa necesidad de solucionar situaciones que atentan contra su bienestar o su vida misma, como las vacunas; todavía encontramos culturas que mantienen sus tradiciones ancestrales; para citar dos ejemplos, la medicina china con sus exclusivos fundamentos, y las curaciones de nuestra Amazonía a responsabilidad del denominado “brujo”, que sin base científica, es capaz de tratar dolencias que aquejan a su comunidad. Estos conocimientos milenarios sobre las bondades terapéuticas de las plantas, asociados a una tecnología cada vez más avanzada, han permitido la obtención sistemática de nuevos medicamentos para el tratamiento de enfermedades, de cuya totalidad, las infecciones bacterianas preocupan sobremanera.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Lamentablemente, el uso inadecuado, indiscriminado e irresponsable de los antimicrobianos con que se ataca a este tipo de agentes, por cuenta de empíricos y aún de los mismos enfermos, daría ventaja a las bacterias para desarrollar resistencia a tratamientos activos y convertirse en una amenaza pertinaz para la salud del ser humano, lo que exige aún más de los investigadores a experimentar con nuevas drogas que permitan combatir las patologías causadas por estos microorganismos. He aquí una razón para persistir en la búsqueda de los principios activos de las plantas medicinales.

Pero, el estudio sobre la actividad antimicrobiana de las plantas, no debe ser restringido. Más allá de la materia vegetal que se analiza, convendría considerar factores que pudieran modificar la concentración de los principios activos de una misma planta con el fin de precisar y aprovechar su óptimo rendimiento, pues se sabe que la naturaleza y la cantidad de metabolitos secundarios de las plantas podrían resultar afectados por agentes del medio en que se desarrollan, como: temperatura, lluvia, orientación, altitud, duración del día y calidad de la luz.¹

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Con esta inquietud, y ante la imposibilidad de abordar todo el espectro, se acordó estimar para la presente investigación:

- La *altura*, por considerar la variable propicia a la cualidades orográficas de nuestro país caracterizadas por la Cordillera de los Andes.
- Tres plantas: malva olorosa, ortiga y ajeno, dadas las ventajas que brinda su proliferación, variedad y posibilidades de acopio.
- La dilución seriada en tubo de ensayo, con el fin de comprobar si este método de análisis microbiológico constituye una técnica válida para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de extractos de plantas.
- Emplear los microorganismos *S. aureus* y *E. coli*, por ser los patógenos que causan infecciones con mayor frecuencia y aquéllos que han creado más resistencia hacia los tratamientos.

Aquí, una información que se espera no quede en simple papel. El objetivo va más allá, que el contenido de esta

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



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

**INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO**

tesis fuera el preámbulo de estudios posteriores o proyectos inherentes; pues sólo así, el valioso bagaje de conocimientos, experiencias, práctica y resultados ganados durante muchos meses de trabajo, trascenderían favorablemente, del laboratorio a la comunidad.

AUTORAS:

**María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno**



2. MARCO TEÓRICO

2.1 PLANTAS MEDICINALES

2.1.1 AJENJO (*Artemisia absinthium* L.)

Figura 1. Ajenjo.



El ajenjo es una planta originaria de Europa pero se ha naturalizado en las zonas templadas del globo como por ejemplo, el Ecuador; el clima frío y las zonas altas favorecen su desarrollo, creciendo espontáneamente entre matorrales aunque también se lo cultiva.²

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Pertenece a la familia *Asteraceae*, género *Artemisia* L., especie *Artemisia absinthium* L., botánicamente se le ha descrito como una planta perenne, cuya altura va de 0,50 a 1,20m; la raíz es pivotante y ramificada lateralmente; sus tallos son erectos, vellosos o glabros, de matiz grisáceo. Las hojas son alternas, de color verde grisáceo por el haz y gris blanquecino por el envés, de 5 a 12,5cm de largo. Las que están en la base inferior del tallo son pecioladas y tripinnatisectas, las que se ubican en la parte superior son sésiles y divididas en lóbulos anchos y obtusos.^{2,3,4,5,6,7}

Los capítulos florales de 3-4mm de diámetro son amarillo-verdosos, globulosos y colgantes, dispuestos en racimos paniculados compuestos. Las flores son pequeñas, tubulares, de color amarillo; las de la periferia son femeninas y las del centro hermafroditas, rodeadas de un involucre de brácteas verde-blanquecinas. El fruto del ajeno es un pequeño aquenio de color grisáceo, liso, unilocular monospermo.^{6,7,8}

Su olor es aromático y tiene un sabor extremadamente amargo. Las hojas y la planta entera en flor son usadas

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

para la extracción de sus principios activos en las diferentes preparaciones medicinales.^{3,5,8}

El ajenjo posee un aceite esencial llamado absintol (0,25-1,3%) compuesto de \square y \square tuyona, acetato de tuyol, cimeno, feladreno, cadineno y azuleno. Cuando la planta está en floración, se consigue la máxima concentración del aceite esencial. Otros compuestos presentes en el ajenjo son: absintina, artibsina, matricina, artamarina, artamaridina, artamarinina, anabsintina, artemetina o artemisetina, artabsina, taninos ácidos, carotenoides, fitosterol, ácidos nicotínico y palmítico, quebrachitol y pequeñas cantidades de vitamina C.³

La *Artemisia absinthium* o ajenjo, tradicionalmente ha sido usado como antihelmíntico (eficaz contra áscaris y oxiuros); aperitivo, digestivo, colerético, carminativo, emenagogo, febrífugo, antiséptico, diaforético; para tratar problemas de hígado y riñones. Es útil para combatir la obesidad, la diabetes, el reumatismo; para nivelar el colesterol; estimula la formación de glóbulos blancos y rojos. Se ha utilizado también para tratar enfermedades nerviosas, epilepsia y para evitar la caída del cabello. En aplicaciones externas

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

(como fomentos), se puede utilizar contra contusiones, inflamaciones locales y torceduras.^{2,3,8,9,10,11}

Es conveniente tener en cuenta que esta planta debe ser usada con precaución debido a la toxicidad de su aceite esencial y del hábito que crea al ingerir dosis desproporcionadas de sus preparados.³

2.1.2 MALVA OLOROSA (*Pelargonium odoratissimum* L.)

Figura 2. Malva olorosa.



Esta planta es nativa de África del Sur, pero ha sido introducida en diferentes países, entre ellos, el Ecuador. Pertenece a la familia *Geraniaceae*, género *Pelargonium* L'Hér. ex Aiton, especie *Pelargonium odoratissimum* (L.)

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

L'Hér. ex Aiton. A esta especie se lo conoce comúnmente como malva olorosa por la fragancia de sus hojas.^{12,13}

Es una planta perenne, alcanza una altura de 20 a 30cm; está más o menos cubierta por pelos. Su raíz es ligeramente tuberosa; los tallos son erectos, rastreros y floridos en la cima. Las hojas son opuestas, de color verde claro, muy blandas, redondeadas u ovaladas con filo ondulado. Despiden un fuerte y dulce olor a manzana. Las flores son perfumadas, de color blanco (a veces rosa pálido), en ocasiones con nervios rojos en la parte superior de los pétalos. Están ubicadas en cúspide del tallo como pseudoumbelas, son hermafroditas y poseen cinco pétalos (2 pétalos superiores y 3 pétalos inferiores que no son de igual tamaño). Su aceite esencial se extrae de las hojas. Es rico en geraniol, citronelol, metil-eugenol, terpineol, linalol y borneol.^{14,15,16,17}

La malva olorosa presenta las siguientes propiedades medicinales: antiséptico, carminativo, astringente, tónico, analgésico, antiespasmódico, antitusígeno, cardiotónico, sedante, cicatrizante, hemostático, para tratar la

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

gastroenteritis, malestares de la piel, neuralgias, quemaduras, úlceras y herpes zóster.^{15,18,19}

2.1.3 ORTIGA (*Urtica urens* L.)

Figura 3. Ortiga



La ortiga es originaria de Europa y Asia pero se la encuentra aclimatada en todas las zonas templadas del globo. Suelen crecer en los huertos como mala hierba; el terreno húmedo favorece su desarrollo. Pertenece a la familia *Urticaceae*, género *Urtica* L., especie *Urtica urens* L.
3,20

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

La ortiga menor (*Urtica urens* L.) es una planta herbácea, perenne, color verde sucio, alcanza una altura de 60-150cm. Presenta numerosos pelos urticantes. Su raíz es carnosa y perenne; posee tallos erectos, más o menos tetraédricos, de color rojo que suelen ser fibrosos, algunas veces jugosos. Las hojas son simples, de color verde grisáceo, opuestas, cubiertas de pelillos urticantes que segregan ácido fórmico, pecioladas, aserradas, entre ovales y acorazonadas, miden 4-7cm de longitud, terminan en punta.^{3,10,14}

Las flores son pequeñas, de color verdoso. Se agrupan en espigas ramificadas y axilares; tanto flores masculinas como femeninas se encuentran en la misma agrupación (monoica). Las flores masculinas tienen cuatro estambres y las femeninas poseen un carpelo con un solo óvulo, un estigma. El fruto es un aquenio seco, verdoso amarillento, de 2mm. Para las diversas preparaciones a fin de extraer los principios activos, se usan las hojas y, en menor medida, la raíz y las semillas.^{3,21}

El aceite esencial de la ortiga está compuesto por flavonoides derivados del quercetol, kenferol y ramnetol; cetonas, ésteres y alcoholes libres. Además posee otras

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

sustancias como: beta caroteno, xantófilos, licopeno, violaxantina, ácido pantoténico, vitamina B₂, vitamina K₁, ácido fólico, sitosterol, mucílago, taninos, enzimas, una glucoquinina denominada secretina, nitratos, sales de hierro, vitamina C, potasio, calcio, silicio. Los pelos urticantes contienen acetilcolina, histamina, colina, ácido acético y ácido fórmico (este provoca irritación cutánea). Es una de las plantas más ricas en clorofila (10%-60% de la planta seca).^{3,21}

A la ortiga se le han atribuido varias bondades medicinales; es una planta muy usada en nuestro medio. Se la emplea como: antibronquítico, antidiarreico, antidisentérico, depurativo, dermatológico, sedante, antiinflamatorio, emoliente, tonificante, hemostático. Otros usos incluyen tratamientos para evitar la caída del cabello, purificar la sangre, para tratar el asma, la diabetes, las hemorroides, tratar enfermedades nerviosas, para curar el amortiguamiento y reumatismo. Un uso tradicional lo constituye la ortigadura, el efecto revulsivo de las ortigas frescas sobre la piel, provoca urticaria en la zona de contacto.^{3,11,18,19}

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

2.2 MICROORGANISMOS

2.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) es un coco grampositivo, inmóvil, no esporulado, de 0,8 a 1 μ m de diámetro. Se divide a lo largo de los planos longitudinal y horizontal presentándose en agrupaciones con forma de racimos irregulares, característica que se presenta cuando son cultivados en medio sólido. En los extendidos provenientes de caldos de cultivo, se puede observar cadenas cortas, formas diplocócicas o células aisladas.^{23,24}

Las cepas jóvenes presentan gran afinidad por el colorante violeta cristal usado para la tinción de Gram; en cambio, las células viejas pierden esta propiedad de fijar el violeta cristal y por lo tanto, pueden presentarse como gramnegativos o mostrarse inespecíficos a la tinción.^{23,25}

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



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

**INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO**

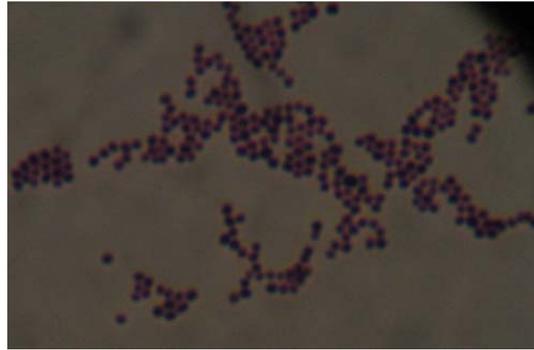
AUTORAS:

**María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno**



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Figura 4. *S. aureus*, tinción de Gram.



Unas pocas cepas producen una cápsula mucosa que incrementa la virulencia del microorganismo. Es anaerobio facultativo, pero se desarrolla abundantemente en aerobiosis.²⁴

Su estructura comprende:

- **Cápsula (algunas cepas):** constituida por un exopolisacárido que inhibe la fagocitosis por los leucocitos polimorfonucleares.
- **Pared celular** formada por:
 - o *Peptidoglucano*: suministra el exoesqueleto rígido de la pared celular.
 - o *Ácido teicoico*: participa en la adherencia a las superficies mucosas.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- *Proteína A*: esta proteína puede unirse a la porción Fc de la inmunoglobulina G (IgG) interfiriendo en la opsonización e ingestión de los microorganismos por parte de los leucocitos polimorfonucleares, activando el complemento y estimulando reacciones de hipersensibilidad de tipo inmediato.
 - *Factor de coagulación*: determina la formación de fibrina sobre la superficie bacteriana produciendo agregación de estos microorganismos.
- **Membrana celular**: Es una estructura trilaminar convencional, cuya capa más externa está parcialmente sustituida por ácidos lipoteicoicos.^{23,24}

Los estafilococos forman parte de la flora normal de las narinas anteriores humanas, nasofaringe, región perineal y piel. Pueden colonizar diversas superficies epiteliales o mucosas por lo que es frecuente el estado de portador (del 40 al 50% de los humanos albergan *S. aureus* en la nariz). Estos microorganismos se asocian con infecciones humanas cuando la cepa colonizante accede a un sitio normalmente estéril o a un hábitat no usual.^{23,25}

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Las formas de transmisión de *S. aureus* son variadas e incluyen diseminación de persona a persona, por medio de fómites, aire, las manos sin lavar, a partir de una lesión cutánea infectada, introducción directa del microorganismo a sitios estériles por traumatismo o abrasión de la piel o mucosas.²⁵

S. aureus es la especie más virulenta de los estafilococos debido a la amplia gama de factores de virulencia; produce y secreta toxinas y enzimas virulentas que son la principal causa de las diversas infecciones de la piel, heridas y tejidos profundos.^{23,25,27}

Entre las toxinas y enzimas elaboradas por este microorganismo se encuentran:

- *Toxinas alfa, beta, gamma y delta*: actúan sobre las membranas celulares del hospedero, causando una destrucción celular.
- *Leucocidina*: mata a los leucocitos.
- *Catalasa*: convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Prueba diferencial de los estafilococos.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- *Coagulasa*: puede depositar fibrina en la superficie de los estafilococos alterando su ingestión por células fagocíticas o su destrucción dentro de estas células.
- *Hialuronidasa*: aumenta la capacidad de invasión.
- *Exotoxinas*: se incluyen las exfoliatinas, la toxina del síndrome de shock tóxico y enterotoxinas.^{23,25,27}

A pesar de que este microorganismo forma parte de la microflora humana, un individuo puede estar predispuesto a padecer infecciones graves por *S. aureus* debido a:

- Defectos quimiotácticos de los leucocitos, sean congénitos o adquiridos.
- Defectos en la opsonización por anticuerpos.
- Defectos en la destrucción intracelular de las bacterias después de la fagocitosis.
- Lesiones cutáneas.
- Presencia de cuerpos extraños.
- Infecciones por otros agentes, particularmente virus.
- Enfermedades crónicas de base como tumores malignos, alcoholismo y cardiopatías.
- Administración profiláctica o terapéutica de agentes antimicrobianos.²⁷

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Las infecciones causadas por *S. aureus* involucran una intensa supuración y necrosis de tejido.²⁵

En general pueden agruparse en:

- Infecciones cutáneas localizadas: foliculitis, forúnculos, impétigo.
- Infecciones de heridas
- Infecciones profundas que se diseminan a partir de la piel para causar bacteriemia (con endocarditis o sin ella) y para comprometer huesos, articulaciones, órganos y tejidos profundos
- Síndrome de la piel escaldada en los recién nacidos
- Síndrome del shock tóxico
- Intoxicaciones alimentarias^{25,26}

Para un correcto diagnóstico de las infecciones por *S. aureus*, se debe tener en consideración que las muestras serán recolectadas según la localización del proceso (frotis superficiales, pus, sangre, material aspirado de la tráquea, líquido cefalorraquídeo, etc.).²³

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

En frotis teñidos con Gram se observan los estafilococos típicos pero no se puede distinguir entre patógenos y no patógenos.²³

Las muestras sembradas en agar a 37°C, en 24 horas producen colonias típicas: medianas a grandes; lisas, ligeramente elevadas, translúcidas; la mayoría con pigmento amarillo cremoso; la mayor parte de las colonias dan betahemólisis. Se utiliza como medios de cultivo agar con 5% de sangre de oveja y agar chocolate; también son útiles los medios de cultivo líquidos con sangre y los caldos nutritivos comunes. Los medios selectivos son muy útiles también para la identificación del microorganismo. *S. aureus* se desarrolla fácilmente en agar manitol salado que contiene una alta concentración de sal, el azúcar manitol y rojo fenol como indicador de pH. Esta bacteria tolera la presencia de sal y fermenta el manitol; produce colonias rodeadas por un halo amarillo.^{25,27}

Es importante realizar pruebas específicas para la identificación de *S. aureus* tales como la **prueba de la catalasa**, que detecta la presencia de citocromooxidasas colocando una pequeña cantidad de bacterias sobre un portaobjetos y luego vertiendo una gota de peróxido de

AUTORAS:



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

hidrógeno (H_2O_2) al 3%. La producción inmediata y abundante de burbujas indica la conversión del H_2O_2 en agua y oxígeno gaseoso.^{23,27}

Otra prueba importante, es la **prueba de la coagulasa**, que se realiza sembrando los microorganismos en un tubo que contiene plasma de conejo (citratado) o humano (preferible con EDTA) e incubándolo a 35°C. La presencia de la enzima produce la formación de un coágulo de fibrina dentro de 1 a 4 horas después de la siembra. Las pruebas negativas después de 4 horas de incubación, deben mantenerse a temperatura ambiente y leerse en 18 a 24 horas.^{23,25,27,28}

Staphylococcus aureus es un microorganismo que afecta de igual manera a individuos sanos como a inmunocomprometidos. Es el mayor causante de infecciones tanto de la comunidad como nosocomial. A este agente, están asociados el 40%²⁹ de los casos endocarditis infecciosa y el 99%³⁰ de los casos de intoxicación alimentaria por enterotoxinas estafilocócicas.^{23,29,30}

Para lograr un tratamiento efectivo, es necesario realizar las pruebas de sensibilidad, dado el incremento de la

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

resistencia de esta bacteria a la terapia. La resistencia a la penicilina G, puede predecirse mediante la positividad de la prueba para β -lactamasa.²³

2.2.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) pertenece al grupo de las enterobacteriáceas; son bacilos cortos (0,5 μ m por 3 μ m), no formadores de esporas, móviles gracias a flagelos peritricos. Crecen en condiciones aerobias y anaerobias (son anaerobios facultativos). Pocos días después del nacimiento, las bacterias entéricas se establecen en el intestino constituyendo la porción principal de la flora microbiana aerobia normal; también puede habitar el aparato genital femenino.^{24,25,27}

Cuando crecen *in vitro* sobre medio sólido se observa la morfología característica, pero en muestras clínicas la morfología es muy variable.²³

Su estructura antigénica comprende:

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- *Antígenos O*: Están en la parte más externa de la pared lipopolisacárida de la célula, constan de unidades repetidas de polisacáridos.
- *Antígenos K*: Son antígenos O externos, algunos son polisacáridos y otros son proteínas.
- *Antígenos H*: Situados sobre los flagelos.²³

El modo de transmisión varía con el tipo de infección y las manifestaciones clínicas producidas por esta bacteria, van a depender del sitio infectado. En el caso de las infecciones no gastrointestinales, los microorganismos pueden ser endógenos o diseminarse de persona a persona, sobre todo en el ámbito hospitalario; en el caso de las infecciones gastrointestinales, el modo de transmisión varía con el tipo de *E. coli* y puede involucrar la diseminación fecal-oral entre seres humanos a través de alimentos o agua contaminados o consumo de carne mal cocida o leche de ganado bovino contaminado.^{23,25}

E. coli como causa de infecciones extraintestinales, presenta factores de virulencia que incluyen endotoxinas, producción de cápsula y pili que median la adherencia a las

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

células del hospedero. Puede producir infecciones urinarias, bacteriemia, infecciones nosocomiales, etc.²⁵

- **Infecciones del aparato urinario:** *E. coli* es la principal causa de infección del aparato urinario, sobre todo en mujeres jóvenes. Los síntomas y signos incluyen poliuria, disuria, hematuria y piuria. El dolor en el flanco se asocia con infección de la parte superior del aparato urinario. Las infecciones de las vías urinarias pueden provocar bacteriemia con signos clínicos de septicemia.
- **Septicemia:** Se produce cuando las defensas normales del hospedero son deficientes, consecuencia de ello, estos microorganismos pueden alcanzar el torrente sanguíneo y causar septicemia.
- **Meningitis:** Casi el 75% de la *E. coli* procedente de casos de meningitis posee el antígeno K1, importante en la meningitis neonatal.²³

E. coli es comúnmente un microorganismo causante de diarrea y se ha clasificado según sus propiedades de virulencia, cada grupo tiene un mecanismo de enfermedad diferente.²³

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- ***E. coli enteropatógena (ECEP)***

Los factores de virulencia de esta variedad son: pili en racimos, intimina y otros factores que median la adherencia del microorganismo a las células de la mucosa del intestino delgado y que tienen como resultado cambios en la superficie de las células (pérdida de las microvellosidades).

Causa síndromes diarreicos principalmente en lactantes. La infección provoca diarrea acuosa, autolimitada pero podría ser crónica. La enfermedad ECEP se caracteriza por fiebre, malestar, vómitos y diarrea, con una cantidad importante de moco, pero no con mucha sangre.

Las cepas de *Escherichia coli enteropatógena*, son la causa principal de diarrea en los países pobres, los pacientes afectados habitualmente son niños de nivel socio-económico deficitario.^{23,25,27}

- ***E. coli enterotoxigénica (ECET)***

Factores de virulencia como los pili, permiten la colonización gastrointestinal. También produce

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

enterotoxinas termolábil (TL) y termoestable (TS) que median la secreción de agua y electrolitos hacia la luz intestinal.

Se transmite por alimentos y agua contaminados, produciendo una diarrea secretoria denominada “diarrea del viajero” y también diarrea de la infancia. Se presenta una hipersecreción intensa y prolongada de agua y cloruros, inhibiéndose la reabsorción de sodio que provoca distensión de la luz intestinal con aumento de peristalsis y diarrea que duran varios días.

La enfermedad causada por *E. coli enterotoxigénica* se caracteriza por una diarrea acuosa, náuseas, retortijones abdominales y fiebre de bajo grado.^{23,25,27}

- ***E. coli enterohemorrágica (ECEH)***

Produce verotoxina y está asociada con mayor frecuencia con ciertos serotipos, como *E. coli* O157:H7.

Causa inflamación y sangrado de la mucosa del intestino grueso (colitis hemorrágica); probablemente

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

secundaria a daño por toxina de las células del endotelio vascular. Típicamente presentan calambres abdominales y diarrea acuosa, seguida por descarga hemorrágica que se asemeja al sangrado del tracto intestinal inferior. No hay fiebre significativa ni células inflamatorias en la materia fecal.

También puede producir el síndrome urémico hemolítico por daño renal mediado por toxinas. Se presenta daño renal agudo, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática.

Se transmite por la ingestión de carne picada mal cocida o leche cruda.^{23,25,27}

- ***E. coli enteroinvasiva (ECEI)***

Presenta factores de virulencia dudosos, pero el microorganismo invade las células epiteliales de la mucosa intestinal.

Provoca disentería (necrosis, ulceración e inflamación del intestino grueso); por lo general en niños pequeños que viven en zonas con servicios sanitarios

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

deficientes. Los mecanismos patogénicos incluyen invasión de la mucosa colónica y proliferación dentro de las células epiteliales, que determina muerte celular.^{23,25,27}

- ***E. coli* enteroagregante (ECEA)**

Los factores de virulencia, probablemente involucran adherencia por medio de pili y toxinas similares a la TS y a hemolisinas.

Causa diarrea aguda y crónica (> 14 días de duración), se caracterizan por su adherencia a las células humanas. El resultado es daño a la mucosa, secreción de grandes cantidades de moco y diarrea secretora. El modo de transmisión no se conoce bien.
^{23,25,27}

Para diagnosticar infecciones causadas por *E. coli*, las muestras a ser analizadas deben ser recolectadas según lo indica la localización del proceso patológico; estas incluyen orina, sangre, pus, líquido cefalorraquídeo, esputo u otro material.²³

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno

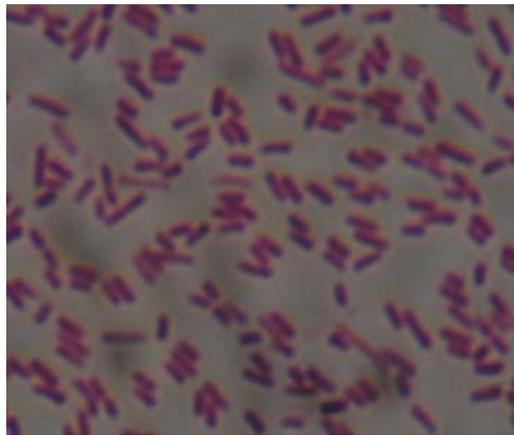


INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Al realizar el frotis y la tinción de Gram, se observan bacilos gramnegativos; pero hay que tener en cuenta que las enterobacteriáceas morfológicamente se parecen entre sí.

23

Figura 5. *E. coli*, tinción de Gram.



Las muestras se siembran en medios de cultivo como agar sangre de oveja al 5%, agar chocolate, agar EMB y agar MacConkey.²⁵

Las colonias son lisas, circulares, convexas, con bordes bien diferenciados. En agar MacConkey se observa fermentación de lactosa; colonias planas, secas, rosadas con un área circundante de color rosa más oscuro compuesto por sales biliares precipitadas. En agar EMB, las colonias adquieren un “brillo” iridiscente. Son catalasa-

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

positivos, oxidasa-negativos y reducen el nitrato a nitrito.
23,25,27

Para la identificación de enterobacteriáceas, se usa una batería de pruebas bioquímicas; los siguientes resultados se observan cuando la bacteria aislada es *E. coli*:

- **PRUEBA DE LA OXIDASA**

- **Fundamento:** La prueba de oxidasa se basa en la producción de la enzima oxidasa intracelular. La reacción de la oxidasa se debe a un sistema de citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular, el que a su vez actúa como un aceptor de electrones en la fase terminal del sistema de transferencia de electrones.
- **Procedimiento:** Añadir unas gotas del reactivo (Solución de diclorhidrato de tetrametil p-fenilendiamina al 1 % ó diclorhidrato de dimetil p-fenilendiamina al 1 %) a una tira de papel filtro ó utilizar discos comerciales impregnados con el reactivo desecado, frotar sobre éste una colonia

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

aislada, de un cultivo de 18-24 horas. La reacción de color positivo se produce a los 10 segundos.

○ **Interpretación:**

Oxidasa positiva: color morado a púrpura en el sitio de la inoculación

Oxidasa negativa: no producen ningún cambio de color.

E. coli: Oxidasa negativa.³¹

- **KLIGLER**

○ **Fundamento:** Determina capacidad de un microorganismo para atacar un carbohidrato específico incorporado en un medio de desarrollo basal, con producción de gas o sin ella, junto con la determinación de la posible producción de ácido sulfhídrico (H₂S).

○ **Interpretación:**

- **Fermentación de la lactosa y glucosa (ácido/ácido) (A/A):** Algunos microorganismos pueden fermentar la lactosa y la glucosa para obtener sus nutrientes. La fermentación de la glucosa se pone de manifiesto en la parte inferior

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

del medio al producirse un cambio de color debido al viraje del indicador de pH que pasa de rojo–naranja a amarillo (ácido) y la fermentación de la lactosa se aprecia por un cambio de color rojo a amarillo en la parte del pico de flauta del medio.

- **Producción de Gas (CO_2 y O_2):** Se presenta como producto final del metabolismo de los hidratos de carbono, se evidencia por la fragmentación del medio, por una sola burbuja de gas, por el desplazamiento completo del medio desde el fondo del tubo dejando una zona libre o por una ligera separación del medio de las paredes del tubo.
- **Formación de H_2S :** La fermentación de la glucosa en el fondo del tubo, le da la acidez necesaria a la bacteria, para producir H_2S , por lo tanto un fondo negro, debe leerse como ácido, aún cuando el color amarillo esté oscurecido por el precipitado.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

E. coli:³¹

Pico de Flauta	Fondo	Gas	H ₂ S
ácido (A)	ácido (A)	+	-

- **LISINA DESCARBOXILASA (LIA)**

○ **Fundamento:** Determina la capacidad enzimática de un microorganismo de descarboxilar un aminoácido (L-lisina) para formar una diamina (cadaverina) con la resultante alcalinidad.

○ **Interpretación:**

LIA positivo: Pico de flauta púrpura (alcalino) / fondo púrpura (alcalino) con H₂S (sólo se produce en medio alcalino) o sin él.

LIA negativo: Pico de flauta púrpura (alcalino) / fondo amarillo (ácido); solo fermentación de la glucosa.

E. coli: LIA positivo.³¹

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- **CITRATO**

- **Fundamento:** Determina si un microorganismo es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono para el metabolismo y el crecimiento con alcalinidad resultante.

- **Interpretación:**

Citrato positivo: Crecimiento con un intenso color azul en el pico de flauta.

Citrato negativo: Ausencia de crecimiento y ningún cambio en el color (verde).

E. coli: Citrato negativo.³¹

- **UREASA**

- **Fundamento:** Se basa en la capacidad de un microorganismo de hidrolizar la urea en dos moléculas de amoníaco por la acción de la enzima ureasa, con la resultante alcalinidad.

- **Interpretación:**

Ureasa positivo: Color rosa – rojo intenso en el pico de flauta.

Ureasa negativo: Sin cambios de color (amarillo pálido).

E. coli: Ureasa negativo.³¹

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- ROJO DE METILO – VOGUES PROSKAUER
(MRVP)

▪ ROJO DE METILO (MR)

○ **Fundamento:** Esta prueba está basada en el uso de un indicador de pH, el rojo de metilo, para determinar la concentración de ión hidrógeno (pH) cuando un microorganismo fermenta la glucosa.

○ **Procedimiento:** Retirar de manera aséptica una alícuota del caldo de cultivo, y agregar 5 gotas de indicador rojo de metilo e interpretar el color del resultado inmediatamente.

○ **Interpretación:**

MR positivo: El cultivo es suficientemente ácido para permitir que el reactivo rojo de metilo permanezca de un color rojo brillante.

MR negativo: Color amarillo en la superficie del medio.

E. coli: MR positivo.³¹



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

▪ **VOGUES PROSKAUER (VP)**

○ **Fundamento:** Determina la capacidad de algunos microorganismos para producir un producto final neutro, acetil-metilcarbinol (AMC, acetoína), a partir de la fermentación de la glucosa.

○ **Procedimiento:**

1. Retirar de manera aséptica una alícuota del caldo de cultivo.

2. Agregar los reactivos de VP directamente en el siguiente orden:

- Seis gotas del reactivo α -naftol
- 2 gotas de KOH al 40%

○ **INTERPRETACION:**

VP positivo: Color rosado-rojo en la superficie del medio (acetoína presente)

VP negativo: Color amarillo en la superficie del medio (igual color del reactivo). Puede formarse un color cobrizo, pero es un resultado negativo debido a la acción de los reactivos cuando se mezclan.

E. coli: VP negativo.³¹



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- **SULFURO, INDOL, MOTILIDAD (SIM)**

▪ **SULFURO**

- **Inoculación:** Se siembra por picadura en el centro del medio, introduciendo la aguja con cuidado hasta unos 0.6 cm del fondo y extrayéndola siguiendo el mismo recorrido de entrada.
- **Formación de H_2S (S):** Se manifiesta por un ennegrecimiento del medio en la línea de inoculación.

E. coli: H_2S negativo.³¹

▪ **INDOL (I)**

- **Fundamento:** Determina la capacidad de las bacterias de degradar el triptófano dando indol.
- **Procedimiento:** Luego de la incubación añadir 1ml de éter al cultivo, agitar bien y esperar hasta que el solvente extraiga el indol a la superficie. Entonces dejar resbalar suavemente por la pared del tubo 0.5ml del reactivo de Ehrlich

El reactivo de Ehrlich contiene: para-dimetilaminobenzaldehído: 2g, alcohol etílico 95%: 190ml y ácido clorhídrico concentrado 40ml.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

○ **Interpretación:**

Indol positivo: El indol concentrado en la capa superficial, formará un anillo de color rojo al añadir el para-dimetilaminobenzaldehído.

Indol negativo: Ningún cambio de color, el medio permanece de color amarillo pálido.

E. coli: Indol positivo.³¹

▪ **MOTILIDAD (M)**

○ **Fundamento:** Determina si un microorganismo es móvil o inmóvil. Las bacterias son móviles por medio de flagelos, estos aparecen sobre todo entre los bacilos.

○ **Interpretación:**

Motilidad positiva (móvil): Microorganismo móviles que migran desde la línea de siembra y difunden en el medio, lo que produce turbidez.

Motilidad negativa (inmóvil): Crecimiento bacteriano acentuado a lo largo de la línea de siembra; el medio que lo rodea permanece claro.

E. coli: motilidad positiva.³¹



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Escherichia coli es el patógeno que con mayor frecuencia ocasiona infecciones de vías urinarias. Se presenta en el 60 a 90%³² de niños y es responsable casi del 90%²⁷ de las infecciones urinarias primarias en mujeres jóvenes. En varones la incidencia es menor del 1%³³ a los 60 años. Causa meningitis en el 50%³⁵ de casos y septicemia en neonatos en un 75%³³.^{27,32,33}

2.3 ENVOLTURA BACTERIANA: DIFERENCIAS ENTRE LAS ESTRUCTURAS DE BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y GRAMNEGATIVAS

Los microorganismos gramnegativos poseen una envoltura celular más compleja que los grampositivos. La figura 6, muestra que la célula gramnegativa presenta una membrana externa (exclusiva de estas bacterias) y una delgada capa de peptidoglucano; en cambio, la célula grampositiva posee una gruesa capa de peptidoglucano.

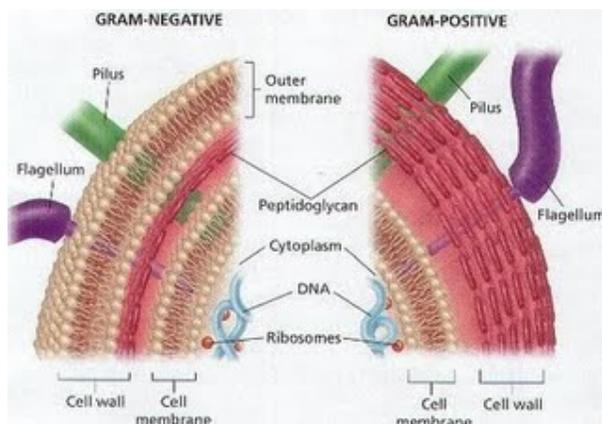
Figura 6. Composición de la pared celular de las bacterias gramnegativas y grampositivas.³⁴

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO



La membrana externa mantiene la estructura bacteriana y constituye una barrera impermeable a moléculas de gran tamaño y moléculas hidrófilas; además, le ofrece protección frente a condiciones ambientales adversas.

Las estructuras antes mencionadas, presentan también diferencias en sus constituyentes químicos, como muestra la figura 7.³⁵

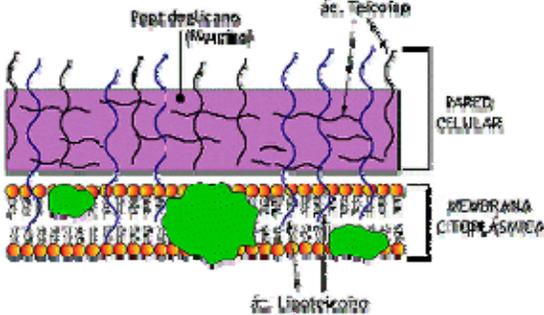
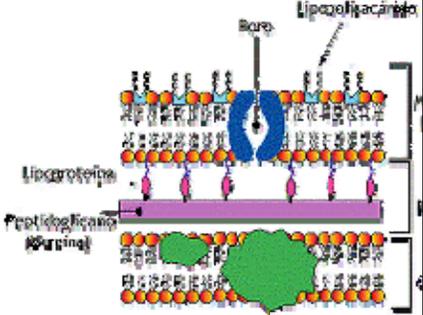
AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Figura 7. Diferencia de los constituyentes químicos de bacterias grampositivas y gramnegativas.³⁶

<p style="text-align: center;">Bacteria Grampositiva</p> 	<p style="text-align: center;">Bacteria Gramnegativa</p> 
<p>Peptidoglucano: Cadenas tipo glucano de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico, unidas mediante un puente peptídico.</p> <p>Ácido teicóico: Fosfato de polirribitol o glicerol-fosfato unidos al peptidoglucano.</p> <p>Ácido lipoteicoico: Ácido teicóico unido a lípidos.</p>	<p>Peptidoglucano: Versión más delgada del peptidoglucano que se encuentra en las bacterias grampositiva.</p> <p>Espacio periplásmico: Enzimas que participan en los mecanismos de transporte,</p>

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
 Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

	<p>degradación y síntesis.</p> <p>Membrana externa:</p> <p>Fosfolípidos con ácidos grasos saturados.</p> <p>Lipopolisacárido:</p> <p>Lípido A, polisacárido central (<i>core</i>), antígeno O.</p> <p>Poro: Para el transporte de sustancias de peso molecular bajo.</p>
--	---

2.4 RESISTENCIA DE LOS MICROORGANISMOS A LOS ANTIMICROBIANOS

Escherichia coli y *Staphylococcus aureus*, son las bacterias que con mayor frecuencia causan infecciones tanto a nivel ambulatorio como intrahospitalario, presentando un serio problema para el área de la salud, debido al incremento de la resistencia frente a la terapia antimicrobiana. Un proceso

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

evolutivo, las ha llevado a crear sistemas de defensa que impiden el ataque de los antimicrobianos y consecuencia de ello, es la disminución del número de medicamentos útiles para tratar las infecciones causadas por estos microorganismos.

Un artículo publicado por la Dra. Jeannete Zurita, indica que en estudios realizados en el Ecuador, en el año 2004, la resistencia adquirida por *S. aureus* de la comunidad es del 19% para la oxacilina, 26% para la clindamicina y eritromicina, 12% para el trimetoprim sulfametoxazol, 6% para la rifampicina, 14% para la gentamicina y 16% para la ciprofloxacina.³⁷

En el caso de las cepas hospitalarias de *S. aureus*, se revelan datos de resistencia del 24% para la oxacilina, 21% para la clindamicina, 30% para la eritromicina, 13% para el trimetoprim sulfametoxazol, 7% para la rifampicina, 16% para la gentamicina y 18% para la ciprofloxacina.³⁷

En cuanto a *E. coli*, como indica la Dra. Jeannete Zurita, el estudio realizado de la resistencia de este microorganismo aislado de urocultivos en mujeres mayores de 15 años, en

AUTORAS:



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

hospitales de Guayaquil, Cuenca y Quito, durante el año 2003-2004, evidencia la disminución de la sensibilidad: 55-95% para la ampicilina, 19-76% para la ampicilina sulbactam, 3-28% para la cefuroxima, 2-16% para la ceftriaxona, 2-6% para la amikacina, 9-36% para la gentamicina, 30-65% para la ciprofloxacina, 2-16% para la nitrofurantoína y de 47-77% para el trimetoprim sulfametoxazol.³⁷

Estos resultados son preocupantes y representan un grave inconveniente a la hora de elegir un tratamiento adecuado; por ello, es indispensable investigar alternativas a la terapia actual a fin de restablecer la salud del paciente.

Por lo expresado anteriormente, y en busca de superar este problema, se realizan numerosas investigaciones encaminadas a la obtención de nuevos antimicrobianos provenientes de plantas medicinales, que desde la antigüedad, han sido reconocidas por sus cualidades antisépticas.³⁸

Estudios de actividad antibacteriana de aceites esenciales refieren que dicha propiedad se debe en gran medida a la presencia de un tipo de compuestos: “los terpenoides”,

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

cuyo orden de actividad coloca en primer lugar a los que contienen grupos alcoholes, luego a los que poseen grupos aldehídos y por último a los que tienen grupos cetónicos. Aunque no se sabe con claridad el mecanismo de acción de estos compuestos, se ha propuesto que posiblemente ejercen su efecto sobre la membrana celular, desencadenando procesos que lleven a la muerte bacteriana.³⁹

En cuanto a la calidad de los principios activos de las plantas, se deberían considerar los factores que pudieran influir en la concentración y naturaleza de estos compuestos a la hora de realizar investigaciones sobre actividad antimicrobiana. La altitud, por ejemplo, es uno de los factores que pudieran influir en la producción de principios activos; las esencias de las plantas pueden alcanzar un máximo a ciertas altitudes. Se ha encontrado que los componentes amargos de la *Gentiana lutea* (genciana amarilla) aumentan con la altitud, mientras que los alcaloides del *Aconitum napellus* (acónito) y *Lobelia inflata* (tabaco indio), disminuyen.¹

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Teniendo presente todo esto, a la hora de realizar investigaciones sobre actividad antimicrobiana, sería conveniente estudiar los factores que pudieran influir sobre la concentración de los principios activos, para determinar las condiciones propicias en las que las plantas presentan un máximo rendimiento de principios activos, a fin de incrementar la eficacia en el efecto inhibitorio frente a los microorganismos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES

3.1.1 SOLVENTES

- Etanol 99,6% calidad pharmacopeia, (J.T Baker; México; Lote E38C63)
- Dimetilsulfóxido (DMSO) máximo 0,05% de agua calidad analítica (Merck; Darmstadt, Alemania; Código K29047331)
- Agua destilada

3.1.2 EQUIPOS

- Estufa Pro-3 (Cuenca, Ecuador)

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- Balanza analítica Boeco (Alemania)
- Rotavapor Heidolph Laborota 4000 efficient (Alemania)
- Baño de ultrasonido Cole-Parmer 8893 (Vernon Hills, Illinois USA)
- Congelador Dairei Freezer (Dinamarca)
- Liofilizador Labconco Freezone 2.5 (Kansas City, Missouri)
- Destilador de agua automático FANEM Modelo 724 (Sao Paulo, Brasil)
- Autoclave Eastern Medical EA-652
- Cámara de flujo laminar Labconco Class II Modelo 36204/36205 Type A2 (Kansas City, Missouri)
- Espectrofotómetro Modelo 690 (Taiwan)
- Estufa para incubación New Line Modelo 100^a (Fabricación Nacional)
- Microscopio Binocular Olympus Modelo CX31RBSFA (Tokyo, Japón)
- Agitador vortex Genie 2 Modelo G-5 (USA)
- Pipetas automáticas Boeco (Alemania)
- GPS Explorist 600 Magellan (China)

3.1.3 MEDIOS DE CULTIVO Y PRUEBAS BIOQUÍMICAS

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- Caldo tripticasa-soya (Becton Dickinson; EEUU; Lote 8177625)
- Agar tripticasa soya (IMEDIA; India; Lote 0000051499)
- Suero fisiológico (Baxter; Cali, Colombia; Lote SB09IA5)
- Oxidasa (Merck; Alemania; Lote HC822225)
- Kligler (Merck; Alemania; Lote 637)
- Lisina descarboxilasa (Difco; EEUU; Lote 796653)
- Citrato (Merck; Alemania; Lote 41980051)
- Ureasa (Merck; Alemania; Lote 023)
- Rojo de Metilo-Voges Proskauer (Merck; Alemania; Lote 42047731)
- Sulfuro, Indol, Motilidad (Merck; Alemania; Lote 41710425)

3.1.4 MUESTRAS VEGETALES

Se recolectaron las muestras vegetales en las diferentes localidades (Tabla 1); previo al procesamiento, las plantas fueron identificadas.

Tabla 1. Lugar de recolección de las plantas y parte vegetal empleada.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

PLANTA	PARTE DE LA PLANTA	LUGAR DE RECOLECCIÓN
Malva olorosa (<i>Pelargonium odoratissimum</i>)	Hojas	Mercado 10 de Agosto, Cañar
Ajenjo (<i>Artemisia absinthium</i>)	Hojas	Cañar, Sayausí
Ortiga (<i>Urtica urens</i>)	Hojas	Sayausí

3.1.5 MICROORGANISMOS

Para la práctica se utilizaron cepas de *Staphylococcus aureus* American Type Culture Collection (ATCC) 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922, activadas en agar tripticasa-soya y teñidas con Gram para la identificación de cocos grampositivos y bacilos gramnegativos respectivamente; además se realizaron las pruebas bioquímicas de catalasa y coagulasa correspondientes a *S. aureus* y oxidasa, Kligler, LIA, citrato, urea y SIM para *E. coli*.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



3.2 MÉTODOS

3.2.1 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

Se seleccionó el material vegetal, se lavó en agua corriente y se realizó un último lavado en agua destilada por 10 minutos, se escurrió y luego se secó en estufa a 40°C, se almacenó en doble funda de papel, hasta el momento de la extracción.

Se pesó 20g de la droga seca, se pulverizó y se comprobó su peso. Luego, se humectó con suficiente volumen de solvente de extracción (mezcla hidroalcohólica de etanol:agua; 70:30), y se dejó en reposo por 12 horas antes de transferir al percolador. La percolación es un procedimiento de extracción continua a temperatura ambiente; el solvente permanece en contacto con la droga extrayendo los principios activos y logrando un agotamiento prácticamente total de la droga, aunque con un elevado consumo de disolvente debido a que en todo momento se mantiene el desequilibrio entre la concentración del principio activo en la droga y en el disolvente, con la finalidad de que se produzca la difusión celular.^{40,41}

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Una vez colocada la mezcla en el percolador, se vertió la cantidad necesaria del solvente para saturar la droga. Se tapó la parte superior del percolador y se cerró el orificio inferior cuando estuvo cerca de gotear el extracto. Se dejó en maceración por 24 horas y luego se percoló a razón de 20 gotas por minuto adicionando gradualmente el solvente suficiente hasta obtener el 75% en volumen del extracto respecto al peso de la droga (fracción A), se almacenó este primer extracto. Para agotar todos los principios activos de la droga, se continuó añadiendo el solvente (fracción B).⁴⁰

Una vez que la fracción B fue colocada en un balón de fondo redondo y concentrada usando un rotavapor hasta obtener el 25% del volumen de extracto respecto al peso de la droga, se adjuntó la fracción A y se evaporó el solvente a sequedad; se pasó el concentrado a los tubos de liofilización y se lavó el balón del rotavapor con una fracción del solvente de extracción empleando el limpiador de baño de ultrasonido y se añadió a los tubos de liofilización.

AUTORAS:

**María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno**



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Para facilitar la liofilización, se añadió agua suficiente para que la concentración de solvente fuera de 80% agua y 20% etanol. Se congeló el extracto a -80°C y luego se liofilizó. El polvo obtenido, corresponde a los principios activos de la planta que fueron almacenados en refrigeración hasta la realización las pruebas de actividad antibacteriana.

En la siguiente tabla, se indica el peso de la droga seca empleada para la extracción; el peso de los principios activos liofilizados y el rendimiento de la droga.

Para calcular el rendimiento de la droga se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{Rendimiento de la droga} = \frac{\text{Peso de la droga liofilizada}}{\text{Peso de la droga seca}} \times 100$$

Tabla 2. Peso del extracto liofilizado y rendimiento de la droga.

PLANTA	PESO	PESO	RENDIMIENTO
--------	------	------	-------------

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

	DROGA SECA	EXTRACTO LIOFILIZADO	DE LA DROGA
Malva olorosa	20g	5,2749g	26,3745%
Ajenjo	20g	4,1257g	20,6285%
Ortiga	20g	2,8986g	14,493%

3.2.2 CONTROL DE LA TÉCNICA

Para este fin, se empleó:

- Ampicilina inyectable, como control positivo de la (CIM);
- Tubos con DMSO, como control negativo de la CIM;
- Tubos con extractos, como control de su esterilidad;
- Tubos con caldo tripticasa-soya sin inóculo, como control negativo de crecimiento bacteriano; y
- Tubos con caldo tripticasa-soya inoculado, como control positivo de crecimiento bacteriano.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

3.2.3 DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA: DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Este método consiste en atacar al microorganismo con agentes antimicrobianos en un medio líquido, obteniendo la CIM, que es la mínima concentración de antimicrobiano, que inhibe por completo el desarrollo bacteriano. Para las pruebas de sensibilidad, se recomienda el uso de caldo tripticasa-soya, o caldo Mueller-Hinton.^{26,42}

Se partió de una solución madre de extracto de planta. Para ello, se disolvió 50mg del extracto seco liofilizado en 0.5ml de DMSO y se adicionó 2.625ml de caldo tripticasa-soya para obtener una concentración de 16mg/ml; a partir de esta solución se procedió a realizar diluciones decrecientes de 8mg/ml, 4mg/ml, 2mg/ml y 1mg/ml.⁴³

Para el control positivo de la CIM, se prepararon distintas diluciones de ampicilina con concentraciones de 256 μ g/ml, 128 μ g/ml, 64 μ g/ml, 32 μ g/ml, 16 μ g/ml, 8 μ g/ml, 4 μ g/ml, 2 μ g/ml, 1 μ g/ml, 0.5 μ g/ml y 0.250 μ g/ml.⁴³

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Se estandarizó la suspensión de bacterias con el patrón 0,5 de MacFarland ($1,5 \times 10^8$ ufc/ml) en crecimiento exponencial, que corresponde a una absorbancia entre 0.08-0.10 a 625nm; y luego, para alcanzar una concentración de 10^5 - 10^6 células/ml, se hizo una dilución 1/200 de la suspensión microbiana.⁴³

Para determinar la CIM, se colocaron series de tubos correctamente etiquetados. En cada uno de los tubos para el control con antibióticos, se colocó 0.5ml de las concentraciones decrecientes preparadas con anterioridad; y, para los tubos de prueba con los extractos de plantas, se colocó 0.5ml de las concentraciones decrecientes para cada uno de los extractos de plantas y por triplicado. A todos los tubos se añadió 0.5ml de la suspensión bacteriana y se incubaron por 18-24 horas a 37°C.

De la suspensión de bacterias 1/200 se realizaron diluciones 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 y 1/100000 para sembrar 10 μ l y 100 μ l en placas con agar tripticasa soya a fin que a las 24 horas de incubación, se pudieran contar las colonias para establecer el número de microorganismos presentes en el inóculo de cada tubo. Se debe tener en

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

cuenta la importancia que tiene una buena agitación de la suspensión bacteriana para lograr una correcta distribución de las células.

En cajas petri con agar tripticasa-soya, se sembró e incubó por 24 horas, 100 μ l de cada uno de los extractos inoculados el día anterior para observar si hubo presencia o no de crecimiento microbiano (en caso de haber crecimiento, se contrarán las colonias). Se considera como CIM la del tubo con mayor dilución del antibiótico y extractos de plantas que hayan inhibido el crecimiento bacteriano.⁴³

3.2.4 CÁLCULO DEL NÚMERO DE ufc/ml Y DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN

Para poder determinar el porcentaje de inhibición, de cada uno de los tubos, se sembraron 100 μ l en placas con agar tripticasa-soya; así como también de los controles positivos de crecimiento bacteriano. A continuación, se indican las fórmulas que se utilizaron para calcular tanto las ufc/ml como el porcentaje de inhibición:

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

3.2.4.1 Fórmula para calcular ufc/ml

Volumen que se tomó para la siembra (100 μ l) Número de colonias contadas

1000 μ l (1ml) en la placa

x=

ufc/ml

ufc/ml = $\frac{1000 \mu\text{l (1ml)} \times \text{Número de colonias contadas en la placa}}{\text{Volumen que se tomó para la siembra (100 } \mu\text{l)}$

3.2.4.2 Cálculo de crecimiento bacteriano del control positivo

Antes de la incubación, la suspensión bacteriana estaba entre 10^5 - 10^6 ufc/ml; pero, luego de un período de incubación de 18-24 horas las bacterias se multiplicaron excediendo el rango antes indicado. Para tener un

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

estimado de cuántas ufc/ml estuvieron en el control positivo, se realizaron diluciones y la siembra en placa de dicho control; para el cálculo, se tomó la caja con menor dilución cuyas colonias pudieron ser contadas. Al multiplicar el contaje por la dilución, se obtuvo el número de ufc/ml presentes en el control positivo incubado.

3.2.4.3 Fórmula para calcular el porcentaje de inhibición

ufc/ml del control positivo	100% de crecimiento
ufc/ml de los extractos	x= % de
crecimiento	

$$\% \text{ de crecimiento} = \frac{\text{ufc/ml de los extractos}}{\text{ufc/ml del control positivo}} \times 100\% \text{ de crecimiento}$$

ufc/ml del control positivo

$$\% \text{ de inhibición} = 100 - \% \text{ de crecimiento}$$

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
 Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



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

**INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO**

Una vez determinada la actividad antimicrobiana de los extractos de malva olorosa, ortiga y ajeno, se procedió a la recolección de las plantas en tres alturas diferentes; la altitud se midió con la ayuda de un GPS (Tabla 3).

AUTORAS:

**María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno**



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Tabla 3. Lugar de recolección de las plantas, altura y parte vegetal empleada.

PLANTA	PARTE DE LA PLANTA	LUGAR DE RECOLECCIÓN, ALTURA		
		1	2	3
Malva olorosa (<i>Pelargonium odoratissimum</i>)	Hojas	Cañar: 3133ms nm	Santa Isabel: 1560ms nm	Zhumir : 2215m snm
Ajenjo (<i>Artemisia absinthium</i>)	Hojas	Cañar: 3133ms nm	Quinoa pata: 3451ms nm	Sayau sí: 2802m snm
Ortiga (<i>Urtica urens</i>)	Hojas	Paute: 2217ms nm	Quinoa pata: 3451ms	Sayau sí: 2802m

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

			nm	snm
--	--	--	----	-----

Las plantas fueron identificadas y procesadas como se indica en el punto 3.2.1., con la diferencia de que para la extracción se utilizó 5g de droga. El rendimiento de la droga se indica en la tabla 4.

Tabla 4. Peso del extracto liofilizado y rendimiento de la droga.

PLANTA	PESO DROGA SECA	PESO EXTRACTO LIOFILIZADO	RENDIMIENTO DE LA DROGA
Malva olorosa Santa Isabel	5g	0,6991g	13.98%
Malva olorosa Cañar	5g	0,8956g	17.91%
Malva olorosa Zhumir	5g	0,7122g	14.24%
Ajenjo Cañar	5g	1,1899g	23.79%
Ajenjo Quinuapata	5g	1,1941g	23.88%

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Ajenjo Sayausí	5g	1,1433g	22.86%
Ortiga Paute	5g	1,1586g	23.17%
Ortiga Quinuapata	5g	1,3594g	27.18%
Ortiga Sayausí	5g	0.7246g	14.49%

El análisis microbiológico se realizó como lo indica el punto 3.2.3 y se calculó el porcentaje de inhibición según los puntos 3.2.4.1, 3.2.4.2, 3.2.4.3.

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó en base a los datos de crecimiento bacteriano expresados en ufc/ml. Los resultados fueron analizados mediante Software Microsoft Excel 2007 empleando, para los extractos de malva olorosa, el análisis de varianza (ANOVA), debido a que se obtuvo un mayor número de datos para el análisis; y, para los extractos de ajeno y ortiga, el análisis t-student para dos muestras suponiendo varianzas desiguales, por el número reducido de datos obtenidos que no pudieron ser analizados mediante ANOVA.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Todo el análisis estadístico ha sido realizado con un nivel de confianza del 0,05.

3.3.1 ANOVA para los extractos de malva olorosa

El ANOVA puede ser considerado como una manera de verificar si dos o más medias muestrales fueron extraídas de una misma población o de poblaciones con el mismo valor esperado, para una magnitud dada. En consecuencia, cuando estas medias muestrales no sean coincidentes habrá que suponer que provienen de poblaciones diferentes por el efecto causado por un factor en estudio.⁴⁴

Las hipótesis para esta prueba son las siguientes:

- Ho: Los factores no inducen diferencias en la actividad antibacteriana (no existe diferencia en la actividad).
- H1: La actividad antibacteriana de al menos una de las combinaciones de factores (altura y concentración) es diferente.

Se debe tener en cuenta que si se acepta la Ho no significa que se haya probado que es verdad, sólo que no se ha demostrado que sea falsa.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Interpretación:

- Si el valor de la probabilidad de la prueba es menor que 0.05, se rechaza la H_0 planteada.
- Si F experimental es mayor que F crítico, se rechaza la H_0 planteada; en caso contrario, se aceptaría.

3.3.2 Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales, para los extractos de ajeno y ortiga

La prueba t, también se puede usar cuando se desean comparar dos muestras entre sí, para detectar si hay diferencia significativa entre ellas, debido a algún factor analizado.

Las hipótesis para esta prueba son las siguientes:

- H_0 : No hay diferencias de actividad antibacteriana entre las dos plantas a diferentes altitudes.
- H_1 : Las dos plantas tienen diferente actividad antibacteriana a diferentes altitudes.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



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

INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Interpretación:

- Si el valor absoluto de t experimental es mayor o igual a t crítico, entonces, se rechaza la H_0 planteada por haber encontrado evidencia estadística significativa, en caso contrario, no se rechazaría la H_0 .⁴⁵

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En numerosos trabajos publicados, los investigadores han validado el uso terapéutico tradicional de las plantas medicinales, entre ellos el efecto antimicrobiano que éstas pudieran presentar.

Con tal inquietud, se decidió determinar la actividad antibacteriana de los extractos de malva olorosa, ortiga y ajeno y la posible influencia de la altitud de procedencia de la planta, sobre dicha actividad. Para ello, se empleó el método de dilución seriada en tubo de ensayo. Este método, pese a ser laborioso, por su calidad de macro-método tiene la ventaja de disminuir el error en las mediciones de los volúmenes tomados, incrementando la exactitud de los resultados; y aunque no se pudo determinar visualmente la CIM como indica la técnica, debido a la interferencia provocada por la coloración de los extractos, se procedió a la siembra en placa de las diluciones de cada extracto, incubadas por 18-24 horas, para evidenciar la ausencia o presencia de crecimiento bacteriano. El porcentaje de inhibición se determinó en las

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

cajas con ausencia de crecimiento bacteriano y en aquellas que presentaron un crecimiento no mayor a 200 colonias.

El mismo proceso se aplicó tanto en el estudio preliminar para determinar la actividad antibacteriana, como en el estudio de la posible influencia que la altitud pueda ejercer sobre este efecto.

En las tablas 5 y 6, se indican los resultados obtenidos en la primera parte del trabajo correspondiente a las pruebas con *S. aureus* y *E. coli* respectivamente:

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Tabla 5. Actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*.

Planta*	Dilución mg/ml**	# de colonias de <i>S. aureus</i> °			<i>S. aureus</i> : ufc/ml del inóculo incubado 24h ^	ufc/ml <i>S. aureus</i> °°			% de inhibición, siembra 100ul, <i>S. aureus</i> ^^			Media del porcentaje de inhibición ^^^
		Réplica***				Réplica***			Réplica***			
		1	2	3		1	2	3	1	2	3	
<i>Malva olorosa</i> (mercado, Cañar)	8	0	0	0	$7,9 \times 10^9$	0	0	0	100	100	100	100
	4	0	4	1	$7,9 \times 10^8$	0	40	10	100	99,99999494	99,99999873	99,9999979
	2	6	4	4	$7,9 \times 10^8$	60	40	40	99,99999241	99,99999494	99,99999494	99,9999941
	1	i	i	i	$7,9 \times 10^8$	i	i	i	0	0	0	0
<i>Ajenjo</i> (Sayausí, Cañar)	8	1	0	0	$7,9 \times 10^8$	10	0	0	99,99999873	100	100	99,9999996
	4	i	i	i	$7,9 \times 10^8$	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	$7,9 \times 10^8$	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	$7,9 \times 10^8$	i	i	i	0	0	0	0
<i>Ortiga</i> (Sayausí)	8	0	0	0	$7,9 \times 10^8$	0	0	0	100	100	100	100
	4	i	i	i	$7,9 \times 10^8$	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	$7,9 \times 10^8$	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	$7,9 \times 10^8$	i	i	i	0	0	0	0

* Se indica la planta y su procedencia. **Dilución expresada en mg/ml. ***Número de ensayos. ° Número de colonias contadas en cada caja. ^Inóculo incubado 24h y número de colonias expresado en ufc/ml. °° Número de colonias expresadas en ufc/ml contadas en cada ensayo. ^^ Cálculo del porcentaje de inhibición a partir del conteo de colonias presentes en 100µl de dilución de extracto incubado 24h.^^^Media del porcentaje de inhibición: Promedio de los porcentajes de inhibición de los tres ensayos. i: Incontable.

Tabla 6. Actividad antimicrobiana frente a *E. coli*.

Planta*	Dilución mg/ml**	# de colonias de <i>E. coli</i> °			<i>E. coli</i> : ufc/ml del inóculo incubado 24h ^	ufc/ml <i>E. coli</i> °°			% de inhibición, siembra 100ul, <i>E. coli</i> ^^			Media del porcentaje de inhibición ^^^
		Réplica***				Réplica***			Réplica***			
		1	2	3		1	2	3	1	2	3	
<i>Malva olorosa</i> (mercado, Cañar)	8	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
<i>Ajenjo</i> (Sayausí, Cañar)	8	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
<i>Ortiga</i> (Sayausí)	8	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1×10^7	i	i	i	0	0	0	0

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
 Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

* Se indica la planta y su procedencia. **Dilución expresada en mg/ml. ***Número de ensayos. ° Número de colonias contadas en cada caja. ^Inóculo incubado 24h y número de colonias expresado en ufc/ml. °° Número de colonias expresadas en ufc/ml contadas en cada ensayo. ^^ Cálculo del porcentaje de inhibición a partir del conteo de colonias presentes en 100 μ l de dilución de extracto incubado 24h.^^^Media del porcentaje de inhibición: Promedio de los porcentajes de inhibición de los tres ensayos. i: Incontable.

Las tres plantas presentaron actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* en la mayor dilución (8mg/ml), observándose una inhibición del 99,99% al 100%; aunque, la malva olorosa, tuvo un mejor efecto antibacteriano debido a que la CIM fue de 2mg/ml (99,99% de inhibición); pero la respuesta fue diferente con *E. coli*, ya que a las concentraciones evaluadas, no se detectó inhibición. En la tabla 7, se puede observar lo dicho.

Tabla 7. CIM y porcentaje de inhibición de los extractos frente a *S. aureus* y *E. coli*.

Planta*	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	CIM (mg/ml)**	% inhibición***	CIM (mg/ml)**	% inhibición***
<i>Malva olorosa (mercado, Cañar)</i>	2	99,99999409	> 8	0
<i>Ajenjo (Sayausí, Cañar)</i>	8	99,99999958	> 8	0
<i>Ortiga (Sayausí)</i>	8	100	> 8	0

*Se indica la planta y su procedencia. **Concentración mínima inhibitoria expresada en mg/ml. ***Porcentaje de inhibición.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Machado y col., manifiestan que el aceite esencial de *Pelargonium odoratissimum* obtenido por arrastre de vapor, fue probado mediante difusión radial en agar y presentó actividad antibacteriana frente a *S. aureus* en diluciones de 1:100 (v/v), y frente a *E. coli*, en diluciones de 1:10 (v/v). A pesar de que su técnica es diferente a la utilizada en nuestro trabajo, lo importante es que se aprecia una acción inhibitoria de los principios activos de la malva olorosa sobre el *S. aureus* que coincide con nuestros resultados. En el caso de *E. coli* no obtuvimos inhibición alguna, situación que puede deberse a la diferencia de componentes activos presentes en los aceites esenciales y el extracto hidroalcohólico marcado por el diferente método de extracción e incluso por la concentración del extracto, que pudiera ser insuficiente para inhibir el crecimiento de esta bacteria.⁴⁶

Ahora bien, en un estudio realizado por J. Lalli (2005), con varias especies de *Pelargonium*, los extractos obtenidos con acetona presentaron una CIM de 0,039mg/ml para *P. pseudoglutinosum* y de 4mg/ml para *P. hispidum* (geranio hispido) frente a *S. aureus*. En las pruebas con los aceites esenciales, las inhibiciones fueron de 4mg/ml para *P.*

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

citronellum (geranio limón) y de 8mg/ml para *P. graveolens* (geranio rosa). Estas cuatro especies de *Pelargonium* presentaron actividad antibacteriana, atributo que pudiera aplicarse a otras especies de la misma familia como el *Pelargonium odoratissimum* cuyo extracto hidroalcohólico fue probado obteniendo una CIM de 2mg/ml frente a *S. aureus*.⁴⁷

Cabe señalar, también, que la malva olorosa contiene en su aceite esencial una mezcla de terpenoides: monoterpenos como el geraniol, terpineol, citronelol, linalol, borneol y sesquiterpenos que son activos frente a las bacterias. Se atribuye, además, las propiedades antibacterianas a los compuestos fenólicos como el metileugenol; conforme indica un estudio realizado por Lis-Balchin y Roth, en el que se encontró un alto contenido de este compuesto en el *P. odoratissimum* con actividad frente a *S. aureus*.^{39,48}

En lo que a las pruebas con el ajeno concierne, la CIM que obtuvimos para *S. aureus* fue de 8mg/ml y el resultado frente a *E. coli* fue negativo, es decir que a una concentración de 8mg/ml, el extracto hidroalcohólico del

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

ajenjo no tuvo efecto inhibitorio sobre esta bacteria. Guerra y col. (2001), reportan una CIM de 13mg/ml para *S. aureus* (mayor a la CIM obtenida en nuestro trabajo) y una CIM de 13mg/ml para *E. coli*. Como no probamos concentraciones mayores de extracto con *E. coli*, no podríamos asegurar que el ajenjo es inefectivo frente a este microorganismo.⁴⁹

La actividad antibacteriana del ajenjo pudo deberse a la presencia de componentes que se han reportado con esta propiedad. En un estudio realizado Nin y col., se identificaron ocho de estos compuestos: □ y □ tuyona, terpinen-4-ol, linalol, nerol, geraniol, □-pineno, 1,8-cineol.⁵⁰

En el caso de la ortiga, se obtuvo una CIM de 8mg/ml frente a *S. aureus* y no presentó actividad frente a *E. coli*. El compuesto responsable de la acción del extracto frente a *S. aureus*, podría ser la patuletina; por cuanto, Mosaad y col. (2005), reportan que en el extracto metanólico de *Urtica urens*, la patuletina fue uno de los seis flavonoides aislados de esta planta, siendo también el compuesto que se hallaba en mayor cantidad y que además posee actividad antimicrobiana. Asimismo, Lima y col., indican que el extracto acuoso de *Urtica dioica* (ortiga mayor)

AUTORAS:



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

presentó actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* y *E. coli*.^{51,52}

De lo antedicho se resume que, en las pruebas que realizamos con las tres plantas frente a *E. coli*, obtuvimos inactividad a la mayor concentración de extracto; pero no podríamos descartar un posible efecto inhibitorio de las tres plantas a concentraciones mayores, debido a la existencia de estudios que prueban este hecho. En cambio, encontramos que *S. aureus* presentó sensibilidad con los tres extractos, lo que se puede corroborar al comparar nuestro estudio con algunos trabajos realizados en otras localidades, aunque los métodos y las concentraciones empleadas no hayan sido iguales.

Esta diferencia en el efecto antimicrobiano, se podría explicar por las distintas estructuras y constituyentes químicos que componen la envoltura celular de estas bacterias. Los microorganismos gramnegativos poseen una delgada capa de peptidoglucano y una membrana externa que además de otras funciones, le protege de las condiciones ambientales adversas; en cambio, la célula grampositiva posee una gruesa capa de peptidoglucano y

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

carece de membrana externa siendo por lo tanto, menos compleja que los gramnegativos.

Sin embargo, pese a obtener inhibiciones del 99.99% y 100% frente a *S. aureus* en las tres plantas, se vio una variación en el conteo de las ufc/ml, hecho que indica la posible influencia de la altitud sobre la actividad antimicrobiana. Se sabe que factores ambientales y geográficos (como la altitud), tienen efecto sobre la concentración de sustancias activas de las plantas, lo que podría explicar lo dicho anteriormente.¹

Aunque con la sola observación de los datos de ufc/ml se podría concluir la posible influencia de la altitud sobre el efecto antibacteriano, el análisis estadístico muestra diferencias solamente en la malva olorosa, debido a que presentó inhibición desde 8mg/ml hasta 2mg/ml y, por tanto, se contó con un mayor número de ensayos; no así con el ajeno y la ortiga cuya CIM fue de 8mg/ml, reduciendo el número de muestras para analizar estadísticamente, por lo que hubiera sido conveniente, para estas dos plantas, realizar más pruebas a fin de tener una mejor apreciación del efecto, dadas las varianzas extremas.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Interpretación del ANOVA de los extractos de malva olorosa frente a *S. aureus*.

Tabla 8: Resumen de la prueba de ANOVA de los extractos de malva olorosa

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>F experimental</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>F crítico</i>
Concentraciones	2	12.8178571	0.00034584	3.55455715
Alturas	2	9.61428571	0.00144399	3.55455715
Interacción	4	4.40178571	0.01175014	2.92774417

Por los valores expuestos en la tabla 8, se deduce lo siguiente:

- Dada la probabilidad al 0.03% (porcentaje del valor 0.00034584 correspondiente a la probabilidad de las concentraciones), se rechaza la H_0 que para diferentes concentraciones, se tenga igual respuesta.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- Dada la probabilidad al 0.14% (porcentaje del valor 0.00144399 correspondiente a la probabilidad de las alturas), se rechaza que no hay diferencias entre los extractos de malva olorosa a las diferentes alturas. En la figura 8, se observa que el crecimiento en los extractos de malva olorosa de Santa Isabel (1560msnm) y Cañar (3133msnm), es menor comparado con el extracto de malva olorosa de Zhumir (2215msnm).

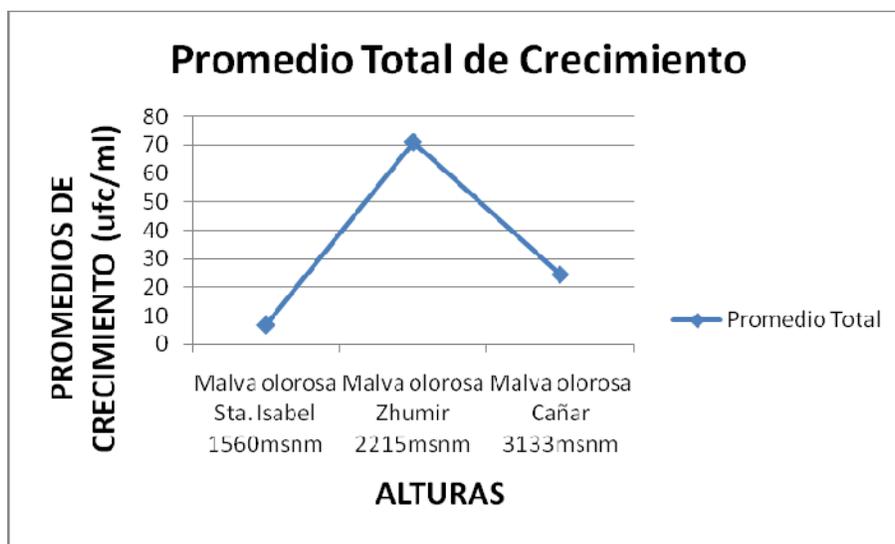
AUTORAS:

**María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno**



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Figura 8. Promedios de crecimiento en los extractos de malva olorosa



Extractos	Malva Olorosa Santa Isabel	Malva Olorosa Zhumir	Malva Olorosa Cañar
Promedio Total de crecimiento (ufc/ml)	6.66666666 7	71.11111111 1	24.44444444 4

Además, como indica la figura 9, existe una interacción significativa al 1.2% (porcentaje del valor 0.01175014, correspondiente a la probabilidad de la interacción). A las concentraciones probadas, se obtuvo diferentes valores de crecimiento a las diferentes alturas, por lo que se puede

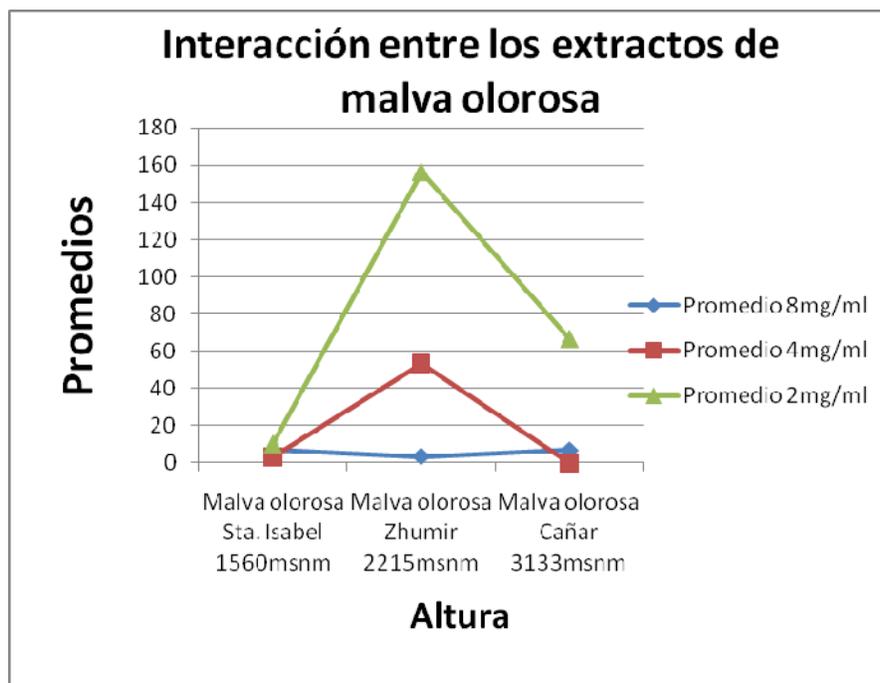
AUTORAS:



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

decir que posiblemente la altura influyó en la actividad antibacteriana de los extractos de malva olorosa. El hecho de que las líneas no sean paralelas, es un índice de la presencia de una interacción.

Figura 9: Interacción entre los extractos de malva olorosa.



Prueba t para los extractos de ajenojo y ortiga frente a *S. aureus*

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Previa la revisión del análisis estadístico de los extractos de ajeno y ortiga, se indica que para la prueba t de los extractos de ajeno, no se tomó en consideración el extracto de la planta proveniente de Cañar, debido a que fue incontable el crecimiento bacteriano a una concentración de 8mg/ml, y que debido a la ausencia de crecimiento en los extractos de ortiga provenientes de Quinuapata y Sayausí, se procedió a realizar una comparación de éstos, con el extracto de ortiga de Paute. La tabla 9 corresponde al análisis estadístico de los extractos de ajeno y las tablas 10 y 11 pertenecen al análisis de los extractos de ortiga.

Tabla 9: Prueba t para los extractos de ajeno.

Comparación de los Extractos de Ajeno de Quinuapata y Sayausí		
Extractos	<i>Ajeno Quinuapata (3451msnm)</i>	<i>Ajeno Sayausí (2802msnm)</i>
Varianza	433.3333333	33.33333333
Grados de libertad	2	
t experimental	3.207134903	
Probabilidad	0.085008578	
t crítico (dos colas)	4.30265273	

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



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

**INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO**

AUTORAS:

**María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno**



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Tabla 10: Prueba t de los extractos de Ortiga de Paute y Quinuapata

Comparación de los Extractos de Ortiga de Paute y Quinuapata		
Extractos	<i>Ortiga Paute</i> (2217msnm)	<i>Ortiga Quinuapata</i> (3451msnm)
Media	530	0
Varianza	56700	0
Grados de libertad	2	
t experimental	3.855182728	
Probabilidad	0.061174585	
t crítico (dos colas)	4.30265273	

Tabla 11: Prueba t de los extractos de Ortiga de Paute y Sayausí

Comparación de los Extractos de Ortiga de Paute y Sayausí		
Extractos	<i>Ortiga Paute</i> (2217msnm)	<i>Ortiga Sayausí</i> (2802msnm)
Media	530	0
Varianza	56700	0
Grados de libertad	2	
t experimental	3.85518273	
Probabilidad	0.06117459	

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

t crítico (dos colas)	4.30265273	
-----------------------	------------	--

Interpretación de la prueba t para dos muestras suponiendo varianzas desiguales

- En las tablas 9, 10 y 11, se puede observar la variabilidad entre los extractos, debido a la diferencia en el número de colonias; pero, como el valor de t experimental es menor que t crítico, no se rechaza la hipótesis nula planteada, lo cual quiere decir que no se ha encontrado evidencia estadística de que haya diferencias de actividad antibacteriana entre los extractos de estas plantas.

Las tablas 12, 13 y 14, muestran los resultados obtenidos para *S. aureus*. Al comparar las ufc/ml de cada una de las

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

plantas, considerando las alturas de su procedencia, se demuestra lo siguiente:

Tabla 12. Actividad antibacteriana del extracto de malva olorosa frente a *S. aureus* considerando el factor altura.

Planta*	Dilución mg/ml**	# de colonias de <i>S. aureus</i> °			<i>S. aureus</i> : ufc/ml del inóculo incubado 24h ^	ufc/ml <i>S. aureus</i> °°			% de inhibición, siembra 100ul, <i>S. aureus</i> ^^			Media del porcentaje de inhibición ^^^
		Réplica***				Réplica***			Réplica***			
		1	2	3		1	2	3	1	2	3	
Malva olorosa Sta. Isabel (1560msnm)	8	2	0	0	8,7x10 ³	20	0	0	99,9999977	100	100	99,9999999
	4	1	0	0	8,7x10 ³	10	0	0	99,9999989	100	100	100
	2	1	0	2	8,7x10 ³	10	0	20	99,9999989	100	99,9999977	99,9999999
	1	i	i	i	8,7x10 ³	i	i	i	0	0	0	0
Malva olorosa Cañar (3133msnm)	8	0	0	2	8,7x10 ³	0	0	20	100	100	99,9999977	99,9999999
	4	0	0	0	8,7x10 ³	0	0	0	100	100	100	100
	2	2	9	9	8,7x10 ³	20	90	90	99,9999977	99,9999897	99,9999897	99,9999992
	1	i	i	i	8,7x10 ³	i	i	i	0	0	0	0
Malva olorosa Zhumir (2215msnm)	8	0	0	1	8,7x10 ³	0	0	10	100	100	99,9999989	100
	4	5	4	7	8,7x10 ³	50	40	70	99,9999943	99,9999954	99,9999992	99,9999994
	2	20	6	21	8,7x10 ³	200	60	210	99,9999971	99,9999931	99,9999976	99,9999982
	1	i	i	i	8,7x10 ³	i	i	i	0	0	0	0

* Se indica la planta y su procedencia. **Dilución expresada en mg/ml. ***Número de ensayos. ° Número de colonias contadas en cada caja. ^Inóculo incubado 24h y número de colonias expresado en ufc/ml. °° Número de colonias expresadas en ufc/ml contadas en cada ensayo. ^^ Cálculo del porcentaje de inhibición a partir del conteo de colonias presentes en 100µl de dilución de extracto incubado 24h.^^^Media del porcentaje de inhibición: Promedio de los porcentajes de inhibición de los tres ensayos. i: Incontable.

La malva olorosa recolectada en Santa Isabel, a 1560msnm, presentó un mejor efecto inhibitorio frente a *S. aureus* que las malvas recolectadas a las alturas de 2215msnm (Zhumir) y 3133msnm (Cañar). Como se muestra en la tabla 12, el número de colonias contadas en las cajas sembradas con el extracto de malva olorosa

AUTORAS:



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

procedente de la altura más baja, es menor que los conteos de las cajas cuya siembra correspondía a las plantas de alturas mayores.

Tabla 13. Actividad antibacteriana del extracto de ajeno frente a *S. aureus* considerando el factor altura.

Planta*	Dilución mg/ml**	# de colonias de <i>S. aureus</i> °			<i>S. aureus</i> : ufc/ml del inóculo incubado 24h ^	ufc/ml <i>S. aureus</i> °°			% de inhibición, siembra 100ul, <i>S. aureus</i> ^^			Media del porcentaje de inhibición ^^^
		Réplica***				Réplica***			Réplica***			
		1	2	3		1	2	3	1	2	3	
Ajeno Cañar (3133msnm)	8	i	i	i	$8,7 \times 10^9$	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	$8,7 \times 10^9$	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	$8,7 \times 10^9$	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	$8,7 \times 10^9$	i	i	i	0	0	0	0
Ajeno Quinuapata (3451msnm)	8	6	5	2	$8,7 \times 10^9$	60	50	20	99,99999931	99,99999943	99,99999977	99,9999995
	4	i	i	i	$8,7 \times 10^9$	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	$8,7 \times 10^9$	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	$8,7 \times 10^9$	i	i	i	0	0	0	0
Ajeno Sayausí (2802msnm)	8	0	0	1	$8,7 \times 10^9$	0	0	10	100	100	99,99999989	100
	4	i	i	i	$8,7 \times 10^9$	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	$8,7 \times 10^9$	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	$8,7 \times 10^9$	i	i	i	0	0	0	0

* Se indica la planta y su procedencia. **Dilución expresada en mg/ml. ***Número de ensayos. ° Número de colonias contadas en cada caja. ^Inóculo incubado 24h y número de colonias expresado en ufc/ml. °° Número de colonias expresadas en ufc/ml contadas en cada ensayo. ^^ Cálculo del porcentaje de inhibición a partir del conteo de colonias presentes en 100µl de dilución de extracto incubado 24h.^^^Media del porcentaje de inhibición: Promedio de los porcentajes de inhibición de los tres ensayos. i: Incontable.

El ajeno recolectado en Sayausí, a 2802msnm, inhibió más efectivamente al *S. aureus* que los ajenos recolectados en Cañar a 3133msnm y Quinuapata a 3451msnm. Se puede ver que los conteos de ufc/ml son menores en el extracto de ajeno recolectado a menor

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
 Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

altura, que los extractos de las plantas procedentes de una mayor altitud.

Tanto en la malva olorosa como en el ajenjo, los mejores resultados se obtuvieron de las plantas recolectadas a menor altura frente a *S. aureus*.

Tabla 14. Actividad antibacteriana del extracto de ortiga frente a *S. aureus* considerando el factor altura.

Planta*	Dilución mg/ml**	# de colonias de <i>S. aureus</i> °			<i>S. aureus</i> : ufc/ml del inóculo incubado 24h ^	ufc/ml <i>S. aureus</i> °°			% de inhibición, siembra 100ul, <i>S. aureus</i> ^^			Media del porcentaje de inhibición ^^^
		Réplica***				Réplica***			Réplica***			
		1	2	3		1	2	3	1	2	3	
Ortiga Paute (2217msnm)	8	26	62	71	1.2x10 ⁹	260	620	710	99,99997903	99,99995	99,99994274	99,9999573
	4	i	i	i	1.2x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1.2x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1.2x10 ⁸	i	i	i	0	0	0	0
Ortiga Quinuapata (3451msnm)	8	0	0	0	1.2x10 ⁹	0	0	0	100	100	100	100
	4	i	i	i	1.2x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1.2x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1.2x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
Ortiga Sayausí (2802msnm)	8	0	0	0	1.2x10 ⁹	0	0	0	100	100	100	100
	4	i	i	i	1.2x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1.2x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1.2x10 ⁸	i	i	i	0	0	0	0

* Se indica la planta y su procedencia. **Dilución expresada en mg/ml. ***Número de ensayos. ° Número de colonias contadas en cada caja. ^Inóculo incubado 24h y número de colonias expresado en ufc/ml. °° Número de colonias expresadas en ufc/ml contadas en cada ensayo. ^^ Cálculo del porcentaje de inhibición a partir del conteo de colonias presentes en 100µl de dilución de extracto incubado 24h.^^^Media del porcentaje de inhibición: Promedio de los porcentajes de inhibición de los tres ensayos. i: Incontable.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
 Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

La tabla 14 muestra que los extractos de ortiga que provinieron de las plantas recogidas a 3451msnm en Quinuapata y 2802msnm en Sayausí, tuvieron un mayor efecto inhibitorio que la ortiga recolectada a 2217msnm en Paute; por lo tanto, los extractos de ortigas recolectadas a mayor altura, presentaron un mayor efecto inhibitorio frente a *S. aureus*.

Al respecto, una publicación de la Secretaría de Desarrollo Rural de Puebla-México, señala que existen estudios que refieren que la amargura de los componentes de la genciana aumenta con la altitud, así como, este mismo factor, disminuye el contenido del aceite esencial de las mentas y los tomillos, en razón de que el efecto causado por la altura en la concentración de principios es doble: por un lado, la temperatura disminuye 1°C por cada 200m de altitud, y por otro, la altura incide de forma directa en la concentración de principios activos. Lo expresado, más los resultados expuestos en las tablas 12, 13 y 14 podrían dar pie para deducir que tanto en la malva olorosa como en el ajeno, la concentración de principios activos es mayor en las plantas recolectadas a una baja altitud; en cambio, la

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

concentración de los componentes de la ortiga aumentan en las plantas procedentes de altitudes mayores.⁵³

Tabla 15. Actividad antibacteriana de los extractos frente a *E. coli* considerando el factor altura.

Planta*	Dilución mg/ml**	# de colonias de <i>E. coli</i> °			<i>E. coli</i> : ufc/ml del inóculo incubado 24h ^	ufc/ml <i>E. coli</i> °°			% de inhibición, siembra 100ul, <i>E. coli</i> ^^			Media del porcentaje de inhibición ^{AAA}
		Réplica***				Réplica***			Réplica***			
		1	2	3		1	2	3	1	2	3	
Malva olorosa Sta. Isabel (1560msnm)	8	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
Malva olorosa Cañar (3133msnm)	8	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
Malva olorosa Zhumir (2215msnm)	8	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	3.3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
Ajenjo Cañar (3133msnm)	8	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
Ajenjo Quinuapata (3451msnm)	8	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
Ajenjo Sayausí (2802msnm)	8	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
Ortiga Paute (2217msnm)	8	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
Ortiga Quinuapata (3451msnm)	8	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
Ortiga Sayausí (2802msnm)	8	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	4	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	2	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0
	1	i	i	i	1,3x10 ⁹	i	i	i	0	0	0	0

* Se indica la planta y su procedencia. **Dilución expresada en mg/ml. ***Número de ensayos. ° Número de colonias contadas en cada caja. ^Inóculo incubado 24h y número

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
 Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

de colonias expresado en ufc/ml. °° Número de colonias expresadas en ufc/ml contadas en cada ensayo. ^^ Cálculo del porcentaje de inhibición a partir del conteo de colonias presentes en 100□l de dilución de extracto incubado 24h.^^^Media del porcentaje de inhibición: Promedio de los porcentajes de inhibición de los tres ensayos. i: Incontable.

En la tabla 15, correspondiente a los resultados de las pruebas con *E. coli*, se aprecia que ninguno de los extractos tuvo efecto inhibitorio a las concentraciones evaluadas.

El resumen sobre la actividad antibacteriana de los extractos frente a *S. aureus* y *E. coli*, se presentan en las tablas 16 y 17.

Frente a *S. aureus*, los resultados de actividad antibacteriana obtenidos con las plantas recolectadas a diferentes altitudes, son similares a los del estudio previo a excepción del ajenjo recolectado en Cañar (3133msnm), que a la mayor concentración (8mg/ml), no mostró efecto inhibitorio (ver tabla 16).

Tabla 16. CIM y porcentaje de inhibición de los extractos frente a *S. aureus*.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Planta*	<i>S. aureus</i>	
	CIM (mg/ml)**	% inhibición***
<i>Malva olorosa</i> Sta. Isabel (1560msnm)	2	99,99999989
<i>Malva olorosa</i> Cañar (3133 msnm)	2	99,99999924
<i>Malva olorosa</i> Zhumir (2215msnm)	2	99,99999821
<i>Ajenjo</i> Cañar (3133 msnm)	> 8	0
<i>Ajenjo</i> Quinuapata (3451msnm)	8	99,9999995
<i>Ajenjo</i> Sayausí (2802msnm)	8	99,99999996
<i>Ortiga</i> Paute (2217msnm)	8	99,99995726
<i>Ortiga</i> Quinuapata (3451msnm)	8	100
<i>Ortiga</i> Sayausí (2802msnm)	8	100

*Se indica la planta y su procedencia. **Concentración mínima inhibitoria expresada en mg/ml. ***Porcentaje de inhibición.

En cuanto a *E. coli*, no se detectó actividad a las concentraciones evaluadas al igual que en el estudio previo, pero no se puede afirmar que los extractos son totalmente inactivos frente a esta bacteria. Es posible que los principios activos que tengan efecto inhibitorio para este microorganismo, estuvieran presentes en los extractos preparados, sin embargo, las concentraciones empleadas podrían haber sido insuficientes para obtener resultados positivos (ver tabla 17).

Tabla 17. CIM y porcentaje de inhibición de los extractos frente a *E. coli*.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Planta*	<i>E. coli</i>	
	CIM (mg/ml)**	% inhibición***
<i>Malva olorosa Sta. Isabel (1560msnm)</i>	> 8	0
<i>Malva olorosa Cañar (3133 msnm)</i>	> 8	0
<i>Malva olorosa Zhumir (2215msnm)</i>	> 8	0
<i>Ajenjo Cañar (3133 msnm)</i>	> 8	0
<i>Ajenjo Quinuapata (3451msnm)</i>	> 8	0
<i>Ajenjo Sayausí (2802msnm)</i>	> 8	0
<i>Ortiga Paute (2217msnm)</i>	> 8	0
<i>Ortiga Quinuapata (3451msnm)</i>	> 8	0
<i>Ortiga Sayausí (2802msnm)</i>	> 8	0

*Se indica la planta y su procedencia. **Concentración mínima inhibitoria expresada en mg/ml. ***Porcentaje de inhibición.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



5. CONCLUSIONES

Al término del presente trabajo, se concluye lo siguiente:

- Basándonos en el conteo de las ufc/ml frente a *S. aureus*, los extractos de ajeno y malva olorosa provenientes de plantas recolectadas a menor altitud, presentaron mejor efecto que las plantas procedentes de alturas mayores. Caso contrario sucedió con la ortiga, en la que los extractos de las plantas obtenidas a mayor altitud, presentaron mejor actividad antibacteriana que el extracto de la planta recolectada a menor altura. Pero, de acuerdo con el análisis estadístico, como lo indica el ANOVA, la altitud a la que crece la malva olorosa puede influir en la actividad antibacteriana de sus extractos, pese a que el porcentaje de inhibición estaba entre 99.99% y 100%; no así el ajeno y la ortiga, cuyos datos analizados mediante t-student, no mostró diferencia de actividad a las tres alturas; por lo que hubiera sido conveniente realizar más ensayos con estas dos últimas plantas, a fin de obtener un mayor número de

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

datos para el análisis, pudiendo evitar así, la interposición de las varianzas.

- Las diferencias de actividad antibacteriana de los extractos probados frente a *S. aureus* y *E. coli*, pueden deberse a la diferente estructura de la envoltura celular de estos microorganismos, así como a la concentración de los extractos, empleada en el estudio, y al tipo de solvente, cuyo rol es de importancia en cuanto a la concentración de los principios activos, ya que de acuerdo al método de extracción y el tipo de solvente utilizado, las moléculas obtenidas pueden ser diferentes afectando de forma directa la actividad antimicrobiana.
- Para la determinación de la CIM de extractos de plantas, el método de dilución seriada en tubo de ensayo es una técnica válida. Pese a ser laborioso, presenta facilidad en la manipulación de los volúmenes y reduce el error en los resultados.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

6. RECOMENDACIONES

Tomando en consideración lo expuesto en este trabajo, recomendamos lo siguiente:

- Realizar más estudios sobre la actividad antimicrobiana de la malva olorosa, ortiga y ajeno y la posible influencia que pudieran presentar sobre este efecto, diferentes métodos y solventes de extracción.
- Realizar estudios de actividad antimicrobiana de extractos de plantas considerando otros factores que pudieran influir sobre dicha actividad, tales como la calidad del suelo, estado de madurez de la planta, tipos de abono empleados e incluso la altitud, pero controlando al mismo tiempo, otras variables que pudieran interferir.
- Realizar un estudio de identificación, cuantificación y actividad antimicrobiana de los componentes de los extractos de malva olorosa, ortiga y ajeno.
- Probar la actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas evaluadas, frente a otros microorganismos y en concentraciones mayores a 8mg/ml frente a *E. coli*.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

- Realizar un control de calidad de la droga.

BIBLIOGRAFÍA

1. **EVANS, William Charles.** *Farmacognosia Trease-Evans*. Decimotercera edición. México DF : Interamericana, 1991. págs. 85, 88.
2. **ROIG, Juan Tomás.** *Plantas Medicinales Aromáticas o Venenosas de Cuba*. La Habana : Editorial Científico-Técnica, 1988. págs. 119,120. Vols. A-L.
3. **BERDONCES I SIERRA, Joseph Lluís.** *Gran Enciclopedia de las Plantas Medicinales, Terapia Natural para el Tercer Milenio*. s.l. : Susaeta. págs. 81-83, 732-734. Vol. 1 y 3.
4. *Artemisia absinthium*: USDA, United States Department of Agriculture, Plants Database. *sitio Web de USDA, United States Department of Agriculture, Plants Database*. [En línea] [Citado el: 17 de Noviembre de 2008.] <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=ARAB3>.
5. **MUÑOZ, Fernando.** *Plantas Medicinales y Aromáticas, Estudio, Cultivo y Procesado*. s.l. : Mundi-Prensa, 1996. págs. 81,82,84.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

6. *Artemisia absinthium*: ZipcodeZoo.com. *sitio Web de ZipcodeZoo.com*. [En línea] [Citado el: 11 de Noviembre de 2008.]

<http://zipcodezoo.com/Plants/A/Artemisia%5Fabsinthium/>.

7. **JUSCA, Baudilio.** *Enciclopedia Ilustrada, Flora Medicinal Tóxica, Aromática, Condimenticia*. Primera edición. Barcelona : AEDOS, 1975. pág. 46.

8. **STUART, Malcom.** *Enciclopedia de Hierbas y Herboristería*. Primera edición. s.l. : Omega, 1980. págs. 158, 276, 277.

9. **POLETTI, Aldo.** *Plantas y Flores Medicinales*. Tercera edición. Barcelona : Parramon, 1983. págs. 42, 109.

10. **ALZUGARAY, Domingo y ALZUGARAY, Cátia.** *Enciclopedia de las Plantas que Curan*. s.l. : Conselho, 1984. págs. 37, 351-354.

11. **DE LA TORRE, Lucía, y otros.** *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. Primera Edición. 2008. págs. 216, 368, 612-613.

12. *Pelargonium odoratissimum*: Henriette's Herbal Homepage. *sitio Web de Henriette's Herbal Homepage*. [En línea] [Citado el: 17 de Noviembre de 2008.]
<http://www.henriettesherbal.com/eclectic/usdisp/pelargonium.html>.

AUTORAS:



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

13. *Pelargonium odoratissimum*: USDA, United States Department of Agriculture, Plants Database. *sitio Web de USDA, United States Department of Agriculture*. [En línea] [Citado el: 11 de Noviembre de 2008.] <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=PEOD>.
14. **KÖNEMAN**. *Botánica, Guía Ilustrada de Plantas, más de 10000 especies de la A a la Z*. 2006. págs. 114, 647, 910.
15. *Pelargonium odoratissimum*: Plants For A Future: Database Search. [En línea] [Citado el: 11 de Noviembre de 2008.] http://www.ibiblio.org/pfaf/cgi-bin/arr_html?Pelargonium+odoratissimum.
16. **CROCKER, Pat**. *Pelargonium*: Vitality, Torontos Monthly Wellness Journal. *sitio Web de Vitality, Torontos Monthly Wellness Journal*. [En línea] [Citado el: 17 de Noviembre de 2008.] <http://www.vitalitymagazine.com/pelargonium>.
17. *Geranio (Pelargonium odoratissimum)*: Erbe-officiali.com. *sitio Web de Erbe-officiali.com*. [En línea] [Citado el: 11 de Noviembre de 2008.] <http://www.erbe-officiali.com/geranio.html>.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

18. **RÍOS, Montserrat, y otros.** *Plantas Útiles del Ecuador, Aplicaciones, Retos y Perspectivas*. Primera edición. Quito : Abya-Yala, 2007. págs. 454, 533.
19. **ACOSTA SOLÍS, Misael.** *Vademécum de Plantas Medicinales del Ecuador*. Quito : Abya-Yala, 1992. págs. 59, 87, 91, 95, 122, 136, 161.
20. *Urtica urens*: USDA, United States Department of Agriculture, Plants Database. *sitio Web de USDA, United States Department of Agriculture*. [En línea] [Citado el: 11 de Noviembre de 2008.] <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=URUR>.
21. **GILL, N.T. y VEAR, K.C.** *Botánica Agrícola*. Zaragoza : Acribia, 1965. pág. 492.
22. Ortiga: Laboratorios FUNAT S.A. *Laboratorios FUNAT S.A.* [En línea] [Citado el: 2 de Febrero de 2009.] http://www.funat.com.co/index.php?option=com_content&task=view&id=47&Itemid=54 .
23. **BROOKS, Geo F., BUTEL, Janet S. y MORSE, Stephen A.** *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. Decimoséptima edición. México D.F.: Manual Moderno, 2001. págs. 243-249, 269, 271-275.
24. **JOKLIK, Wolfgang, WILLETT, Hilda y AMOS, Bernard.** *Zinsser, Microbiología*. Decimoséptima. Buenos

AUTORAS:



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Aires : Médica Panamericana, 1983. págs. 506-508, 518-522, 591-592.

25. **FORBES, Betty, SAHM, Daniel y WEISSFELD, Alice.** *Bailey & Scott, Diagnóstico Microbiológico.* Decimoprimer edición. Buenos Aires : Médica Panamericana, 2004. págs. 294-298, 378-381, 383-384.

26. **CHANS, Gerardo.** Estafilococos. [En línea] [Citado el: 17 de Noviembre de 2008.] www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2017.pdf.

27. **KONEMAN, Elmer, y otros.** *Diagnóstico Microbiológico, Texto y Atlas Color.* Quinta edición. Buenos Aires : Médica Panamericana, 1999. págs. 196-199, 529-535, 538-540, 542.

28. **SEIJA, Verónica.** COCOS GRAM POSITIVOS: Aspectos prácticos. [En línea] 8 de Diciembre de 2009. http://www.cepeu.edu.py/LIBROS_ELECTRONICOS_1/Cap%2019.pdf.

29. **CARTÓN, JA, y otros.** Endocarditis infecciosa sobre válvula natural: perfil epidemiológico y análisis de la mortalidad. [En línea] [Citado el: 9 de Abril de 2008.] www.sepeap.es/Hemeroteca/EDUKINA/APTIKULU/VOL104/M1041303.PDF.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

30. **RODRÍGUEZ JEREZ, José Juan.** Los riesgos de las intoxicaciones por estafilococo: Consumer EROSKI. *Consumer EROSKI*. [En línea] [Citado el: 5 de Enero de 2009.] <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2005/03/16/17224.php>.
31. **MAC FALDIN, Jean.** *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Tercera edición. Buenos Aires : Panamericana, 2003. págs. págs.: 73, 81, 93, 95, 99, 103, 113,114,121, 206, 209, 221, 227,228, 301, 303, 306, 307, 345, 397, 402, 411, 418.
32. **MIÑO LEÓN, Greta.** Infección de vías urinarias en la edad pediátrica. [En línea] [Citado el: 18 de Noviembre de 2008.] http://virtual.unipar.br/courses/CL/document/ITU_PED.pdf?cidReq=CL.
33. **SALAZAR DELGADO, Wilson.** *Manual de Prácticas de Laboratorio de Microbiología, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Médicas*. Quito : s.n. págs. 71, 72.
34. **CANALS, Gustavo Adolfo.** Alquimia y Ciencias. *Tinción de Gram*. [En línea] [Citado el: 8 de Diciembre de 2009.] <http://alquimiayciencias.blogspot.com/2009/02/dora-este-articulo-es-para-vos.html>.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

35. **MURRAY, Patríck.** *Microbiología Médica.* Madrid : Elsevier. pág. 17.
36. Morfología ultramicroscópica de las bacterias: estructuras internas. [En línea] [Citado el: 8 de Diciembre de 2009.]
http://danival.org/600%20microbio/7000bacteria/morfo/bac_morfo-int.html.
37. **ZURITA SALINAS, Jeannete.** Epidemiología de la Resistencia Bacteriana en el Ecuador. [En línea] [Citado el: 9 de Abril de 2008.]
[www.pediatria.org.ec/bvs/2002/3.2.2002/3.2.2002_21a23.p](http://www.pediatria.org.ec/bvs/2002/3.2.2002/3.2.2002_21a23.pdf)
df.
38. *Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils.* **DORMAN, H.J.D y DEANS, S.G.** 2000, Jorunal of Applied Microbiology.
39. **MAGUNA, Fabiana, y otros.** Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides. [En línea] 2006.
<http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/cyt2006/08-Exactas/2006-E-057.pdf>.
40. *The United States Pharmacopeia.* 30th. INC. Rockeville : USP Convention, 2006.
41. **KUKLINSKI, Claudia.** *Farmacognosia.* Barcelona : Omega, 2000. pág. 35.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

42. **BAILEY, Robert y SCOTT, Evelyn.** *Diagnóstico Microbiológico.* Buenos Aires : Médica Panamericana, 1973. pág. 384.

43. **ALVAREZ BENITO, Victoria, BOQUET JIMÉNEZ, Ernesto y DE FEZ Y CAMINO, María Isabel.** *Manual de Técnicas en Microbiología Clínica.* Quito : Graficart, 1995. págs. 229-232.

44. **AZZIMONTI, Carlos.** *BIOESTADISTICA APLICADA A BIOQUIMICA Y FARMACIA .* Segunda Edición . s.l. : Universitaria. págs. 1-4.

45. **MILLER, James.** *Estadística y Quimiometría para Química Analítica.* Cuarta. s.l. : Pentice Hall, 2000. pág. 44.

46. **MACHADO, L., y otros.** AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pelargonium odoratissimum* (CERANIACEAE)". [En línea] [Citado el: 16 de Noviembre de 2009.] http://www.genamaz.org.br/forums/aca-1/dispatch.exe/workshop_biodiversidade/showFile/100661/d19990528124157/No/F-175.html.

47. **LALLI, Jacqueline.** In vitro pharmacological properties and composition of leaf essential oils and extracts of selected indigenous *Pelargonium* (Geraniaceae) species. [En línea] 2005. [Citado el: 11 de Noviembre de 2008.]

AUTORAS:



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

<http://witsetd.wits.ac.za:8080/dspace/bitstream/123456789/1690/2/Dissertation.pdf>.

48. **LIS-BALCHIN, Maria y ROTH, Gerhild.** Composition of the essential oils of *Pelargonium odoratissimum*, *P. exstipulatum*, and *P. x fragrans* (Geraniaceae) and their bioactivity: CAT.INIST. *sitio Web de CAT.INIST.* [En línea] [Citado el: 16 de Noviembre de 2009.] <http://www3.interscience.wiley.com/journal/76502605/abstract?CRETRY=1&SRETRY=0>.

49. **GUERRA, Marta, TORRES, Dinorah y MARTÍNEZ, Leticia.** Validación del uso tradicional de plantas medicinales cultivadas en Cuba: REV CUBANA PLANT MED. *sitio Web de REV CUBANA PLANT MED.* [En línea] 2001. http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol6_2_01/pla03201.pdf.

50. **NIN, S., ARFAIOLI, P. y BOSETTO, M.** Quantitative determination of some essential oil components of selected *Artemisia absinthium* plants: AGRIS record. *sitio Web de AGRIS record.* [En línea] [Citado el: 16 de Noviembre de 2009.]

<http://www.fao.org/agris/search/display.do?f=../1996/v2213/US9562529.xml;US9562529>.

51. **MOSAAD, Abdel-Wahhab, ATAA, Said y ANTJE, Huefner.** NMR and Radical Scavenging Activities of

AUTORAS:



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Patuletin from *Urtica urens* Against Aflatoxin B1: nforma healthcare. *sitio Web de informa healthcare*. [En línea] 2005. [Citado el: 16 de Noviembre de 2009.] <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1080/13880200500220730>.

52. **LIMA, Naiana, y otros.** *Urtica dioica*: uma revisão dos estudos das suas propriedades farmacológicas. [En línea] [Citado el: 16 de Noviembre de 2009.] http://www.abf.org.br/pdf/2008/RBF_R3_2008/135_pag_199a206_urtica_dioica.pdf.

53. **SECRETARÍA DE DESARROLLO RURAL, GOBIERNO DEL ESTADO DE PUEBLA.** [En línea] [Citado el: 02 de febrero de 2009.] www.puebla.gob.mx/docs//gobiernocampo/202250.pdf.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



ANEXOS

ANEXO 1. CARACTERIZACIÓN BOTÁNICA

La caracterización botánica de las plantas, fue realizada en el Herbario Azuay (HA) de la Universidad del Azuay.

Nombre Común	Nombre Científico	Familia
Ajenjo	<i>Artemisia absinthium</i> L.	<i>Asteraceae</i>
Malva Olorosa	<i>Pelargonium</i> <i>odoratissimum</i> L.	<i>Geraniaceae</i>
Ortiga	<i>Urtica urens</i> L.	<i>Urticaceae</i>

Como ejemplo, a continuación se realiza la descripción botánica del ajeno (*Artemisia absinthium* L.):

Es una planta de color blanquecino por el vello canoso y espeso que cubre los tallos y hojas cuyo contorno es redondeado, profundamente dividido en segmentos que llegan a la vena principal y vuelven a dividirse en lóbulos prolongados y obtusos. La raíz es fibrosa y dura. Mide de 50 a 70 cm; el tallo es blanquecino y se endurece mucho cuando es tiempo de florecer; sus ramas son delgadas,

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



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

**INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO**

flexibles, finas. Las flores se agrupan en racimos que contienen de 30 a 40 inflorescencias en forma de plato hemisférico plano por arriba, de color amarillo de 3 a 5 mm de diámetro.

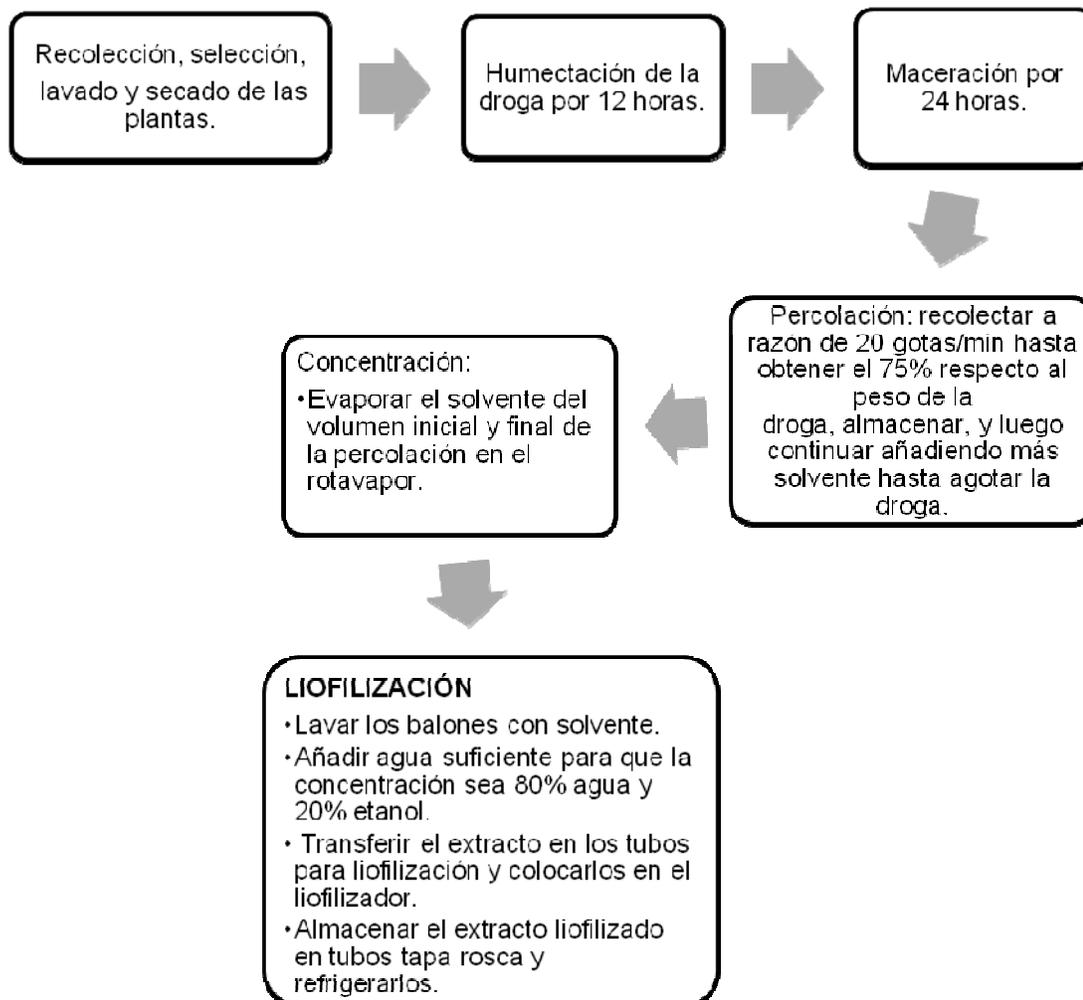
AUTORAS:

**María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno**



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

ANEXO 2. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE



AUTORAS:

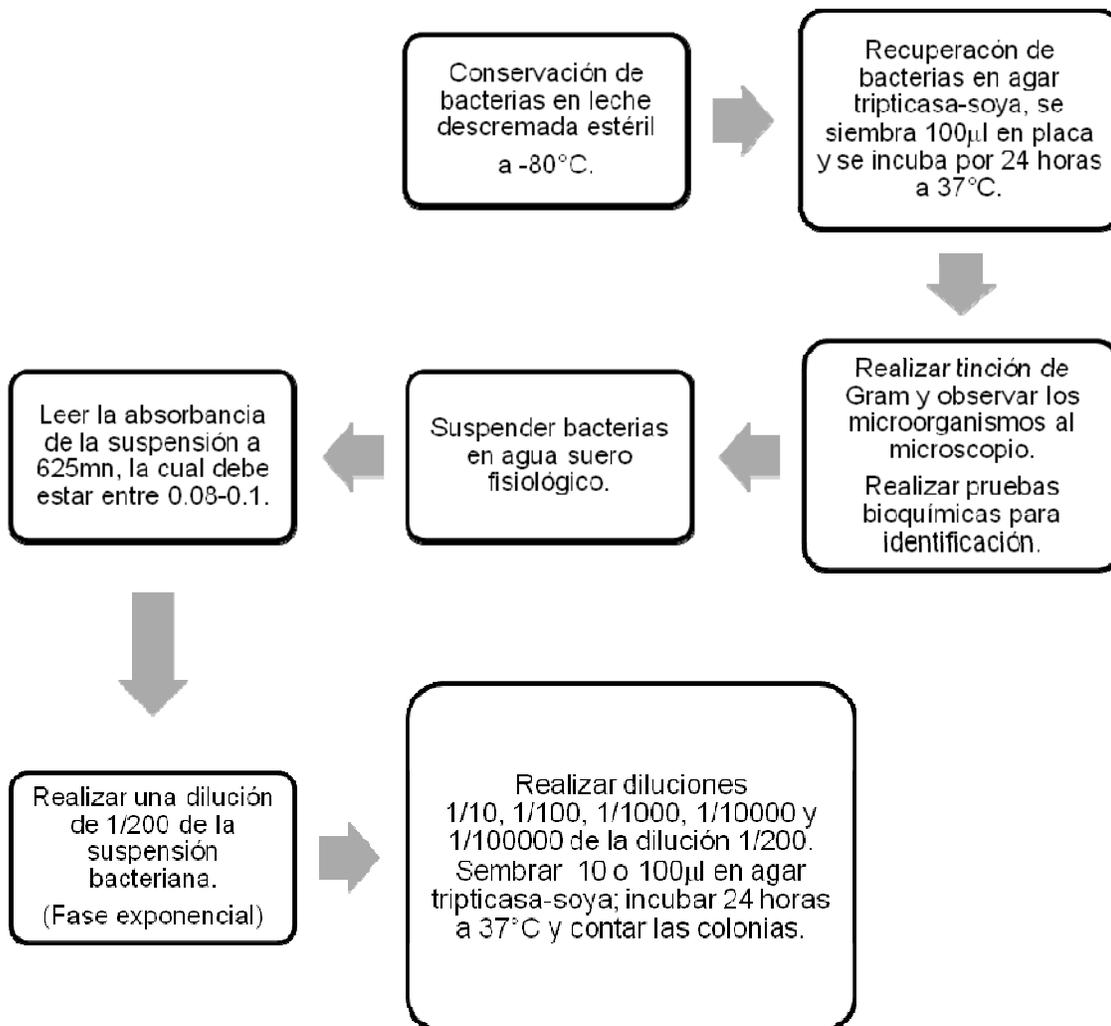
María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

EXTRACTOS

ANEXO 3. PREPARACIÓN DEL INÓCULO



AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno

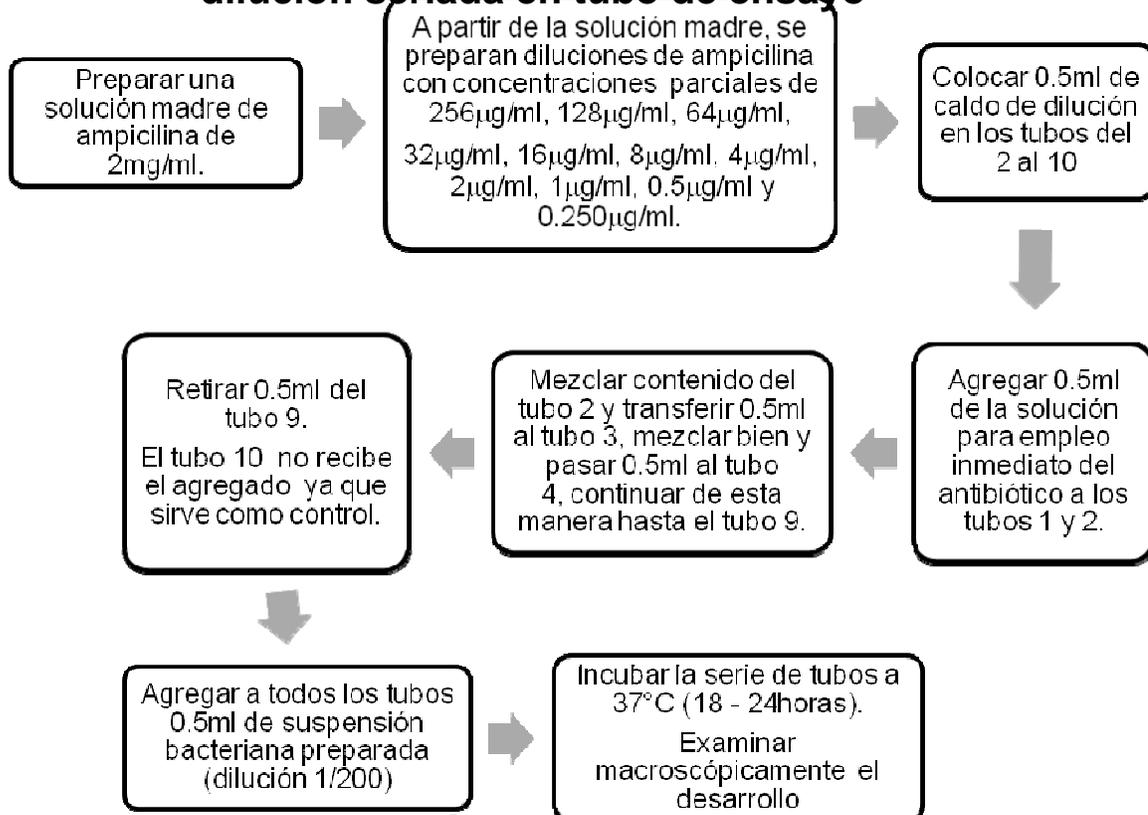


INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS
DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN
SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

ANEXO 4. CONTROL DE LA TÉCNICA

Determinación de la sensibilidad antimicrobiana:

dilución seriada en tubo de ensayo



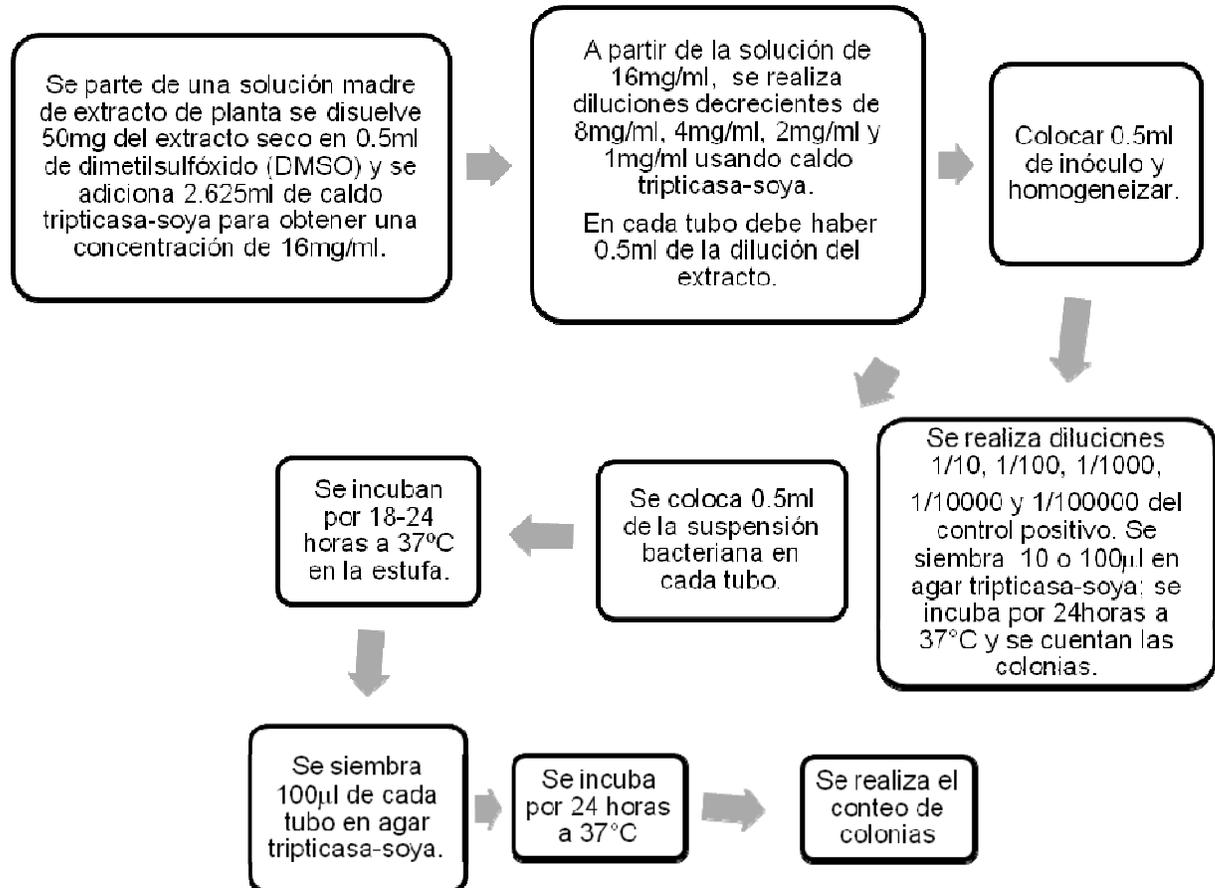
ANEXO 5. PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO



GLOSARIO

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Absintina: $C_{30}H_{40}O_8$. Principio activo, glucósido del ajenjo (*Artemisia absinthium*), que se presenta en forma de agujas lustrosas, muy amargas.

Ácido fórmico: El ácido metanoico, también llamado ácido fórmico, es un ácido orgánico de un solo átomo de carbono, y por lo tanto el más simple de los ácidos orgánicos. Su fórmula es $H-COOH(CH_2O_2)$, el grupo carboxilo es el que le confiere las propiedades ácidas a la molécula.

Ácido nicotínico: (niacina, nicotinamida, Vitamina B3 o PP): Forma parte de una coenzima respiratoria. Interviene en el crecimiento y su carencia origina pelagra, que se caracteriza por erupciones de la piel y trastornos digestivos y nerviosos.

Ácido palmítico: Ácido graso saturado de 16 carbonos, conocido también por ácido hexadecanoico.

Ácido pantoténico: (vitamina B5): Forma parte de la coenzima A, enzima maestra, indispensable en todas las reacciones que liberan energía, sobre todo en las de los carbohidratos y los ácidos grasos.

Antiespasmódico: Que alivia o cura el espasmo.

Aperitivo: Que estimula el apetito.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Aquenio: Fruto seco, indehiscente, con una sola semilla y con el pericarpio no soldado a ella.

Astringente: adj. Que produce sequedad y constricción. || Que produce estreñimiento.

Betacaroteno: Un compuesto previtamínico-A (precursor de la vitamina A) encontrado en las plantas. El cuerpo convierte el beta-caróteno a vitamina A.

Borneol: $(\text{CH}_3)_2\text{C}:\text{C}_6\text{H}_8(\text{OH})\cdot\text{CH}_3$. Alcohol terpénico extraído de diversas esencias naturales. Tiene propiedades similares a las del alcanfor. Su éster salicílico se emplea en el tratamiento del reumatismo.

Bráctea: Hoja pequeña modificada que nace del pedúnculo de ciertas flores.

Cadineno: $(\text{CH}_3)_2\text{CH}\cdot\text{C}_{10}\text{H}_{11}(\text{CH}_3)_2$. Terpeno extraído de los aceites esenciales de algunos vegetales.

Cardiotónico: m. Sustancia que posee un efecto tónico sobre el corazón.

Carminativo: m. Sustancia que previene la formación de gases en el tubo digestivo y facilita su expulsión, aliviando la distensión del abdomen y la flatulencia. Generalmente, su procedencia es vegetal (menta, hinojo, anís, etc.).

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Carotenoide: m. Cualquier grupo de pigmentos lipídicos de color amarillo, rojo o púrpura, ampliamente distribuidos en la naturaleza, que son sintetizados por las plantas.

Cimeno: $\text{CH}_3 \cdot \text{C}_6\text{H}_4 \cdot \text{CH}(\text{CH}_3)_2$. Para metilisopropiolbenceno. Hidrocarburo que se encuentra en algunas esencias vegetales. Es un líquido de olor agradable, que hierve a 185°C .

Citronelol: $(\text{CH}_3)_2\text{C}:\text{CH}(\text{CH}_2)_2 \cdot \text{CH}(\text{CH}_3) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$. Alcohol olefínico de terpeno que se encuentra en varias esencias, especialmente la de melisa.

Colerético: adj. Relativo a los agentes que estimulan la producción de bilis en las células hepáticas, como las grasas, los ácidos grasos y los ácidos biliares.

Depurativo: Dícese del agente físico o medicamentoso capaz de modificar los humores de acuerdo con el antiguo concepto médico que suponía la existencia de humores perjudiciales a cuya acumulación se atribuían las más diversas enfermedades.

Diaforético: Que estimula la secreción de sudor.

Disuria: f. Emisión dolorosa o dificultosa de la orina. Habitualmente es un proceso agudo y se asocia a la polaquiuria, o incremento de la frecuencia miccional.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Emenagogo: Dícese del agente que estimula o favorece la descarga menstrual.

Emoliente: adj. Que relaja o ablanda las partes inflamadas.
|| Medicamento que tiene esta propiedad.

Enzima: f. Sustancia macromolecular, natural o sintética, compuesta principalmente de proteína, que cataliza una o más reacciones bioquímicas de forma más o menos específica, a temperaturas relativamente bajas. En algunos casos, las enzimas poseen iones metálicos, grupos prostéticos o carbohidratos unidos de forma covalente o fuertemente asociados. Los RNA con actividad catalítica (ribozimas) también se incluyen en esta categoría.

Feladreno: $C_{10}H_{16}$. Hidrocarburo líquido, que se encuentra en la esencia del hinojo, del elemí y de la cicuta y en el eucalipto de Australia.

Fitosterol: Cualquiera de los esteroides de origen vegetal como el ergosterol, el zosterol, etc.

Geraniol: $(CH_3)_2C:C\cdot(CH_2)_2\cdot C(CH_3):CH\cdot CH_2\cdot OH$. Alcohol no saturado que se obtiene de un glucósido del *Pelargonium odoratissimum*. Tiene olor a rosas y se encuentra en las esencias de rosas, geranio, eucalipto y citronela.

Glabro: Calvo, lampiño.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Glucoquinina: Sustancia semejante a una hormona, aislada de tejidos vegetales y levaduras. Inyectada en animales tiene acción hipoglucémica y en los perros pancreatoprivos se comporta como la insulina.

Hemostático: adj. Se dice de un procedimiento o sustancia que interrumpe el flujo sanguíneo, como es el caso de la presión directa, los torniquetes o *clamps* quirúrgicos, el frío, las soluciones de fibrina, el colágeno microfibrilar, el ácido aminocaproico, etc.

Histamina: f. Amina depresora sintetizada fundamentalmente por los mastocitos y los basófilos, mediante descarboxilación de la histidina. Se la considera como una hormona hística que contribuye a regularizar el tono de la musculatura lisa. Además, induce una vasodilatación, así como prurito. || Sustancia responsable de reacciones alérgicas.

Impétigo: m. Infección cutánea purulenta causada por bacterias de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Es muy infecciosa; a través del exudado, propaga unas lesiones pruriginosas de color miel (vesículas y costras) que se forman en la cara y se diseminan localmente.

Intimina: Proteína de adhesión.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOSOSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Licopeno: m. Lípido de naturaleza isoprenoide precursor del betacaroteno.

Linalol: $(\text{CH}_3)_2\text{C}:\text{CH}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{C}(\text{CH}_3)(\text{OH})\text{:CH}\cdot\text{CH}_2$. 2,6-dimetil-octa-2,7-dien-7ol. Alcohol terpénico olefínico hallado en las esencias de bergamota, coriandro, lavanda, nerolí, etc.; en estado libre o esterificado, preferentemente en forma de acetato. Es un líquido de olor agradable, que hierve a 198°C a la presión normal.

Metil-eugenol: $\text{C}_3\text{H}_5\cdot\text{C}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)_2$. Metoxiderivado del eugenol; es un líquido que hierve a 248°C, que se encuentra juntamente con el eugenol en la esencia de clavo y en la *Pimenta officinalis*.

Monoica: Dícese de los organismos que poseen monoecia (flores masculinas y femeninas en el mismo individuo).

Monospermo: Aplícase al fruto que sólo contiene una semilla.

Mucílago: Pasta viscosa de goma o dextrina, empleada en farmacia como vehículo o excipiente, y en terapéutica como demulcente. || Principio viscoso de algunas plantas, compuesto por una goma disuelta en los jugos de aquellas.

Narina: f. Cada uno de los orificios de las fosas nasales que las comunican con el exterior; está rodeada por la aleta y el tabique nasal.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Neuralgia: f. Dolor producido por la inflamación de un nervio.

Opsonización: f. Recubrimiento de células, microorganismos o partículas por opsoninas.

Paniculado: Panoja o espiga de flores.

Peciolado: Parte de la hoja vegetal, con aspecto de tallo y que sirve de zona de inserción con el resto del vástago.

Perenne: Que vive más de dos años.

Pinnatisecta: Hoja compuesta cuyos folíolos tienen incisiones que llegan hasta el nervio.

Piuria: f. Presencia de glóbulos de pus en la orina, procedentes de la transformación de los leucocitos; se suele asociar a una infección urinaria.

Pivotante: Dícese de la raíz que consta de una porción principal, con geotropismo positivo, de la que salen lateralmente multitud de ramas perpendiculares. Se denomina también raíz axonomorfa.

Poliuria: f. Aumento del volumen de la orina en una cuantía superior a 2 ml/min (más de 2 litros en 24 horas).

Quebrachitol: Éster metílico del L-inositol, aislado de la corteza de quebracho y del látex de la especie *Hevea brasiliensis*. Funde entre 190 y 191°C.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Región perineal: Región anatómica del extremo inferior del tronco, entre los muslos.

Revulsivo: adj. Que produce una inflamación superficial (revulsión) para contrarrestar los efectos de otro proceso inflamatorio más profundo y peligroso.

Secretina: f. Hormona que estimula la secreción de jugo pancreático. Su secreción por parte del duodeno y yeyuno es estimulada por la acción del quimo sobre la mucosa duodenal. Esta hormona pasa a la sangre y con ella llega al páncreas.

Sésil: adj. Que está unido a una superficie externa. || Que carece de pedúnculo o tallo.

Sitosterol: Fitosterol que se extrae principalmente de los granos de ciertos cereales.

Taninos: Nombre genérico de un grupo de sustancias de origen vegetal que se presentan en plantas de diversas especies, generalmente acumuladas en la corteza y en la raíz o bien en formaciones patológicas como la nuez de agallas. Químicamente son compuestos acidofenólicos de estructura variada y compleja, sólo conocida en pequeño número de ellos.

Terpineol: $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OH})\cdot\text{C}_6\text{H}_8\cdot\text{CH}_3$. Alcohol que deriva del hidrato de terpina.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Tónico: adj. Que mantiene o es de larga duración. El término se utiliza para referirse habitualmente a respuestas fisiológicas reflejas o voluntarias de duración prolongada.

Tuberoso: Raíz carnosa, más gruesa que el tallo. Cubierto de tuberosidades (hinchazón, tubérculo).

Tuyona: $C_{10}H_{16}O$. Cetona dicíclica, que se encuentra en varias esencias vegetales. Es un líquido incoloro, de olor mentolado, del cual se conocen varios isómeros, todos derivados del sabineno o de los tuyenos, por oxidación. El alfa-tuyona se encuentra en la esencia de ajeno, y constituye se principio venenoso, en la esencia de tuya y en la de salvia; el beta-tuyona se encuentra principalmente en la esencia de tanaceto.

Unilocular: Con un solo lóbulo (Cavidad de un órgano en el que se contienen las semillas).

Violaxantina: Xantofila presente en algunas algas y plantas superiores.

Vitamina B₂: La **vitamina B₂** o **riboflavina** es conocida como vitamina B2, es un micronutriente de fácil absorción, con un rol clave en el mantenimiento de la salud en animales.

Vitamina K₁: La fitomenadiona (vitamina K1) es un factor procoagulante.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno



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

INFLUENCIA DE LA ALTITUD SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE MALVA OLOROSA, ORTIGA Y AJENJO MEDIANTE EL MÉTODO DE DILUCIÓN SERIADA EN TUBO DE ENSAYO

Xantófila: $C_{40}H_{56}O_2$. 3,3-dihidroxi-alfa-caroteno. Colorante amarillo de las plantas, que, junto con el caroteno, se presenta en los cromoplastos.

AUTORAS:

María Fernanda Alvarado Alvarado
Gabriela Mercedes Rodas Mancheno