



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
HIDALGO**

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
LABORATORIO DE ETNOBOTÁNICA**



**“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA EN *Vibrio cholerae* DE
EXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES DEL ESTADO DE
HIDALGO, MÉXICO”**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGA

P R E S E N T A:

ZAIRA ARREGUIN URIBE

DIRECTORES DE TESIS:

DR. MIGUEL ÁNGEL VILLAVICENCIO NIETO

QUÍM. BLANCA ESTELA PÉREZ ESCANDÓN

MINERAL DE LA REFORMA, HIDALGO

JUNIO, 2013.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA
 Licenciatura en Biología

M. EN C. JULIO CÉSAR LEINES MEDÉCIGO
DIRECTOR DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR, UAEH

PRESENTE

Por este conducto le comunico que el Jurado asignado a la pasante de Licenciatura en Biología **Zaira Arreguín Uribe**, quien presenta el trabajo recepcional de tesis intitulado **“Actividad antibacteriana en *Vibrio cholerae* de extractos de plantas medicinales del estado de Hidalgo, México”**, después de revisarlo en reunión de sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del Jurado:

PRESIDENTE: Quím. Blanca Estela Pérez Escandón

PRIMER VOCAL: Dra. Leticia Romero Bautista

SEGUNDO VOCAL: M. en C. Manuel González Ledesma

TERCER VOCAL: Dra. Claudia Coronel Olivares

SECRETARIO: Dr. Miguel Angel Villavicencio Nieto

PRIMER SUPLENTE: Biol. Ulises Iturbe Acosta

SEGUNDO SUPLENTE: Dr. Ignacio Esteban Castellanos Sturemark

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi más atenta consideración.

ATENTAMENTE
“AMOR, ORDEN Y PROGRESO”
 Mineral de la Reforma, Hidalgo a 21 de mayo de 2013

M. en C. Miguel Angel Cabral Perdomo
Coordinador Adjunto de la Licenciatura en Biología



c.c.p. Archivo



Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería,
 Carretera Pachuca - Tulancingo Km. 4.5, Ciudad del Conocimiento,
 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, C.P. 42184
 Tel. +52 771 7172000 exts 2532, Fax 2109
cabralma@uah.edu.mx mcabralperdomo@gmail.com



Agradecimientos.

Al Dr. Miguel Ángel Villavicencio Nieto y la Quím. Blanca Estela Pérez Escandón, por brindarme la oportunidad de trabajar con ellos, por apoyarme y orientarme en cuestiones académicas y personales.

Al M. en C. Mario Almaraz Segura, por ayudarme a realizar parte de los experimentos de mi tesis y por sus consejos.

A mi familia, por su amor, paciencia, comprensión y estar presentes en todo momento de mi vida.

A mi tutora la Dra. Consuelo Cuervas Cardona, por orientarme en mi formación profesional y personal.

Al Q.F.B Lucila y al Laboratorio Estatal de Hidalgo, por proporcionarme las cepas de *Vibrio cholerae*, para realizar mi trabajo de investigación.

A mis amigos y compañeros de laboratorio, por ayudarme a realizar mi trabajo de investigación.

ÍNDICE	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN: CÓLERA	
2.1. DEFINICIÓN	2
2.2. CLASIFICACIÓN DE <i>Vibrio cholerae</i>	2
2.3. HÁBITAT E INTERACCIONES DE <i>Vibrio cholerae</i>	3
2.4. MORTALIDAD	4
2.5. TRATAMIENTO	5
2.6. PLANTAS MEDICINALES	5
3. MEDICAMENTOS	
3.1. MEDICINA HOMEOPÁTICA	6
3.2. MEDICINA TRADICIONAL O HERBOLARIA	7
3.3. MEDICINA ALOPÁTICA	8
3.4. ANTIBIÓTICOS	8
3.5. USO DE LAS PLANTAS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÓLERA	8 9
4. QUÍMICA	
4.1. COMPUESTOS SECUNDARIOS	10
5. JUSTIFICACIÓN	11
6. OBJETIVO GENERAL	12

6.1. OBJETIVOS PARTICULARES	12
7. MÉTODO	13
7.1. MÉTODO DE ESTRÍA	15
7.2. ANTIBIOGRAMAS DE DIFUSIÓN EN AGAR	16
7.3. CAPTURA EN VIDEO E IMÁGENES FIJAS	18
8. RESULTADOS	
8.1. MÉTODO DE ESTRÍA	22
8.2. ANTIBIOGRAMAS	24
8.3. ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS VIDEOS E IMÁGENES FIJAS	
8.3.1. VELOCIDAD DE LAS BACTERIAS	27
8.3.2. NÚMERO TOTAL DE BACTERIAS	29
8.3.3. PORCENTAJE DE BACTERIAS NO MÓVILES	30
8.3.4. NÚMERO DE BACTERIAS EN FISIÓN BINARIA	32
8.3.5. TAMAÑO DE LAS BACTERIAS	35
9. DISCUSIÓN	
9.1. MÉTODO DE ESTRÍA	38
9.2. MÉTODO DE ANTIBIOGRAMAS	38
9.3. CAPTURA EN VIDEOS E IMÁGENES FIJAS	
9.3.1. VELOCIDAD DE LAS BACTERIAS	41
9.3.2. NÚMERO TOTAL DE BACTERIAS	42
9.3.3. PORCENTAJE DE BACTERIAS NO MÓVILES	42
9.3.4. NÚMERO DE BACTERIAS EN FISIÓN BINARIA	43
9.3.5. TAMAÑO DE LAS BACTERIAS	43

10. CONCLUSIONES	45
11. LITERATURA CITADA	45
12. ANEXO: FICHAS DE LAS PLANTAS MEDICINALES	
<i>Guazuma ulmifolia</i>	56
<i>Lippia graveolens</i>	57
<i>Persea americana</i>	59
<i>Poliomintha longiflora</i>	60
<i>Psidium guajava</i>	61
<i>Tabebuia rosea</i>	63
<i>Zingiber officinale</i>	64

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Preparación en Soxhlet, de los extractos de <i>Psidium guajava</i> y <i>Zingiber officinale</i> .	14
Figura 2. Evaporación del extracto de <i>Persea americana</i> con un rotavapor.	14
Figura 3. Diagrama del método de estría.	15
Figura 4a. Diagrama de diluciones de los extractos para el método de antibiograma.	17
Figura 4b. Diagrama del preparación del inóculo para el método de antibiograma.	18
Figura 5. Diagrama de preparaciones temporales para ser observadas al microscopio.	19
Figura 6. Observación de las preparaciones temporales, a través del microscopio de contraste de fases.	20
Figura 7. Preparaciones temporales selladas con cera de abeja.	21
Figura 8. Método de estría de <i>T. rosea</i> . 1.- <i>V. cholerae</i> NO O1, 2.- <i>V. cholerae</i> O1 Ogawa y 3.- <i>V. cholerae</i> O1 Inaba.	22
Figura 9. Antibiograma del extracto de <i>Poliomintha longiflora</i> con la cepa de <i>Vibrio cholerae</i> O1 Ogawa.	26
Figura 10. Velocidad de locomoción de <i>V. cholerae</i> NO O1. Escala: 0. Sin movimiento, 1. Poco movimiento, 2. Movimiento moderado y 3. Mucho movimiento.	27
Figura 11. Velocidad de locomoción de <i>V. cholerae</i> O1 Ogawa. Escala: 0. Sin movimiento, 1. Poco movimiento, 2. Movimiento moderado y 3. Mucho movimiento.	28
Figura 12. Velocidad de locomoción de <i>V. cholerae</i> O1 Inaba. Escala: 0. Sin movimiento, 1. Poco movimiento, 2. Movimiento moderado y 3. Mucho movimiento.	28
Figura 13. Número total de bacterias de <i>V. cholerae</i> NO O1.	29
Figura 14. Número total de bacterias de <i>V. cholerae</i> O1 Ogawa.	29

Figura 15.	Número total de bacterias de <i>V. cholerae</i> O1 Inaba.	30
Figura 16.	Porcentaje de bacterias inmóviles de <i>V. cholerae</i> NO O1.	31
Figura 17.	Porcentaje de bacterias inmóviles de <i>V. cholerae</i> O1 Ogawa.	31
Figura 18.	Porcentaje de bacterias inmóviles de <i>V. cholerae</i> O1 Inaba.	32
Figura 19.	Número de bacterias en fisión binaria de <i>V. cholerae</i> NO O1.	32
Figura 20.	Bacterias en fisión binaria de la cepa <i>V. cholerae</i> NO O1, del grupo testigo, en el tiempo 5 (24 hrs), a un aumento de 100x.	33
Figura 21.	Número de bacterias en fisión binaria de <i>V. cholerae</i> O1 Ogawa.	33
Figura 22.	Bacterias en fisión binaria de <i>V. cholerae</i> O1 Ogawa, en el tiempo 1 (1 hr.) del grupo testigo, a un aumento de 100x.	34
Figura 23.	Número de bacterias en fisión binaria de <i>V. cholerae</i> O1 Inaba.	34
Figura 24.	Bacterias en fisión binaria de <i>V. cholerae</i> O1 Inaba, en el tiempo cero hrs del grupo experimental, a un aumento de 100x.	34
Figura 25.	Tamaño de <i>V. cholerae</i> NO O1, en el tiempo 2 (1 h) del grupo testigo, a un aumento de 100x.	36
Figura 26.	Tamaño de <i>V. cholerae</i> NO O1, en el tiempo 2 (1 h) del grupo experimental, a un aumento de 100x.	36
Figura 27.	Tamaño de la cepa <i>V. cholerae</i> O1 Ogawa, en el tiempo 2 (0.5 h) del grupo testigo, a un aumento de 100x.	37
Figura 28.	Tamaño de <i>V. cholerae</i> O1 Ogawa, en el tiempo 2 (0.5 h) del grupo experimental, a un aumento de 100x.	37
Figura 29.	Tamaño de <i>V. cholerae</i> O1 Inaba, en el tiempo 0 (0 h), del grupo testigo, a un aumento de 100x.	37
Figura 30.	Tamaño de <i>V. cholerae</i> O1 Inaba, en el tiempo 0 (0 h), del	36

grupo experimental, a un aumento de 100x.

Figura 31.	<i>Guazuma ulmifolia.</i>	56
Figura 32.	<i>Lippia graveolens.</i>	57
Figura 33.	<i>Persea americana.</i>	59
Figura 34.	<i>Poliomintha longiflora.</i>	60
Figura 35.	<i>Psidium guajava.</i>	61
Figura 36.	<i>Tabebuia rosea.</i>	63
Figura 37.	<i>Zingiber officinale.</i>	64

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Comparación entre grupos control y experimental del método de estría. Escala: 0= Resistente y 1= Inhibida	23
Cuadro 2. Diámetro promedio, en mm, de la zona de inhibición en <i>Vibrio cholerae</i> por el método de antibiograma.	25
Cuadro 3. Tamaño promedio de las bacterias, tomando el largo y el ancho (μm).	36

1. RESUMEN

El cólera es una enfermedad emergente, causada por la especie *Vibrio cholerae*, que ha ocasionado numerosas muertes durante las siete epidemias mundiales registradas. El objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana de extractos de plantas medicinales en tres cepas de *Vibrio cholerae*: NO O1, O1 Ogawa y O1 Inaba, aisladas del estado Hidalgo, para contribuir al conocimiento de las propiedades medicinales de las plantas. Se seleccionaron plantas basándose en estudios etnobotánicos previos para tratar enfermedades gastrointestinales: *Guazuma ulmifolia*, *Lippia graveolens*, *Zingiber officinale*, *Persea americana*, *Poliomintha longiflora*, *Psidium guajava* y *Tabebuia rosea*. De las plantas se obtuvieron extractos etanólicos que se emplearon en las pruebas antibacterianas de sembrado por estría y antibiogramas de difusión en agar, a diferentes concentraciones, con un testigo negativo etanol y uno positivo con tetraciclina. Se preparó un extracto acuoso de *P. longiflora*, para filmar y tomar imágenes fijas de su actividad antibacteriana *in vivo*. Se midió la velocidad de movimiento, el número total de bacterias, el porcentaje de bacterias inmóviles, bacterias en fisión binaria y tamaño. Con el método de estría se observó que las plantas con actividad inhibitoria fueron *L. graveolens*, *P. americana*, *P. longiflora* y *T. rosea*. En los antibiogramas, la planta que presentó mayor actividad fue *P. longiflora*, la segunda planta con más actividad fue *L. graveolens*, seguida de *T. rosea* y de *P. americana*. En los videos e imágenes fijas se observó que el extracto de *P. longiflora* tiene efecto inhibitorio en el crecimiento de las cepas de estudio. Se evidencia en este estudio, que en la flora de Hidalgo existe un potencial para contribuir a resolver la problemática del cólera, una enfermedad de interés mundial.

2. INTRODUCCIÓN

CÓLERA

2.1. DEFINICIÓN

El cólera es una infección intestinal aguda causada por *V. cholerae*, bacteria Gram negativa, incluida en la familia Vibrionaceae (Gammaproteobacteria), en la cual se agrupan especies móviles con un flagelo y oxidasa positiva. *V. cholerae* es una de las especies con mayor importancia clínica y epidemiológica. Los vibrios son bacterias individuales, con forma de bacilos curvos, heterótrofas, anaerobias facultativas (Madigan, 2004).

2.2. CLASIFICACIÓN DE *Vibrio cholerae*

En 1953 Gardner y Venkatraman proporcionaron la primera clasificación de *V. cholerae* basándose en características del antígeno somático (O) y le asignaron el serogrupo O1 al agente causal del cólera, dicha enfermedad apareció en México desde 1978, con un brote a lo largo de la costa sur de México y siguió presentándose años después (Ibarra *et al.*, 1999).

La especie de *V. cholerae* está conformada por 190 serogrupos de los cuales, sólo el O1 y O139 son los causantes del cólera epidemiológico en el mundo. El serogrupo O1 se compone de tres serotipos: Inaba, Ogawa e Hikojima. Otros serogrupos se consideran no epidemiológicos como es el caso de NO O1 y NO 139. Los vibriones que no se aglutinan cuando están expuestos al antisuero del serogrupo O1 son denominados *V. cholerae* NO O1 (Borroto, 1997).

Las cepas de *V. cholerae* que producen una enterotoxina son las causantes del cólera epidemiológico, a diferencia de las que no la producen se designan cepas no epidemiológicas, las cuales pueden causar diarreas. Los vibrios coléricos no epidemiológicos son capaces de causar enfermedades diarreicas agudas tan severas como el cólera, al presentar genes de virulencia. Su enteropatogenicidad parece ser de naturaleza multifactorial y asociada a hemolisinas, neuraminidasa, enterotoxinas termolábiles y enterotoxinas termoestables. Algunas especies del género *Vibrio*, como *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus*, *V. furnissii*, *V. fluvialis*, *V. mimicus* y *V. metschnikovii*, entre otros, también pueden presentar genes de virulencia y causar enfermedades diarreicas tan graves como el cólera (Ibarra *et al.*, 1999).

2.3. HÁBITAT E INTERACCIONES DE *Vibrio cholerae*

La cepa de *V. cholerae*, responde a diferentes condiciones de estrés ambiental en reservorios acuáticos, con bajas temperaturas y baja disponibilidad de nutrientes, adopta un estado viable que le permite realizar funciones metabólicas y formar colonias sin que se pueda cultivar, al ser favorables las condiciones ambientales el estado cambia a cultivable (Borroto, 1997).

V. cholerae O1 toxigénico es una bacteria anaerobio facultativa, que en presencia de oxígeno respira y en ausencia de éste es capaz de fermentar. Encuentra las condiciones óptimas para su supervivencia y crecimiento en ambientes acuáticos, cálidos, moderadamente salinos, con un pH neutro o levemente alcalino y ricos en nutrientes, puede crecer en medios que contienen carbohidratos, particularmente

glucosa, así como nitrógeno, azufre, fósforo y sodio, adhiriéndose a sedimentos para obtener estos nutrientes. El sodio (Na⁺), es un requerimiento absoluto para su crecimiento, incluso puede sobrevivir en ausencia de otros nutrientes y crecer más rápido (Borroto, 1997).

La adherencia a las superficies de plantas macrófilas acuáticas, zooplancton y fitoplancton, le permite sobrevivir, durante periodos interepidémicos sin perder su toxicidad, gracias a las asociaciones simbióticas que mantienen con otras especies, contribuyen al carácter endémico del cólera, incluso en ecosistemas con agua dulce (Borroto, 1997).

2.4. MORTALIDAD

La bacteria *V. cholerae* ha causado siete pandemias en el mundo, de las cuales cinco han afectado a México, primer caso de cólera en el país fue durante la segunda pandemia presentándose en Saltillo, Coahuila (1833), la tercer pandemia afectó a Yucatán (1854); la cuarta y quinta pandemia afectaron a Oaxaca (1883) y la séptima pandemia en San Miguel Totolmaloya, Estado de México el 13 de junio de 1991 con 19 personas afectadas y 0 defunciones. La primera y sexta pandemia, no afectaron a México. Actualmente en México, el SINAVE (Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica) reportó un caso de cólera en el estado de Sinaloa, en 2012 (SINAVE, 2012).

La Organización Panamericana de la Salud reportó, de 1990 a 2006, un total de 1, 277, 870 casos de cólera en América, de los cuales México tuvo 45, 583 casos (OPS, 2006). En el 2009, la Organización Mundial de la Salud (OMS), reportó para

el continente africano 217 333 casos de cólera; en Asia, 1 902; Europa 17; América 17 y en Oceanía 1957, con un total de 221, 226 casos confirmados y 4, 946 muertes (WHO, 2010). En Haití en 2010 se presentó una epidemia que fue causada por dos serogrupos de *V. cholerae* O1 y O139 que causó la muerte de 7, 000 personas (Kupferschmind, 2012). El brote se extendió a varios países del continente americano como República Dominicana, Venezuela y Estados Unidos (NOM-016-SSA2-2012). En julio de 2012 se reportaron en Cuba 170 casos confirmados de cólera.

2.5. TRATAMIENTO

El tratamiento para el cólera, actualmente, consta de una reposición hidroelectrolítica. Si la enfermedad se agrava y el paciente presenta una deshidratación severa, se aplican dos tratamientos de antibióticos; el primero de eritromicina 12.5 mg/kg cada seis horas o azitromicina 20 mg/kg en dosis única, sin superar 1 g y el segundo de ciprofloxacino, suspensión o tabletas, 20 mg/kg en dosis única o doxiciclina, suspensión o tabletas, 2-4 mg/kg en dosis única, los cuales son utilizados de manera general para tratar enfermedades causadas por bacterias (Sánchez, 2011).

2.6. PLANTAS MEDICINALES

Las plantas medicinales son aquellas especies a las que se les atribuye un efecto curativo sobre las enfermedades (Estrada, 1995). Las plantas pueden tener efectos tóxicos y terapéuticos sobre los humanos y los compuestos secundarios

dentro de éstas, son los responsables de la actividad biológica (Ricker y Daly, 1998).

Desde hace mucho tiempo las personas descubrieron los usos que se le podían dar a las plantas, han formado parte de la cultura e historia de los pueblos, y sus conocimientos sobre éstos, han sido transmitidos a sus descendientes, sobre todo cuando se trataba de afecciones a la salud. Se ha demostrado que las plantas poseen propiedades para la cura de diversas enfermedades, entre las que se encuentran las gastrointestinales, que pueden ser causadas por bacterias patógenas. Por esta razón se han realizado estudios para probar la actividad antibacteriana de las plantas medicinales (Cowan, 1999).

Las enfermedades causadas por las bacterias patógenas son un problema vigente para la salud. Las enfermedades gastrointestinales son uno de los principales problemas que afectan a la población humana en el mundo. Los microorganismos pueden encontrarse en el agua, suelo y aire, por lo que su contacto con las personas es muy frecuente (Iwu *et al.*, 1999).

3. MEDICAMENTOS

Un medicamento es toda sustancia medicinal y sus asociaciones o combinaciones destinadas a la utilización en las personas o en los animales, que se presente dotada de propiedades para prevenir, tratar, aliviar o curar enfermedades, dolencias, sensoriales y estado mental (Proyecto de Ley, 2001).

La legislación mexicana clasifica a los medicamentos por su naturaleza, por su forma de preparación, para su venta y suministro al público. Por su naturaleza, los

medicamentos pueden ser homeopáticos, herbolarios y alopáticos (Gutiérrez *et al.*, 2008).

3.1. MEDICINA HOMEOPÁTICA

La homeopatía es un sistema terapéutico, que consiste en administrar sustancias naturales hechas con plantas, animales o minerales en dosis infinitesimales, para curar enfermedades mediante la aplicación del "Principio de los semejantes", el cual está basado en la idea de que todas las sustancias que provocan un mal, también lo pueden curar cuando se administran en pequeñas dosis (Ballester *et al.* 2009).

3.2. MEDICINA TRADICIONAL O HERBOLARIA

La OMS, define a la medicina tradicional como un conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basados en teorías, creencias y experiencias de diferentes culturas, usados para el mantenimiento de la salud, así como la mejora o el tratamiento de enfermedades físicas o mentales (OMS, 2013).

El papel que desempeña la medicina tradicional es de gran importancia desde el punto de vista social, económico y médico (Soto y Sousa, 1995). La legislación mexicana menciona que la herbolaria incluye productos elaborados con materia vegetal o algún derivado de esta, cuyo ingrediente principal es la parte aérea o subterránea de una planta o extractos y tinturas, así como jugos resinas, aceites grasos y esenciales, que son empleados para tratar diversas enfermedades (Gutiérrez *et al.*, 2008).

La medicina herbolaria es una práctica muy extendida en el mundo, según lo reporta la OMS. El 64% de los habitantes recurre a las plantas medicinales en el mundo, en especial la población de escasos recursos que no cuentan con servicios institucionalizados de salud. La medicina tradicional abarca una amplia variedad de terapias y prácticas que varían entre los países y regiones. En algunos lugares se les denomina medicina alternativa o complementaria (OMS, 2013).

3.3. MEDICINA ALOPÁTICA

La medicina alopática busca prevenir, tratar y curar las enfermedades mediante el uso de drogas sintéticas realizadas a base de productos químicos en dosis ponderables para que el organismo se defienda, buscando medios terapéuticos para la curación de la enfermedad (Villalobos, 2001).

3.4. ANTIBIÓTICOS

El descubrimiento de los antibióticos causó una revolución en la mitad del siglo XX sobre el tratamiento de enfermedades infecciosas. Hoy en día se ha observado que las bacterias han creado resistencia a algunos de éstos, consecuencia de la adaptación de las bacterias. Debido a esto, las bacterias patógenas ya no responden a algunos antibióticos; sin embargo, una alternativa para tratar estos problemas es mediante el uso de plantas medicinales, lo que representa posibilidades de innovación de nuevos tratamientos en respuesta al incremento de la resistencia de las bacterias (Background, 1996).

Se han realizado diversos estudios, sobre las propiedades antimicrobianas de las plantas medicinales, las cuales contienen alcaloides, flavonoides, lactonas (Ríos y Recio, 2005), quinonas y fenoles, entre otras (Cowan, 1999).

3.5. USO DE LAS PLANTAS PARA EL TRATAMIENTO DEL CÓLERA

Desde hace mucho tiempo se han hecho estudios para conocer la capacidad de algunas plantas para inhibir el crecimiento de microorganismos causantes de enfermedades como lo reportado por Toda *et al.* (1989) con extracto de hojas del té verde japonés, para inhibir el crecimiento de *V. cholerae* causante de enfermedades diarréicas y *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, causantes de enfermedades respiratorias.

Entre los estudios realizados se encuentra el de García *et al.* (2006), con extractos de treinta y dos plantas medicinales usadas comúnmente en México, reportó que sólo dos especies *Acacia farnesiana* y *Artemisia ludoviciana*, inhibieron el crecimiento, adhesión y producción de la enterotoxina de *V. cholerae*.

Saurabh *et al.* (2009), realizó un estudio sobre la evaluación de la actividad antimicrobiana de algunas plantas medicinales en *V. cholerae*, en el cual se seleccionaron nueve plantas y emplearon el método de microdilución para tratar desordenes gastrointestinales, como cólera, diarrea y disentería.

4. QUÍMICA

4.1. COMPUESTOS SECUNDARIOS

Los Compuestos Secundarios (CS) se originan paralelamente a los compuestos primarios a través de las mismas o similares vías de biosíntesis (Anaya y Cruz, 2001). La designación de CS refleja el hecho de que estos compuestos no son estrictamente esenciales para las funciones de las plantas (Herrera y Pellmyr, 2002) y se encuentran en cantidades diferentes en las plantas (Mckey, 1979).

Se conoce que los CS se biosintetizan gracias a las interacciones bióticas que hay entre las especies y dentro de ellas, por lo que los CS poseen una gran heterogeneidad química (Anaya y Cruz, 2001).

El papel que tienen los CS permite a la planta defenderse (Schultes y Hofmann, 1993; Anaya y Cruz, 2001). En cada especie de planta ha evolucionado un complejo químico único que la protege. Los CS defensivos de las plantas presentan un amplio espectro de actividad, como antimicrobianos, antifúngicos, antivirales, como insecticidas, entre otros (Esquivel *et al.*, 1996).

Las plantas producen numerosos tipos de metabolitos secundarios y por su abundancia o ausencia proporcionan a las plantas características químicas útiles para su clasificación y aprovechamiento (Kuklinski, 2000).

De todas las sustancias que constituyen la química de una planta, sólo una o dos son responsables de los efectos medicinales; la proporción en peso de los principios activos son sólo una fracción del 1% y con una frecuencia tan sólo una parte de mil de la planta (Shultes y Hofmann, 1993). Las defensas de la planta son

químicamente diversas, no son exclusivas de una sola familia, género o especie, este atributo puede ser muy importante en las funciones defensivas (Mckey, 1979).

5. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades gastrointestinales, son uno de los problemas más comunes en el mundo, pueden ocasionarse por diversos factores, uno de ellos es por bacterias, entre ellas se encuentran *Vibrio cholerae* NO O1, *Vibrio cholerae* O1 Ogawa y *Vibrio cholerae* O1 Inaba, causantes del cólera. Esta es una enfermedad emergente que ha propiciado muchas muertes a nivel mundial.

Esta enfermedad es frecuente y afecta a personas de cualquier edad; incluso la infección puede llegar a causar la muerte, si no se utiliza un tratamiento adecuado, para combatirla. Una alternativa para tratar la infección del cólera, es mediante el uso de plantas medicinales que tienen actividad antibacteriana. Los extractos de plantas pueden beneficiar a personas que no cuentan con atención médica institucionalizada o que se encuentran en constante riesgo por estas bacterias que se pueden encontrar en alimentos y agua contaminados.

6. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto de extractos de plantas de uso medicinal sobre el crecimiento de tres cepas de *Vibrio cholerae*, por medio de métodos de estría y antibiogramas de difusión en disco, así como cuantificar parámetros celulares del extracto más eficiente contra el crecimiento microbiano, para contribuir al conocimiento científico de las propiedades medicinales que tienen las plantas.

6.1. OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar los efectos de los extractos etanólicos de plantas de uso medicinal sustentadas por estudios etnobotánicos, para conocer el efecto sobre el crecimiento de *Vibrio cholerae* NO O1, *Vibrio cholerae* O1 Ogawa y *Vibrio cholerae* O1 Inaba.
- Determinar el efecto directo del extracto de la planta que presentó mayor actividad sobre los parámetros: velocidad, número total de bacterias, número de bacterias no móviles, bacterias en fisión binaria y tamaño de los microorganismos de *Vibrio cholerae* NO O1, *Vibrio cholerae* O1 Ogawa y *Vibrio cholerae* O1 Inaba, por medio de filmación empleando el microscopio de contraste de fases.

7. MÉTODO

Se seleccionaron las siguientes plantas (Anexo), basándose en estudios etnobotánicos, las cuales son de las más utilizadas tradicionalmente para tratar enfermedades gastrointestinales: *Guazuma ulmifolia*, *Lippia graveolens*, *Persea americana*, *Poliomintha longiflora*, *Psidium guajava*, *Tabebuia rosea* y *Zingiber officinale* (Villavicencio y Pérez, 1995; Aguilar *et al.* 1998). Las plantas recolectadas, se secaron a temperatura ambiente (18-25°C) en el laboratorio, después fueron cortadas en trozos. Posteriormente se realizaron extracciones, por aproximadamente por 12 horas, en un Soxhlet. Se utilizaron hojas de las especies de *G. ulmifolia*, *L. graveolens*, *P. americana*, *P. longiflora*, *P. guajava*, *T. rosea* y la raíz de la especie *Z. officinale*, con aproximadamente 20 gramos por planta (Fig. 1). Se usó etanol como disolvente. El volumen se redujo por medio de un rotavapor (Fig. 2) y se calculó la concentración de cada extracto, pesando el residuo obtenido después de la evaporación en una porción de volumen conocido.



Figura 1. Preparación en Soxhlet, de los extractos de *Psidium guajava* y *Zingiber officinale*.



Figura 2. Evaporación del extracto de *Persea americana* en un rotavapor.

Se ensayaron los extractos etanólicos de las plantas seleccionadas, mediante la técnica de estría y antibiograma, para conocer el efecto sobre el crecimiento de las bacterias *V. cholerae* NO O1, *V. cholerae* O1 Ogawa y *V. cholerae* O1 Inaba aisladas por el Laboratorio Estatal del Estado de Hidalgo, las cuales fueron mantenidas en refrigeración en Agar base sangre.

7.1. MÉTODO DE ESTRÍA

Se empleó el método de sembrado por estría propuesto por Mitscher *et al.* (1972), el cual se basó en sembrar las tres cepas en una caja Petri, el grupo experimental se integró el extracto etanólico, con una concentración de 3200 µg/mL, al agar Mueller-Hinton (M-H), para posteriormente sembrar y el grupo testigo contenía únicamente agar (M-H). Cada prueba se realizó por triplicado (Fig. 3).



Figura 3. Diagrama del método de estría.

7.2. ANTIBIOGRAMAS DE DIFUSIÓN EN AGAR

El método consistió fue antibiogramas de difusión en agar, este método fue estandarizado por Bauer *et al.* en 1966 (Gamazo *et al.* 2005). En el cual se fundamenta en la inoculación de las bacterias sobre agar M-H, donde se colocaron discos de papel filtro Whatman No.1 de 6 mm de diámetro, previamente esterilizados, los cuales fueron impregnados con 20 µg/mL de extracto etanólico. Cada extracto de las plantas se preparó a diferentes concentraciones: 3200, 1600, 800, 400, 200, 100 y 50 µg/mL y fueron colocados en la periferia de la caja Petri (Fig. 4a). El grupo testigo negativo con etanol absoluto y el testigo positivo con el antibiótico de amplio espectro tetraciclina, a una concentración de 30 µg/mL. Cada prueba de antibiograma se realizó por triplicado.

Para la preparación del inóculo se procedió a tomar una muestra con un asa bacteriológica, se sembró por estría y se incubó por un tiempo de 24 horas. Se tomaron de tres a cuatro Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en 5 ml de caldo soya tripticaseína (CTS) y se incubó a 37°C por 24 horas, hasta que la turbidez fue visible (Fig. 4b), teniendo aproximadamente 10^7 UFC (Madigan, 2004). Se ajustó la turbidez con solución salina al 10%. Se utilizó un hisopo de algodón estéril, para sumergirlo en el inóculo y eliminar el exceso presionando la pared interna del tubo, pero sin tocar el caldo de cultivo, para posteriormente inocular la superficie de la placa de agar M-H con el hisopo, pasándolo uniformemente por toda la superficie en tres direcciones; luego, se dejó secar por 5 minutos. Por último, se colocaron cada uno de los discos impregnados con las diferentes concentraciones del extracto.

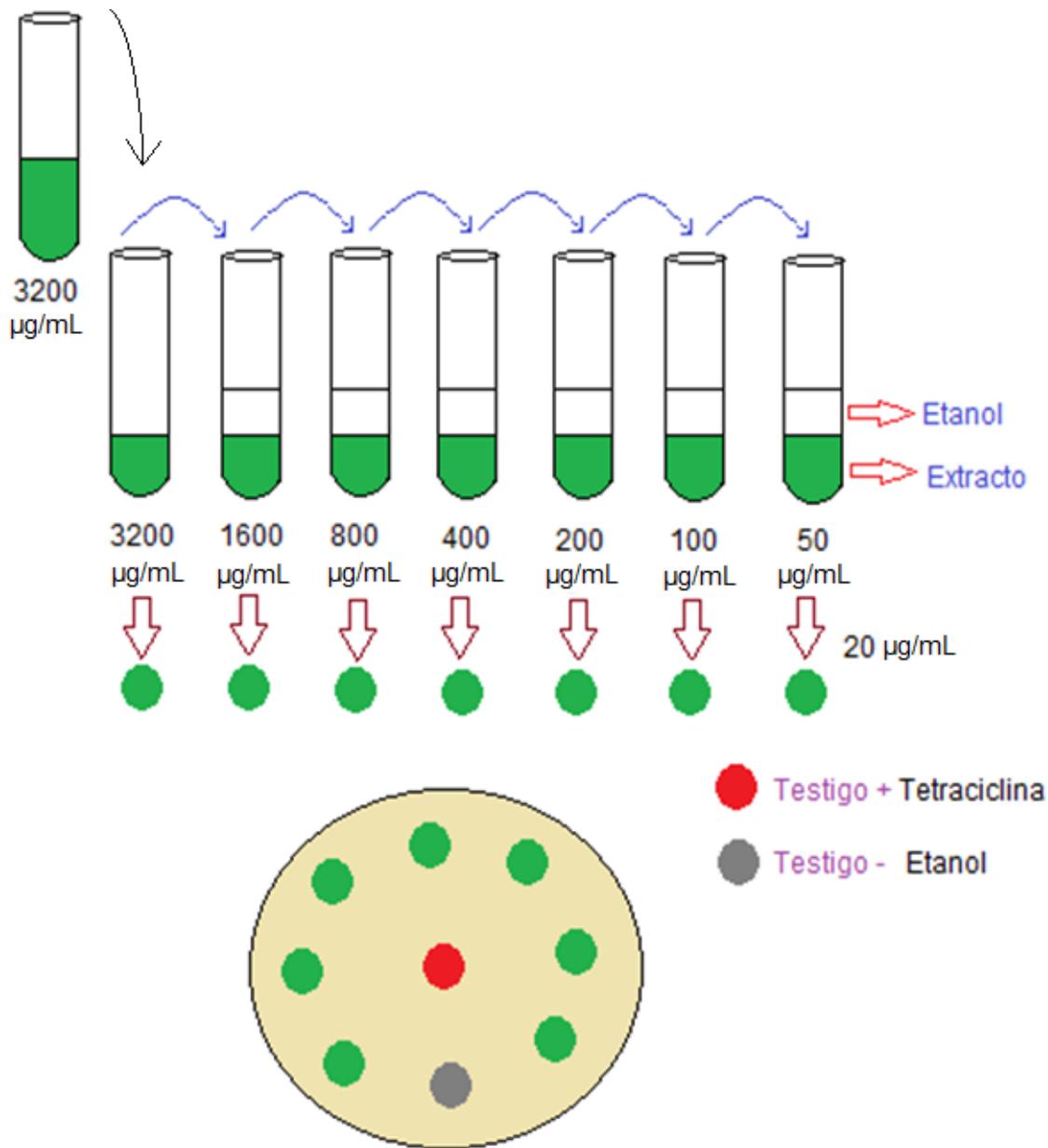


Figura 4a. Diagrama de diluciones de los extractos para el método de antibiograma.

Para finalizar, a las 24 hrs se determinó el efecto de los extractos etanólicos, midiendo el diámetro en mm de las zonas de inhibición producidas.

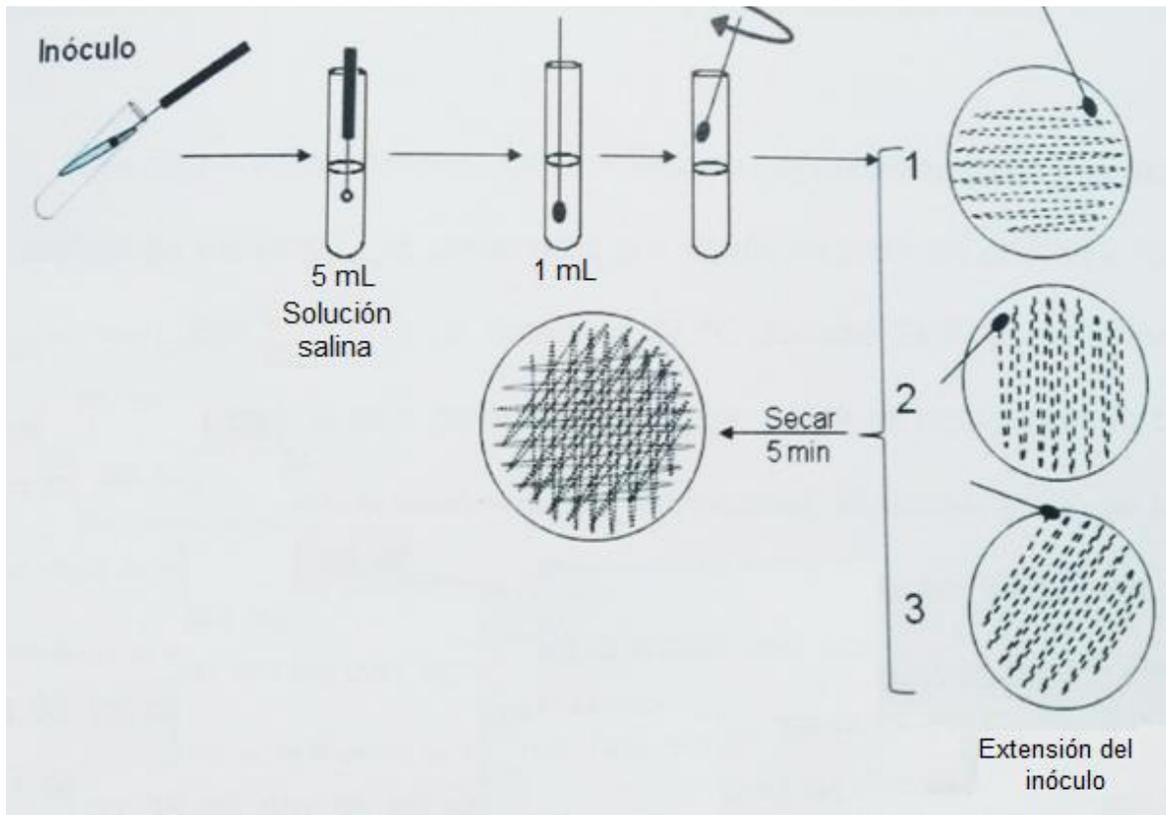


Figura 4b. Diagrama del preparación del inóculo para el método de antibiograma.

7.3. CAPTURA EN VIDEO E IMÁGENES FIJAS

Se preparó un extracto acuoso al 5% de *P. longiflora*. El testigo que contenía 0.5 mL de solución salina al 1% y 0.5 mL de medio de cultivo en caldo soya tripticaseína, previamente incubado con las cepas 24 horas. El grupo experimental contenía 0.5 ml del medio de cultivo y 0.5 ml de extracto acuoso más 1% de cloruro de sodio. Se grabaron tres videos correspondientes al número de las

cepas de estudio. Se prepararon 12 tubos de cada grupo y se observaron en seis tiempos diferentes, de esta manera había un duplicado de cada grupo (Fig. 5).

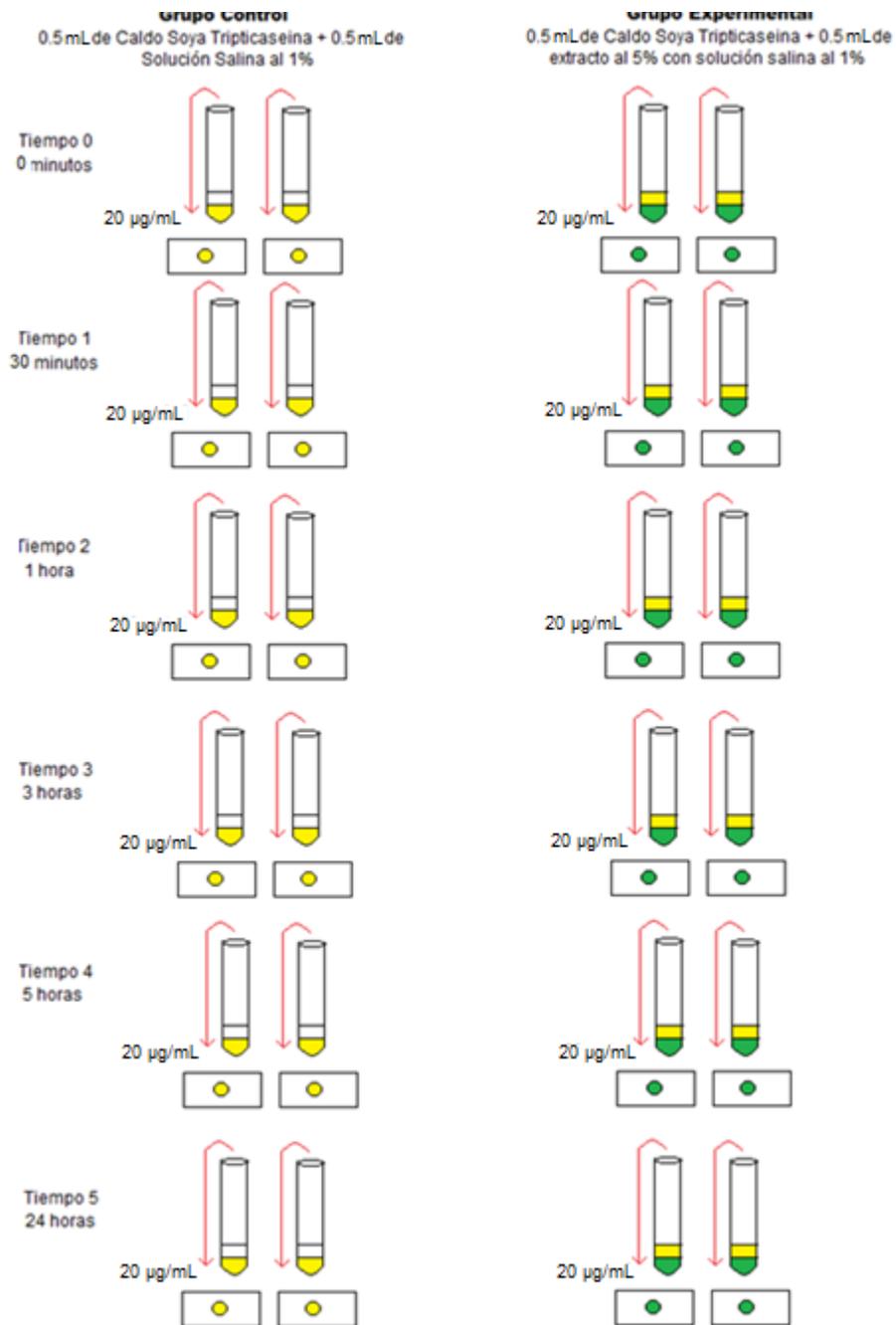


Figura 5. Diagrama de preparaciones *in vivo* para ser observadas al microscopio.

Las observaciones se realizaron a través de un microscopio de contraste de fases Olympus BX41, a un aumento de 100x, en diferentes períodos de tiempo; tiempo 0; a partir de que las bacterias entraron en contacto con el extracto; tiempo 1, media hora después que entraron en contacto; tiempo 2, una hora después del contacto; tiempo 3, a las tres horas, tiempo 4: a las seis horas y tiempo 5, veinticuatro horas después. Se utilizaron los mismos periodos de tiempo para el grupo control (Fig. 6). El video y fotografías fueron tomadas por el programa "Ulead Photo Explorer 7.0 SE".



Figura 6. Observación de las preparaciones temporales, a través del microscopio de contraste de fases.

De cada tubo se tomaron 20 μ L y se colocaron en portaobjetos Madesa de 25x75 mm para las preparaciones *in vivo*, que fueron selladas con cera de abeja, para su posterior observación. La muestra fue filmada 30 segundos y se tomaron fotografías (Fig. 7).



Figura 7. Preparaciones *in vivo* selladas con cera de abeja.

Con apoyo de los videos se contó el número de bacterias inmóviles, se determinó cualitativamente la velocidad de locomoción de las bacterias en los diferentes tiempos utilizando la siguiente escala: 0, Sin movimiento; 1, Poco movimiento, cuando estuvieran casi inmóviles; 2, Movimiento moderado, cuando estuvieran móviles, pero su movimiento no fuera considerablemente rápido y 3, Mucho movimiento, cuando se observó a las bacterias en un estado máximo de movimiento. Se realizaron estas mediciones debido a que *V. cholerae* es una bacteria que posee un flagelo que le permite desplazarse. A través de imágenes fijas, tomadas con una cámara Olympus Modelo E60020, se contabilizó el número de bacterias en fisión binaria en cada uno de los diferentes tiempos y el número total de bacterias por campo en ambos grupos. Para medir el tamaño de las bacterias se utilizó el Programa "tpsdig2w32" versión 2.16, que permite medir la

Cuadro 1. Comparación entre grupos control y experimental del método de estría.

Escala: 0= Resistente y 1= Inhibida

Especie	<i>V. cholerae</i> NO O1.		<i>V. cholerae</i> O1 Ogawa.		<i>V. cholerae</i> O1 Inaba.	
	Experimento	Control	Experimento	Control	Experimento	Control
<i>Guazuma ulmifolia</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Lippia graveolens</i>	1	0	0	0	1	0
<i>Persea americana</i>	0	0	1	0	1	0
<i>Poliomintha longiflora</i>	1	0	1	0	1	0
<i>Psidium guajava</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Tabebuia rosea</i>	1	0	1	0	1	0
<i>Zingiber officinale</i>	0	0	0	0	0	0

8.2. ANTIBIOGRAMAS DE DIFUSIÓN EN AGAR

Se observó que los extractos de *L. graveolens*, *P. americana*, *P. longiflora* y *T. rosea*, presentaron actividad antibacteriana en *V. cholerae*. Las plantas que no presentaron actividad inhibitoria fueron *G. ulmifolia*, *P. guajava* y *Z. officinale*.

La planta que presentó mayor actividad fue *P. longiflora*, inhibiendo los dos serotipos a 100 µg/mL, a su vez inhibió la cepa NO O1, a partir de 800 µg/MI (Figura 9), la segunda planta con mayor actividad fue *L. graveolens* inhibiendo a las cepas *V. cholerae* NO O1 y el serotipo Inaba, a partir de 200 µg/mL. La planta de *P. americana*, inhibió el crecimiento de la cepa NO O1 a 800 µg/mL y el crecimiento de la cepa *V. cholerae* O1 Ogawa e Inaba a 1600 µg/mL; *T. rosea* inhibió el crecimiento de las tres cepas a la máxima concentración utilizada (3200 µg/mL). El extracto de *P. longiflora* produjo zonas de inhibición de un diámetro mayor que las del testigo positivo con tetraciclina (Cuadro 2).

Cuadro 2. Diámetro promedio, en mm, de la zona de inhibición producida por extractos de plantas, en tres cepas de *Vibrio cholerae* por el método de antibiograma.

Especie planta Concentración extracto µg/mL	<i>V. cholerae</i> NO O1	<i>V. cholerae</i> O1 Ogawa	<i>V. cholerae</i> O1 Inaba
<i>Guazuma ulmifolia</i>			
50	-	-	-
100	-	-	-
200	-	-	-
400	-	-	-
800	-	-	-
1600	-	-	-
3200	-	-	-
<i>Lippia graveolens</i>			
50	-	-	-
100	-	-	-
200	8	-	9
400	10	-	9
800	11	-	12
1600	11	-	15
3200	15	-	16
<i>Persea americana</i>			
50	-	-	-
100	-	-	-
200	-	-	-
400	-	-	-
800	8	-	-
1600	10	7	9
3200	11	9	11
<i>Poliomintha longiflora</i>			
50	-	-	-
100	-	7	9
200	-	10	13
400	-	13	17
800	8	16	21
1600	10	22	24
3200	20	30	28
<i>Psidium guajava</i>			
50	-	-	-
100	-	-	-
200	-	-	-
400	-	-	-
800	-	-	-
1600	-	-	-
3200	-	-	-
<i>Tabebuia rosea</i>			
50	-	-	-
100	-	-	-
200	-	-	-
400	-	-	-
800	-	-	-
1600	-	-	-
3200	10	9	7
<i>Zingiber officinale</i>			
50	-	-	-
100	-	-	-
200	-	-	-
400	-	-	-
800	-	-	-
1600	-	-	-
3200	-	-	-
Tetraciclina	21	20	20

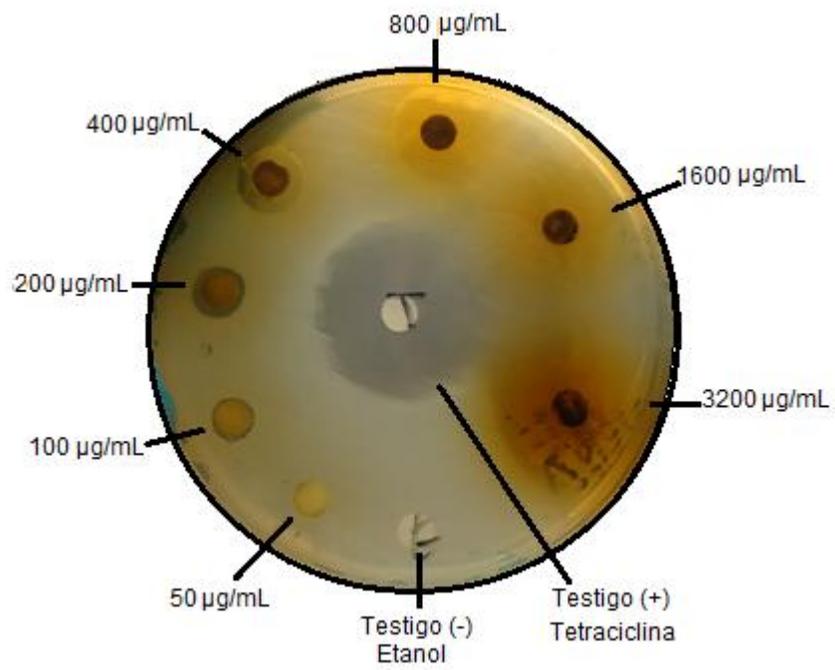


Figura 9. Antibiograma del extracto de *Poliomintha longiflora* con la cepa de *Vibrio cholerae* O1 Ogawa.

8.3. ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS VIDEOS E IMÁGENES FIJAS

8.3.1. VELOCIDAD DE LAS BACTERIAS

Se observó que el extracto de *P. longiflora* redujo inmediatamente la velocidad de *V. cholerae* NO O1 respecto del grupo testigo, este efecto se mantuvo hasta las cinco horas; a las 24 hrs la locomoción de las bacterias expuestas al extracto aumentó hasta ser igual que el grupo testigo (Fig. 10).

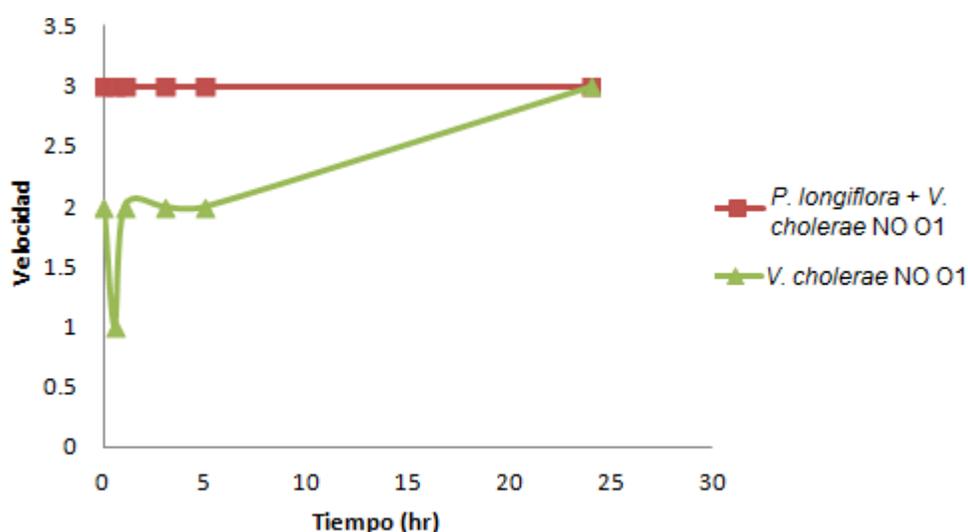


Figura 10. Velocidad de locomoción de *V. cholerae* NO O1.
Escala: 0. Sin movimiento, 1. Poco movimiento, 2. Movimiento moderado y 3. Mucho movimiento.

En el grupo experimental de *V. cholerae* O1 Ogawa se observó que la velocidad de las bacterias fue menor con el extracto de *P. longiflora*, al disminuir su movimiento, comparado con el grupo testigo, teniendo un mayor efecto a la media hora de exposición al extracto (Fig. 11).

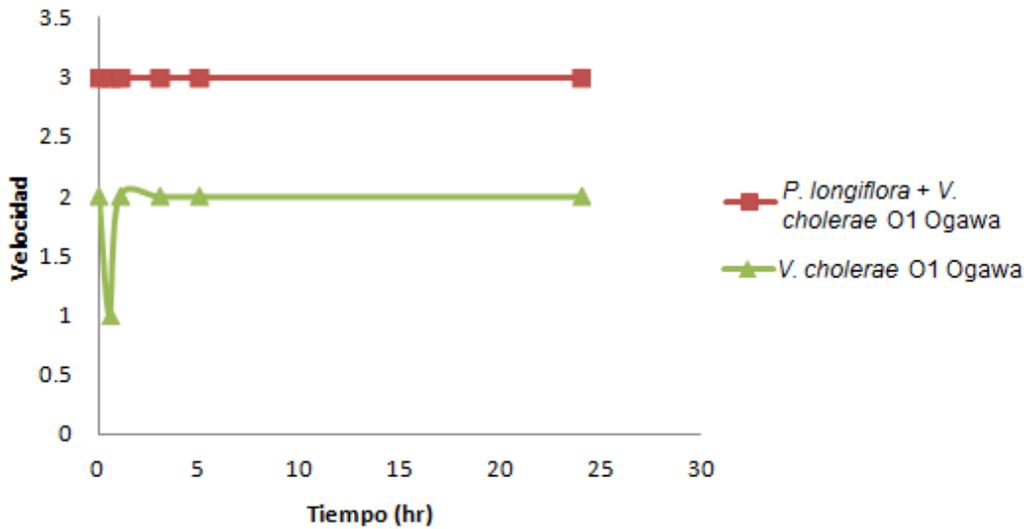


Figura 11. Velocidad de locomoción de *V. cholerae* O1 Ogawa. Escala: 0. Sin movimiento, 1. Poco movimiento, 2. Movimiento moderado y 3. Mucho movimiento.

La velocidad del grupo testigo de *V. cholerae* O1 Inaba fue más rápida que la del grupo experimental. Se puede observar que la velocidad del grupo experimental fue en aumento, hasta que se igualó con la del grupo testigo (Fig. 12).

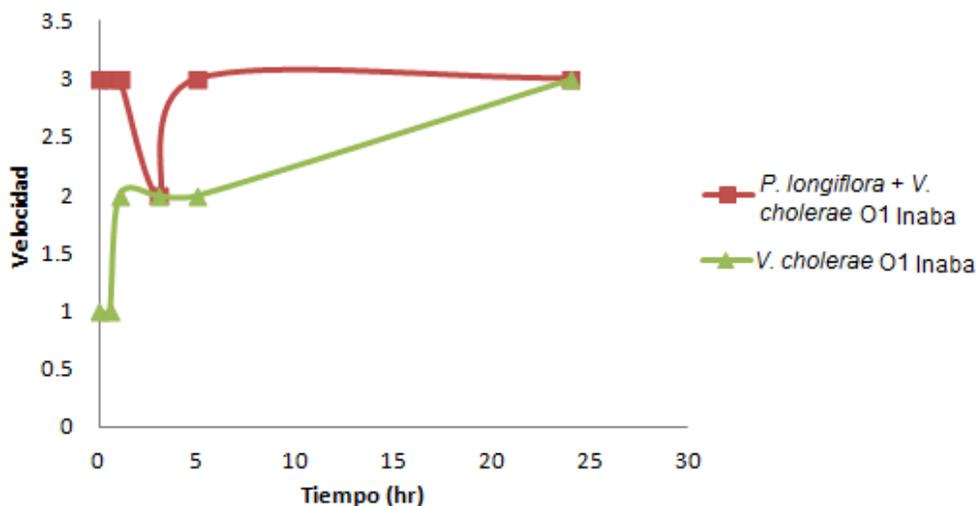


Figura 12. Velocidad de locomoción de *V. cholerae* O1 Inaba. Escala: 0. Sin movimiento, 1. Poco movimiento, 2. Movimiento moderado y 3. Mucho movimiento.

8.3.2. NÚMERO TOTAL DE BACTERIAS

Se observó que el extracto tuvo un efecto al reducir el número total de bacterias con respecto al grupo testigo en la cepa de *V. cholerae* NO O1 (Fig.13).

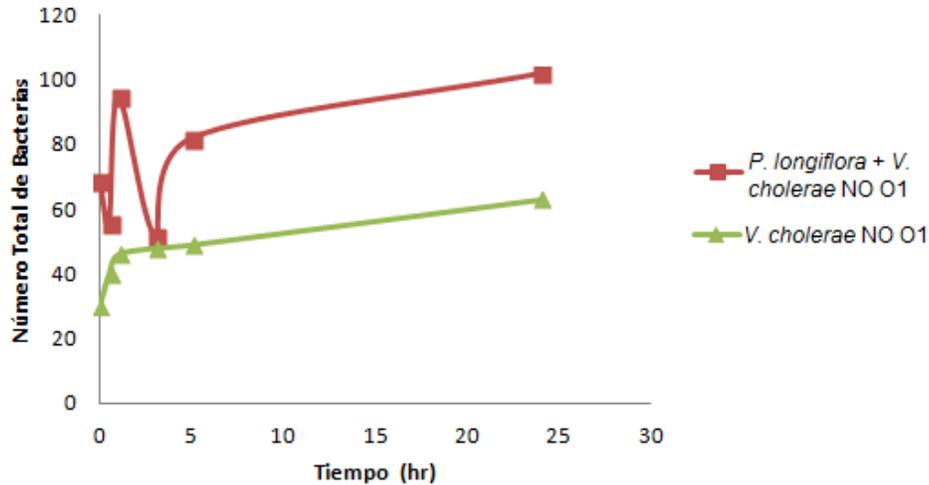


Figura 13. Número total de bacterias de *V. cholerae* NO O1.

En serotipo Ogawa tuvo mayor número de bacterias en el grupo testigo que en el grupo experimental en los seis tiempos (Fig. 14).

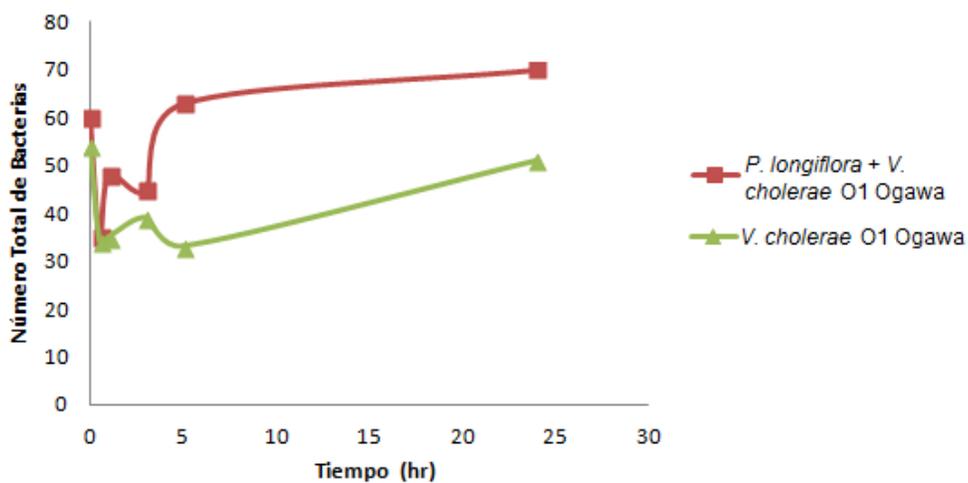


Figura 14. Número total de bacterias de la cepa *V. cholerae* O1 Ogawa.

El extracto redujo el número de bacterias de *V. cholerae* O1 Inaba, durante los primeros tres tiempos, después se vio una recuperación a las 3 y 24 horas, caso contrario a lo que sucedió con el grupo testigo, el cual tuvo un mayor número de bacterias en los primeros tres tiempos y después descendió (Fig. 15).

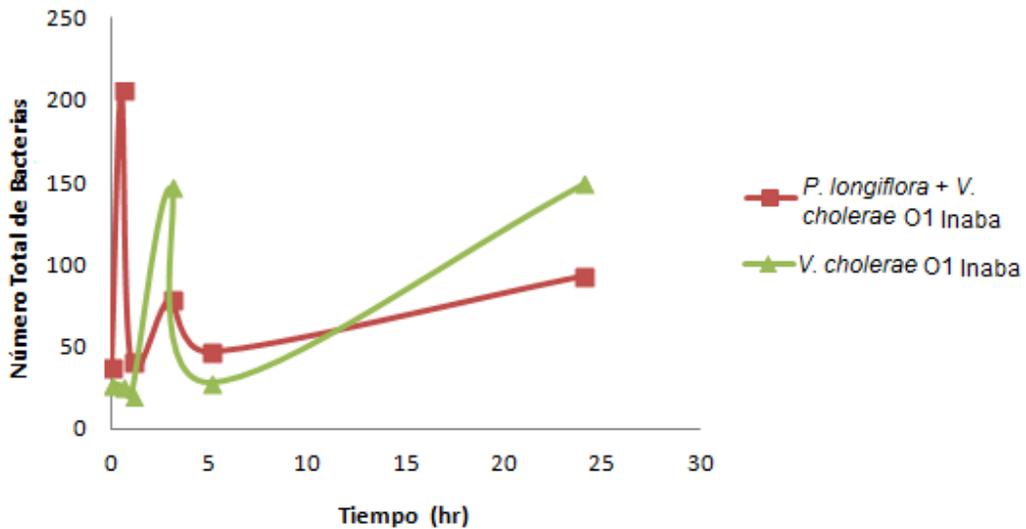


Figura 15. Número total de bacterias de *V. cholerae* O1 Inaba.

8.3.3. PORCENTAJE DE BACTERIAS INMÓVILES

El porcentaje de bacterias sin movimiento en el medio fue mayor en el grupo testigo que en el grupo experimental, para la cepa *V. cholerae* NO O1. Se observó que el extracto tuvo mayor efecto en el grupo experimental a la media hora de estar en contacto las bacterias y el extracto (Fig. 16).

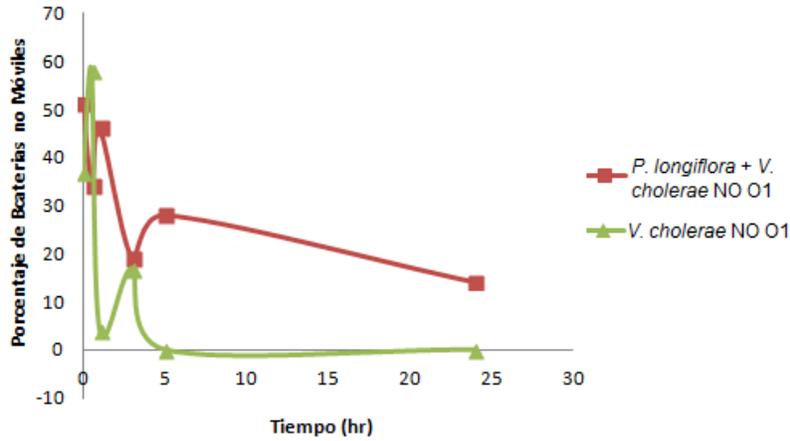


Figura 16. Porcentaje de bacterias no móviles de *V. cholerae* NO O1.

En la cepa de *V. cholerae* O1 Ogawa se presentó un cambio muy abrupto en el grupo testigo, a las tres horas se observó el mayor número de bacterias inmóviles. El grupo experimental, tuvo un aumento de bacterias no móviles, siendo en el tiempo 4 (3 hrs), cuando alcanzó el porcentaje máximo de bacteria inmóviles al igual que el grupo testigo y a las 24 horas de exposición al extracto, el grupo experimental, superó el porcentaje del grupo testigo (Fig. 17).

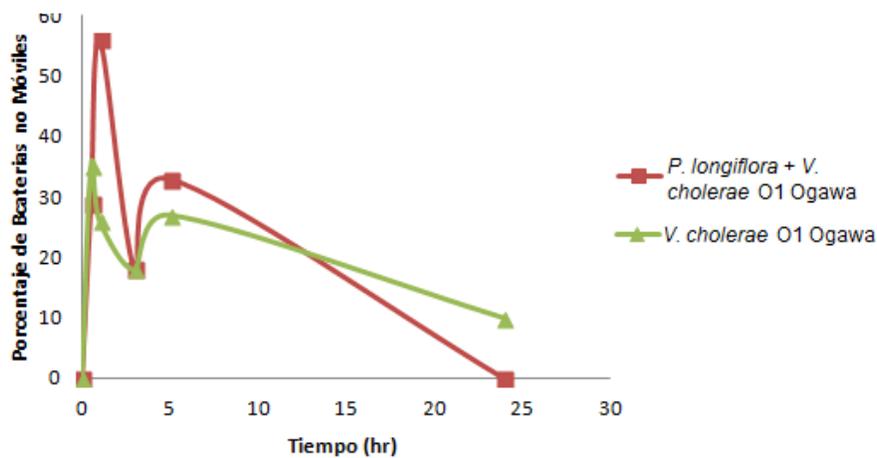


Figura 17. Porcentaje de bacterias no móviles de *V. cholerae* O1 Ogawa.

Las bacterias que estuvieron en contacto con el extracto vegetal, tuvieron un porcentaje menor de bacterias no móviles que el grupo testigo, en la cepa *V. cholerae* O1 Inaba (Fig. 18).

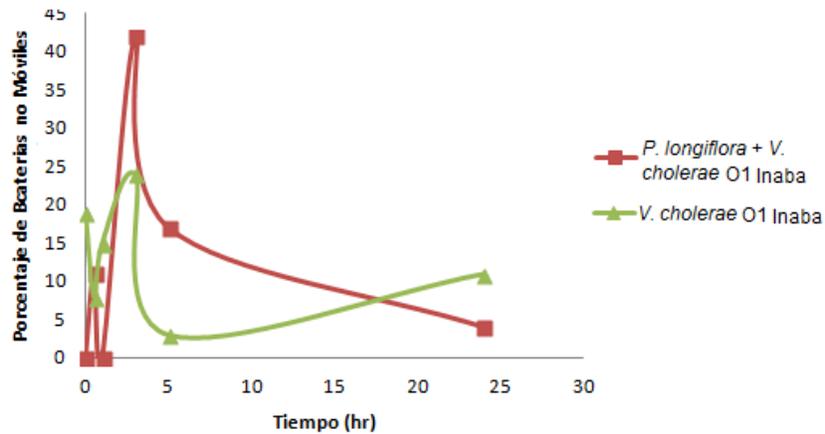


Figura 18. Porcentaje de bacterias no móviles de la cepa *V. cholerae* O1 Inaba.

8.3.4. NÚMERO DE BACTERIAS EN FISIÓN BINARIA

En la cepa de *V. cholerae* NO O1 se observó que el grupo testigo tuvo mayor número de bacterias en división que el grupo experimental (Fig. 19, 20).

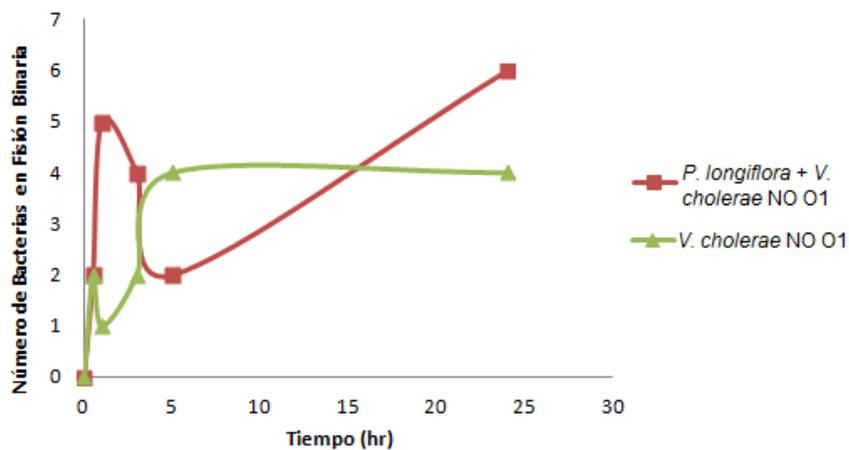


Figura 19. Número de bacterias en fisión binaria de *V. cholerae* NO O1.

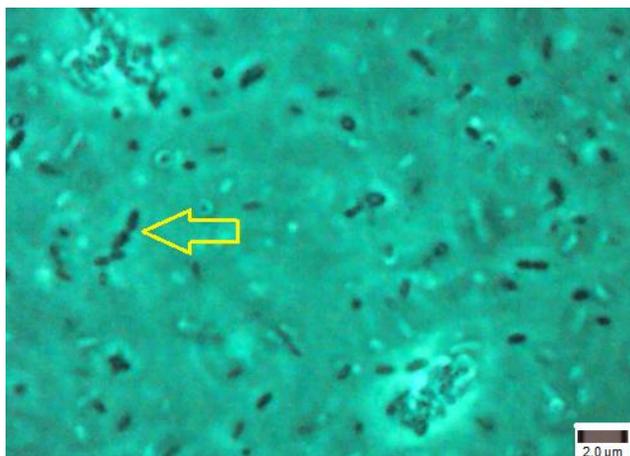


Figura 20. Bacterias en fisión binaria de *V. cholerae* NO O1, del grupo testigo, en el tiempo 5 (24 hrs), a un aumento de 100x.

El grupo testigo de la cepa *V. cholerae* O1 Ogawa tuvo mayor cantidad de bacterias en división, que el grupo experimental, sin embargo, se observó un incremento a la media hora y cinco horas. El grupo testigo tuvo una disminución de bacterias en división a partir de las tres horas (Fig. 21, 22).

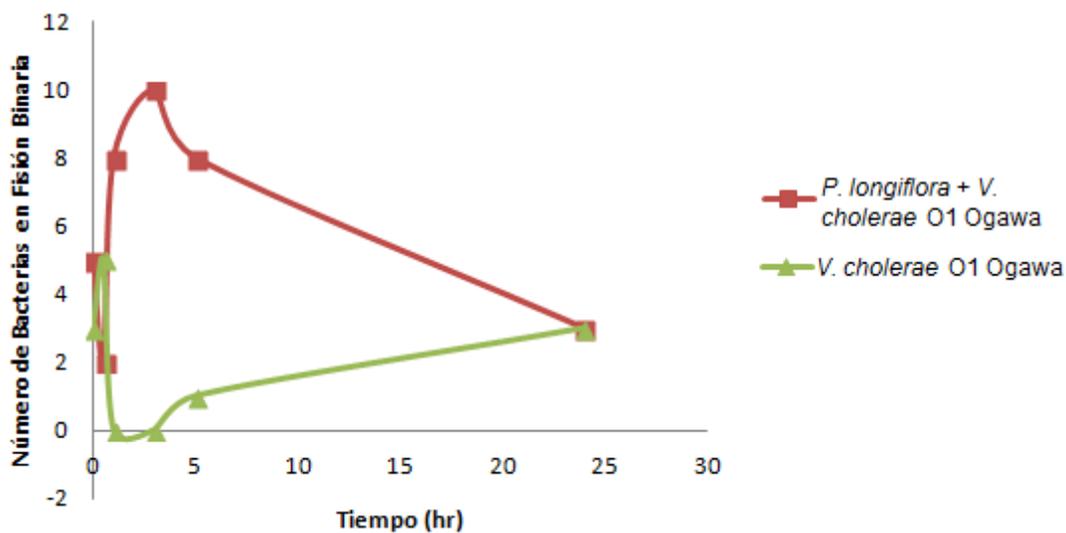


Figura 21. Número de bacterias en fisión binaria de *V. cholerae* O1 Ogawa.

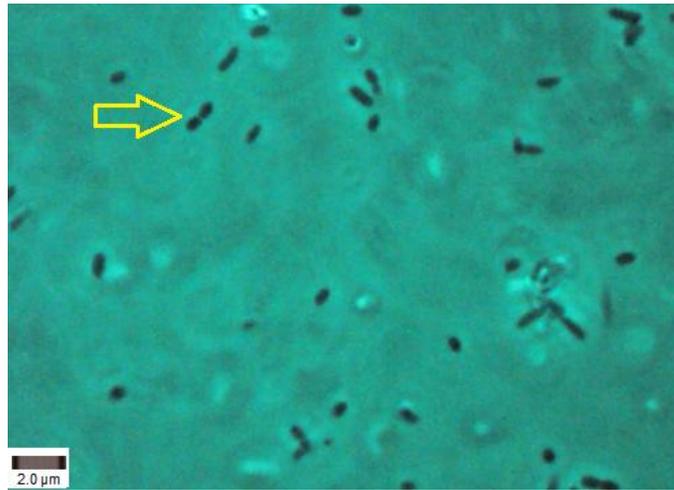


Figura 22. Bacterias en fisión binaria de *V. cholerae* O1 Ogawa, en el tiempo 1 (1 hr.) del grupo testigo, a un aumento de 100x.

En la fisión binaria del serotipo *V. cholerae* O1 Inaba, se observó que el grupo experimental se mantuvo en general con menos divisiones que el grupo testigo hasta las 5 horas, posteriormente se observó que hubo un incremento en el número de bacterias en división superando al grupo testigo (Fig. 23, 24).

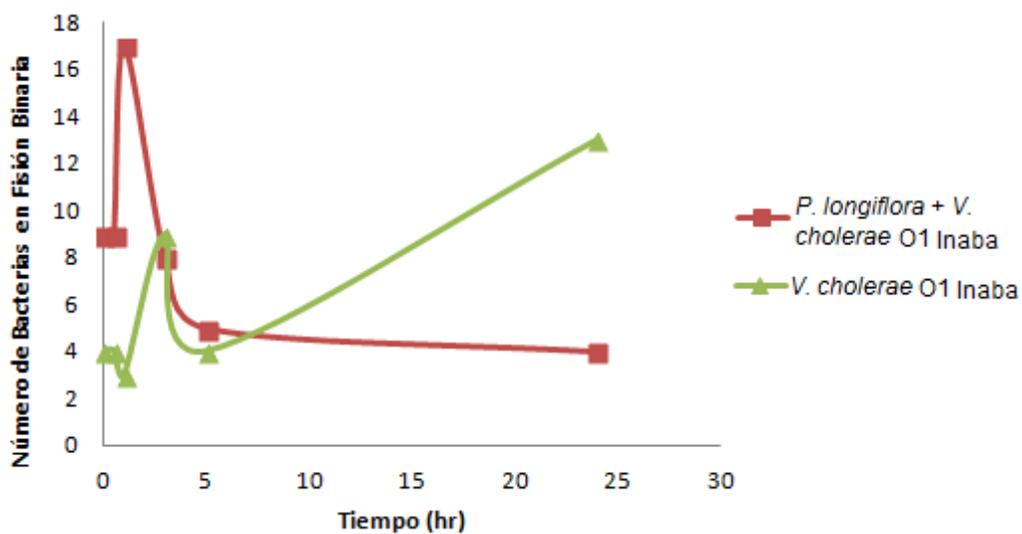


Figura 23. Número de bacterias en fisión binaria de *V. cholerae* O1 Inaba.

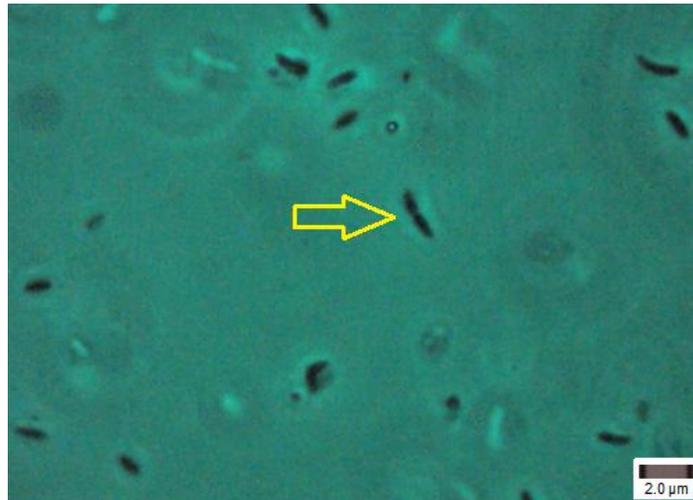


Figura 24. Bacterias en fisión binaria de *V. cholerae* O1 Inaba, en el tiempo cero hrs del grupo experimental, a un aumento de 100x.

8.3.5. TAMAÑO DE LAS BACTERIAS

En las cepas de *V. cholerae* NO O1 y *V. cholerae* O1 Inaba, no hubo diferencias en el tamaño de las bacterias entre el grupo testigo y el grupo experimental (Figura 28, 29, 30), sin embargo la cepa *V. cholerae* O1 Ogawa tuvo un mayor tamaño en el grupo testigo que el grupo experimental (Cuadro 3).

Cuadro 3. Rango del tamaño de las bacterias en μm , tomando el ancho y largo.

	<i>V. cholerae</i>		<i>V. cholerae</i> O1		<i>V. cholerae</i> O1	
	NO O1		Ogawa		Inaba	
Rango	Testigo	Experimental	Testigo	Experimental	Testigo	Experimental
Ancho	0.5-0.7	0.5-0.6	0.6-0.8	0.3-0.5	0.5-0.7	0.5-0.7
	x	x	x	x	x	x
Largo	1.6-2.4	1.6-2.4	1.7-2.5	1.4-2.1	1.5-2.4	1.8-2.4

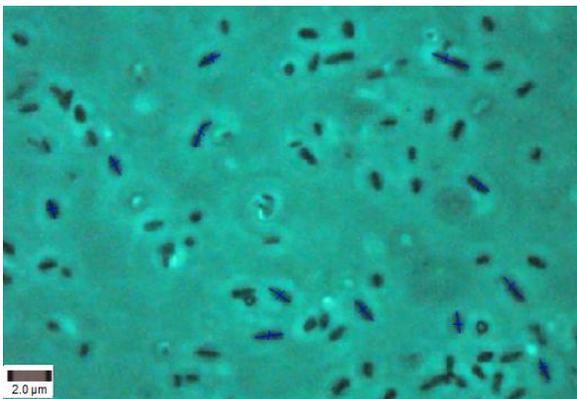


Figura 25. Tamaño de *V. cholerae* NO O1, en el tiempo 2 (1 h) del grupo testigo, a un aumento de 100x.

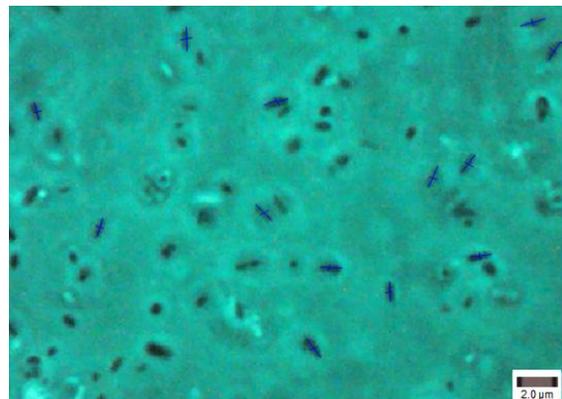


Figura 26. Tamaño de *V. cholerae* NO O1, en el tiempo 2 (1 h) del grupo experimental, a un aumento de 100x.

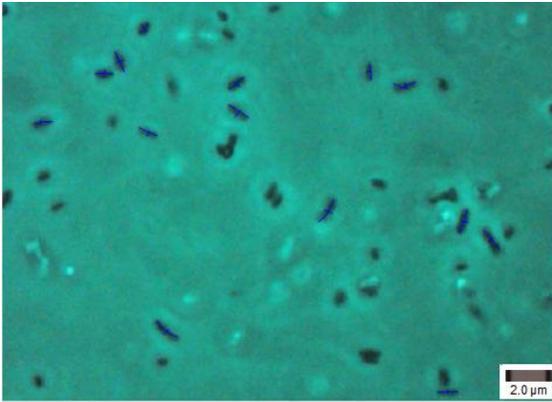


Figura 27. Tamaño de *V. cholerae* O1 Ogawa, en el tiempo 1 (0.5 h) del grupo testigo, a un aumento de 100x.

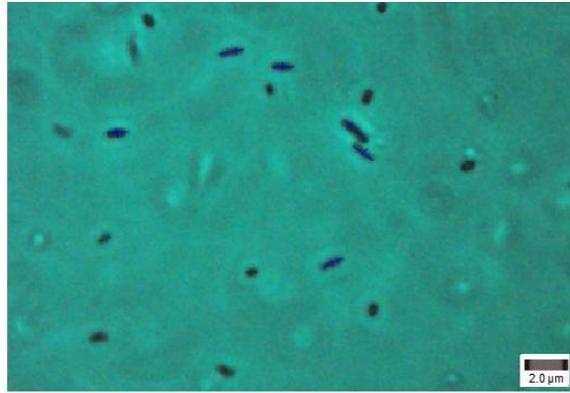


Figura 28. Tamaño de *V. cholerae* O1 Ogawa, en el tiempo 1 (0.5 h) del grupo experimental, a un aumento de 100x.

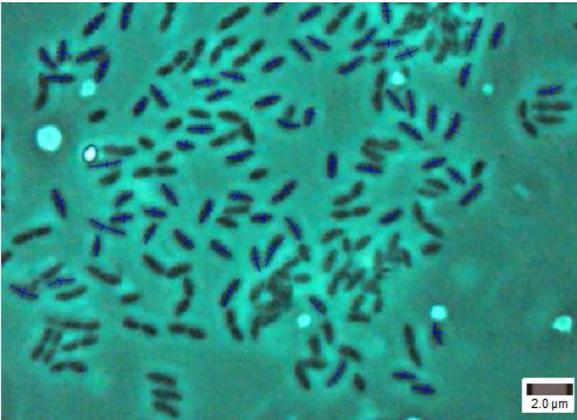


Figura 29. Tamaño de *V. cholerae* O1 Inaba, en el tiempo 0 (0 hrs.), del grupo testigo, a un aumento de 100x.

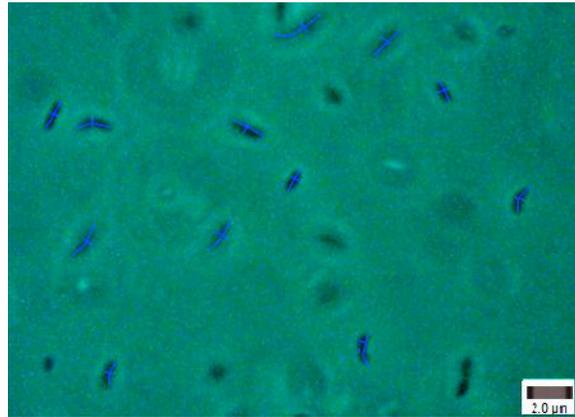


Figura 30. Tamaño de *V. cholerae* O1 Inaba, en el tiempo 0 (0 hrs.), del grupo experimental, a un aumento de 100x.

9. DISCUSIÓN

9.1. MÉTODO DE ESTRÍA

El método de estría permitió conocer si las plantas inhiben el crecimiento de las bacterias a una determinada concentración (3200 µg/mL), al estar en contacto con el extracto. Según Mitscher *et al.* (1972), determinaron que en el grupo experimental, no debe de haber ninguna evidencia de crecimiento bacteriano, para que se considere que el extracto de la planta de estudio inhibe a las bacterias, por lo que se consideró a *V. cholerae* O1 Inaba, como la cepa en la que se presentó mayor inhibición, por parte de las cuatro plantas que tuvieron actividad antibacteriana. Las cepas *V. cholerae* NO O1 y *V. cholerae* O1 Ogawa, fueron inhibidas por tres de las cuatro plantas que tuvieron actividad.

9.2. MÉTODO DE ANTIBIOGRAMAS

Los extractos que presentaron actividad antibacteriana fueron los de *L. graveolens*, *P. americana*, *P. longiflora* y *T. rosea*.

Poliomintha longiflora, inhibió el crecimiento de las tres cepas a partir de diferentes concentraciones, fue la planta que tuvo mayor actividad antibacteriana, su diámetro de inhibición fue mayor de 7 a 30 mm, superando el diámetro del testigo positivo (tetraciclina) por lo que se puede considerar que sus compuestos son más activos que los de la tetraciclina.

El diámetro de las zonas de inhibición, brindan categorías de interpretación para conocer la sensibilidad de las bacterias Gram negativas, ante la tetraciclina, se

considera resistente (R) al diámetro menor o igual a 14 mm, moderadamente sensible (MS) al diámetro de 15 a 18 mm y susceptible (S) al diámetro mayor o igual a 19 mm (Malbrán, 2001). Sin embargo, estas categorías cualitativas del tamaño de las zonas de inhibición, fueron creadas para antibióticos por lo que no se pueden extrapolar a las plantas, al poseer una mezcla de compuestos secundarios en diferentes proporciones.

Es posible que la actividad antibacteriana del extracto de *P. longiflora* pueda ser atribuido a compuestos secundarios como el timol y carvacrol, entre otros compuestos. En un estudio realizado por Garrido (2008), se valuó la actividad antibacteriana de *Poliomintha longiflora*, con *Salmonella thyphimurium*, *Haemophylus influenzae*, *Staphylococcus pneumenidae*, *Escherichia coli* y *Sthaphylococcus aerus* y relacionó la actividad antibacteriana con la presencia de timol y carvacrol, este último fue el más abundante del resto de los componentes y el más activo. El timol y carvacrol son monoterpenos fenólicos conocidos, que se han aislado de algunas especies que se encuentran en la familia Lamiaceae, por lo que esta planta puede tomarse como referencia para realizar diversos estudios. Cristani *et al.* (2007), evaluaron la interacción de cuatro monoterpenos dentro los que se encontraban el carvacrol y timol, contenidos en aceites esenciales con las membranas celulares de bacterias Gram negativas y sus implicaciones en la actividad antibacterial y encontró que el timol y el carvacrol, modulan el fluido de la membrana despolarizándola, lo cual puede ser un efecto que se presentó en las cepas. En los videos que se realizaron se observó que el extracto tuvo en efecto en la membranas de algunas bacterias teniendo una morfología diferente a la del

grupo control, lo que podría impedir que las bacterias se adhirieran al intestino de los humanos para su colonización. A diferencia de la tetraciclina que actúa en las bacterias impidiendo la síntesis de proteínas (Malbrán, 2001), estos mismos monoterpenos se encuentran presentes en *Lippia graveolens*, como se observó en un estudio realizado por Hernández *et al.* (2009), en el cual se determinó la composición química de los aceites esenciales y se encontró que el timol y el carvacrol se encuentran en gran abundancia en esta planta, entre otros compuestos como limoneno, β -cariofileno, r-cimeno, canfor, linalol y α -pineno (Dozal, 2010). La actividad antibacteriana de esta especie, por sus compuestos activos le permitió inhibir el crecimiento de *V. cholerae* Tor y *V. cholerae* aislada de agua contaminada, a una baja concentración (125 $\mu\text{g/mL}$), concluyendo que *L. graveolens* puede ser utilizada para tratar enfermedades gastrointestinales.

Es posible que el carvacrol y timol, presentes en oréganos mexicanos como *L. graveolens* y *P. longiflora* sean lo suficientemente activos para inhibir el crecimiento de las cepas causantes de enfermedades diarreicas (Hernández *et al.* 2009) y del cólera. Las propiedades que poseen los compuestos secundarios de las plantas ofrecen una serie de alternativas para tratar diversas enfermedades que aquejan a la humanidad (Flores, 2013), éstos pueden encontrarse en la flora de Hidalgo basándose en estudios etnobotánicos.

Tabebuia rosea, fue la tercera planta que presentó actividad antibacteriana en las tres cepas, lo que concuerda con un estudio realizados previamente por Franco *et al.* (2012), en el que demostraron su actividad con extractos totales de esta planta,

la cual inhibió el crecimiento de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, causante de enfermedades respiratorias.

La actividad antibacteriana que se observó en *P. americana* al inhibir el crecimiento de las tres cepas concuerda con el trabajo de Ndukwe *et al.* (2005), en el que mencionaron que la actividad del extracto etanólico del *P. americana* contra bacterias Gram negativas como *Salmonella typhimurium*, tiene gran relevancia debido a que en todas las bacterias tiende a presentarse el fenómeno de resistencia a muchos agentes antimicrobianos. Los componentes reportados para esta planta son flavonoides, esteroides, terpenoides que actúan como reactivos en la membrana de las bacterias, llevándolas a la muerte (Cowan, 1999).

9.3. CAPTURA EN VIDEO E IMÁGENES FIJAS

9.3.1. VELOCIDAD DE LAS BACTERIAS

La velocidad de las bacterias que se encontraron en contacto con el extracto disminuyó al menos en los primeros tiempos de exposición, por lo que se puede afirmar que *P. longiflora*, disminuye la velocidad de movimiento de las bacterias, siendo más sensible la cepa de *V. cholerae* O1 Ogawa, que las cepas de *V. cholerae* O1 Inaba y *V. cholerae* NO O1.

Butler y Cooper (2012), señalan que *V. cholerae* puede desplazarse de 5-10 mm en 12 h en una caja Petri con agar, por lo que el extracto de *P. longiflora*, podría disminuir su factor de virulencia y su colonización al impedir que llegue a zonas donde haya una mayor concentración de nutrientes, al ser una bacteria que se

adhiera a superficies epiteliales a través del pili, y dirige su movimiento por quimiotaxis con el flagelo.

9.3.2. NÚMERO TOTAL DE BACTERIAS

El extracto vegetal disminuye el número total de bacterias de la cepa *V. cholerae* NO O1, sin embargo, se observó que hay un aumento en el número de bacterias en el transcurso de las horas, teniendo mayor efecto el extracto a las primeras horas. La cepa *Vibrio cholerae* O1 Ogawa disminuyó su número total de bacterias al estar en contacto con el extracto. La cepa de *V. cholerae* O1 Inaba se vio disminuida en el número total de bacterias en los primeros tres tiempos. Posteriormente se observó un aumento de bacterias en los últimos tres tiempos, posiblemente al generar una resistencia a los componentes del extracto. Las cepas *V. cholerae* NO O1 y *Vibrio cholerae* O1 Ogawa, fueron las que se vieron más afectadas en el número de bacterias por el extracto de *P. longiflora*.

9.3.3. PORCENTAJE DE BACTERIAS NO MÓVILES

En la cepa de *V. cholerae* NO O1 el extracto no impidió la locomoción de las bacterias. El efecto del extracto en el número de bacterias inmóviles en el grupo experimental sólo se presentó a la media hora de exposición, cuando superó el número de bacterias inmóviles en el grupo testigo. En la cepa de *V. cholerae* O1 Ogawa el porcentaje de bacterias inmóviles del grupo experimental fue mayor al del grupo testigo a las 24 horas de exposición al extracto. En la cepa *V. cholerae* O1 Inaba, el grupo experimental, no tuvo un mayor porcentaje de bacterias inmóviles, comparándolo con el grupo testigo, por lo que se puede decir que el

extracto tiene un bajo porcentaje de acción sobre esta cepa. La cepa con el mayor porcentaje de bacterias inmóviles, fue *V. cholerae* O1, por lo que podría ser más sensible a los compuestos activos que tiene el extracto de *P. longiflora*, como el carvacrol y el timol, los cuales podrían estar afectando a la membrana celular.

9.3.4. NÚMERO DE BACTERIAS EN FISIÓN BINARIA

El extracto de *Poliomintha longiflora* disminuyó la fisión binaria de la cepa *V. cholerae* NO O1 y *Vibrio cholerae* O1 Ogawa, de manera general comparándolo con el grupo testigo, el cual tuvo un mayor número de bacterias en división. En la cepa de *V. cholerae* O1 Inaba el extracto disminuyó el número de bacterias en fisión, posteriormente se observó que el efecto el extracto disminuyó a las 24 horas, cuando el número de bacterias en división aumentó considerablemente, se observó una posible resistencia a los compuestos secundarios del extracto vegetal. El extracto de *Poliomintha* disminuyó el número de bacterias en división, al menos en los primeros tiempos de exposición al extracto. El grupo testigo disminuye a su vez el número de bacterias posiblemente por el agotamiento de nutrientes en el medio.

9.3.5. TAMAÑO DE LAS BACTERIAS

El tamaño de las cepas de *Vibrio cholerae* NO O1 y *V. cholerae* O1 Inaba, fue muy semejante entre el grupo testigo y el grupo experimental, estas medidas están entre el rango de tamaño que publicó Brenner *et al.* (2005), que son de 0.5-0.8 μm de ancho y 1.4- 2.6 μm de largo. La cepa *V. cholerae* O1 Ogawa tuvo un tamaño mayor en el grupo testigo que el grupo experimental, el promedio total del ancho

de las bacterias fue incluso menor que el publicado por Brennet *et al.* (2005), por lo que se puede decir que el extracto de *P. longiflora*, tuvo un efecto menor en el tamaño de las bacterias de esta cepa.

El cólera es una enfermedad recurrente, debido a que la bacteria que la ocasiona puede ser aislada del agua, alimentos e incluso de humanos que presentan al vibrión. Entre los estudios realizados por García *et al.* (2006), con extractos de treinta y dos plantas medicinales usadas comúnmente en México, de las cuales solo dos géneros; *Acacia farnesiana* y *Artemisia ludoviciana*, inhibieron el crecimiento de *Vibrio cholerae*, comparándolos con el estudio que se realizó cuatro de las siete plantas experimentales presentaron actividad inhibitoria por los que se puede inferir que los resultados obtenidos en este estudio, son una evidencia que en la flora de Hidalgo existe un potencial para contribuir a resolver la problemática de *V. cholerae*, causante de una enfermedad de interés mundial.

La mayoría de los vibrios son de medio acuático, presentes en aguas marinas y dulces. *Vibrio cholerae* es uno de los más representativos, patógeno de humanos. El cólera, la cual es una de las enfermedades infecciosas más comunes en países en vías de desarrollo y su transmisión es por vía hídrica de agua contaminada (Madigan *et al.*, 2004). Sin embargo, la presencia de *V. cholerae* no está relacionada con la contaminación fecal, el vibrión puede sobrevivir en agua libres de coliformes fecales (Borroto, 1997).

10. CONCLUSIONES

Este estudio sustenta que plantas seleccionadas por estudios etnobotánicos, se pueden emplear para realizar experimentos en laboratorio, con un resultado favorable, ya que cuatro de las siete especies de plantas, tuvieron actividad inhibitoria, por lo que soportan la probabilidad de encontrar especies que poseen un alto potencial de compuestos activos que inhiban a *Vibrio cholerae*.

La planta que presentó mayor actividad inhibitoria para las cepas *Vibrio cholerae* NO O1, *Vibrio cholerae* O1 Ogawa y *Vibrio cholerae* O1 Inaba fue *P. longiflora*, seguido de *L. graveolens*, *T. rosea* y *P. americana*. Las cuales pueden ser usadas para tratar la enfermedad del cólera y enfermedades digestivas, causadas por otras cepas no epidemiológicas.

En los videos e imágenes fijas se observó que *Vibrio cholerae* O1 Ogawa, fue la cepa más sensible al extracto de *P. longiflora*, en la disminución de la velocidad, número total de bacterias y en tamaño.

Los estudios *in vivo* en bacterias fueron una herramienta que permitió analizar a las tres cepas de *V. cholerae*, observar su reacción inmediata evaluando su respuesta al extracto de la planta, así como medir diversos parámetros, posibilitando detectar los efectos directos que tienen sobre estas bacterias.

11. LITERATURA CITADA

Aguay, S. 2012. Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria de la Mezcla de Extractos Fluidos de Jengibre (*Zingiber officinale*), Tomillo (*Thymus vulgaris L.*),

Romero (*Rosmarinus officinalis*) Mediante el Test de Edema Inducido en Ratas (*Rattus norvegicus*). Tesis de Licenciatura en Bioquímica Farmacéutica. Escuela Superior de Chimborazo, Ecuador. 21 pp.

Aguilar, A., Camacho, J., Chino, V., Jáquez, P. y López, M. 1998. Plantas medicinales del Herbario IMSS. Roche. 83-85 pp.

Anaya, A. L. y Cruz, R. 2001. La Alelopatía: Algunos Estudios de Casos y Posibles Aplicaciones. En Anaya, A. L., F Espinosa G. y R. Cruz O. Relaciones Químicas entre organismos: Aspectos Básicos y Perspectivas de su Aplicación. Plaza y Valdés Editores. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F. 63-66 pp.

Background, A. 1996. Antibacterial Drug Resistance. Emerging Infectious Diseases 2: 48-61.

Ballester, A., Sanz, M. y Galan. E. 1999. Homeopatía: Fundamentos científicos. Actualizaciones 6(2):71-78.

Borroto, R, J. 1997. Ecología de *Vibrio cholerae* serogrupo 01 en ambientes acuáticos. Revista Panamericana de Salud Publica 1(1) 3-8.

Brenner, D. J., Krieg, N. R. and Stanley, J. T. 2005. *Bergey's Manual Systematic Bacteriology*. Springer. 2nd Edition. 494 pp.

Butler, M. and Cooper, M. 2012. Screening Strategies to Identify New Antibiotics. *Current Drug Targets*. 13; 373-387.

Callejas, C. 2006. *Flora Medicinal de San Pedro Tutotepec, Hidalgo*. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Autónoma de Estado de Hidalgo. 95 pp.

Cortés, F. 2005. *Bioactividad de Aceites Esenciales de Siete Especies de Plantas Medicinales de Lamiaceae de la Región Centro-Sur de Hidalgo*. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Autónoma de Estado de Hidalgo. 124 pp.

Cowan, M. M. 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12: 564-582.

Cristani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M., Micieli, D., Venuti, V., Bisignano, G., Saija, A. and Trombetta, D. 2007. Interaccion of Four Monoterpenes Contained in Essencial Oils with Model Membranes: Implications for Their Antibacterial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:6300-6308.

Cuyun, O. S. 1996. Efecto Inhibidor del Matilisguate (*Tabebuia rosea*), Sobre el Crecimiento de Microorganismos Cariogenicos, *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, In Vitro. Tesis de Licenciatura en Odontología. Universidad de San Carlos Guatemala. 24-27 pp.

Dozal, M. 2010. Técnica de Análisis de Aceite Esenciales de Orégano por Cromatografía de Gases. Instituto Tecnológico de Durango. 10 pp.

Estrada, E. I. 1989. El Códice Florentino: Su Información Entobotánica. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 399 p.

Estrada, L. E. 1995. El Programa de Plantas Medicinales de la Universidad Autónoma de Chapingo. *En*: Estrada, L. E. (Editor). Lecturas para el Diplomado Internacional Plantas Medicinales de México. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco. 1-27 pp.

Esquivel, B., J. S. Calderón, A. A. Sánchez, T. P. Ramamoorthy, E. A. Flores y Domínguez, R. M. 1996. Recent Advances in Phytochemistry and Biological Activity of Mexican Labiatae. *Revista Latinoamericana de Química* 24 (2): 44-64.

Flores, T. C. 2013. Plantas Medicinales de la Comunidad de Orizabita, Municipio de Ixmiquilpan, Hidalgo. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Autónoma de Estado de Hidalgo. 37 pp.

Francis, J. 1991. *Guazuma ulmifolia* Lam. Guácima. SO-ITF-SM-47. New Orleans, LA: U.S. 5 p.

Franco, L., Castro, J., Ocampo, Y., Pájaro, I. and Castillo, F. 2012. Antiinflammatory, Antioxidant and Antibacterial Activity of Two Species of *Tabebuia* Genus. Universidad de Cartagena de Indias, Colombia. 6 pp.

Gaitán, C. 2005. Actividad de Doce Plantas Nativas Guatemaltecas Contra *Sporothrix schenckii*. Universidad de San Carlos de Guatemala. 22 pp.

Gamazo, C., López, I. y Díaz, R. 2005. Manual práctico de Microbiología. Elsevier Masson. 3ª Edición. 122 pp.

García, S., Alarcón, G., Rodríguez, C. and Heredia, N. 2006. Extracts of *Acacia farnesiana* and *Artemisia ludoviciana* inhibit growth, enterotoxin production and adhesion of *Vibrio cholerae*. World Journal of Microbiology & Biotechnology 22: 669-674.

Garrido, M. 2008. Composición Química, Actividad Antibacteriana de los Aceites Esenciales y Morfología Glandular de tres especies de Lamiaceae.

Tesis de Licenciatura en Química. Universidad Autónoma de Estado de Hidalgo. 56 pp.

Gutiérrez, J., Flores, J., Herrera, E. V. y López, J. G. 2008. Los Medicamentos según la Legislación Mexicana. Elementos 71: 51-55.

Hernández, J., Valero, H. y Gil, R. 2002. Especies Vegetales Medicinales de Uso Frecuente en la Población de Tabay. Revista de la Facultad de Farmacia 44: 54.

Hernández, T., Canales, M., Ávila, J., García, A., Meraz, S., Caballero, J. and R. Lira. 2009. Composition and Antibacterial Activity of Essential Oil of *Lippia graveolens* H.B.K. (Verbenaceae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 8 (4): 295-300.

Herrera, C. M. and Pellmyr, O. 2002. Plant-Animal Interactions. An Evolutionary Approach. Blackwell Science. Oxford. 313 pp.

Huerta, C. 1997. Orégano Mexicano: Oro Vegetal. Biodiversitas 15:8-13 pp.

Ibarra, J., Delgado A. y Alvarado, D. 1999. Vibrios no Epidémicos y *Vibrio cholerae* O1 Asociados a Enfermedad Diarreica Aguda. Evento Climatológico. "El Niño" - 1998. Hospital Nacional Dos de Mayo. Anales de la Facultad de Medicina 60(4): 46-48.

Iwu, M., Duncan, A. and Okunji, C. 1999. New Antimicrobials of Plant Origin. Reprinted from: J. Janick (Ed). Perspectives on New Crops and New Uses, ASHS Press, Alexandria, VA. 457-462 pp.

Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia. Omega. Barcelona. 515 pp.

Kupferschmid, K. 2012. Second Bacterium Theory Stirs Haiti's Cholera Controversy. Science 336:1493.

Madigan, M. T., Martinko, J. M. y Paker, J. 2004. Brock: Biología de los Microorganismos, 10ª edición. Prentice Hall, Madrid. 379 pp.

Malbrán, C. 2001. Manual de Procedimientos para la Determinación de la Sensibilidad de los Antimicrobianos en Bacterias Aisladas en Humanos. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. 6 pp.

Martínez, M. 1990. Las Plantas Medicinales de México. 6ª ed. Ediciones Botas. México, D. F. 656 pp.

Martínez, M. A., Evangelista, V., Mendoza, M., Morales, G., Toledo, G. y Wong, A. 1995. Catálogo de Plantas Útiles de la Sierra Norte de Puebla. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 303 pp.

Mckey, D. 1979. The Distribution of Secondary Compounds within Plants. *In*: Rosenthal, G. A. y D. H. Janzen. Herbivores. Their Interaction with Secondary Plant Metabolites. Academic Press. New York. 55-134 pp.

Mitscher, L., Leu, R., Bathala, M., Wu, W. and Beal, J. 1972. Antimicrobial Agents from Higher Plants. I. Introduction, Rationale, and Methodology. *Lloydia*. 35 (2):157-165.

Morales, G. G. y Toledo, O. 1987. Contribución al Estudio de la Flora Medicinal y Medicina Tradicional del Municipio de Coxquihui, Ver. Tesis profesional. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 394 pp.

Morataya, M. 2006. Caracterización Farmacopéica de cuatro plantas aromáticas nativas de Guatemala: Albahaca de monte (*Ocimum micranthum*), Orégano (*Lippia graveolens*), Salvia sija (*Lippia alba*) y Salviyá (*Lippia chiapasensis*). Tesis profesional. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 10 pp.

Norma Oficial Mexicana NOM-016-SSA2-2012, Para la vigilancia, prevención, control, manejo y tratamiento del cólera.

Nudwe, K. C., Okeke I. N, Lamikanra, A., Adesina, S. K. and Aboderin, O. 2005. Antibacterial Activity of Aqueous Extracts of Selected Chewing Sticks. *Journal of Contemporary Dental Practice* 6(3):86-94.

Osuna, L. y Tapia E. 2005. Plantas Medicinales de la Medicina Tradicional Mexicana para Tratar Afecciones Gastrointestinales Estudio Etnobotánico, Fitoquímico y Farmacológico. Universidad de Barcelona. 108-109 pp.

Organización Mundial de la Salud. 2013. Temas de Salud: Medicina Tradicional. OMS.

Organización Panamericana de la Salud, 2006. Número de Casos de Cólera en las Américas 1990-2006.

Pennington, T. D. y Sarukhan, J. 2005. Árboles Tropicales de México. 3ª edición. INIF, ONU. México, Xalapa, Ver. 43 pp.

Proyecto de Ley. 2001. Subdepartamento de Registro Colombia. *En:* <http://www.ifarma.org/foro/wp-content/uploads/2009/07/Leymed.pdf> Consultado el 2 de abril de 2013.

Ríos, J. y Recio, M. 2005. Medicinal Plants and Antimicrobial Activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 80-84 pp.

Rueda, S. A., Benavides S., Rubio C., Sáenz R., Prieto R. y Molina C. 2011. Evaluación de plantaciones forestales Comerciales de *Tabebuia rosea* en el estado de Jalisco. Folleto Técnico Núm. 12. Campo Experimental Centro-Altos de Jalisco. CIRPAC-INIFAP. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. 63 pp.

Sánchez, B. 2011. Cólera: Aspectos Epidemiológicos y Clínicos Más Relevantes. Servicios del Sector Salud Hidalgo. Hospital del Niño DIF Hidalgo. 35-37 pp.

Sánchez, V. E. 1990. Flora de Veracruz. Fascículo 62. Familia Myrtaceae. Instituto de Ecología, A. C. Xalapa, Veracruz. 142 pp.

Saurabh, A., Amarendra, P. and Prasanta, K. 2009. Evaluation of the Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants against Enteric Bacteria with Particular Reference to Multi-Drug Resistant *Vibrio cholerae*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 8(3):231-237.

Schultes, R. E. y Hofmann, A. 1993. Plantas de los Dioses. Origen del Uso de Alucinógenos. Fondo de Cultura Económica. México. D. F. 192 pp.

Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. 2012. Casos de cólera en México.

Soto, N. J. y Sousa, M. 1995. Plantas Medicinales de la Cuenca del Río Balsas. Cuadernos del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 198 pp.

Standley, P. C. 1982. Trees and Shrubs of Mexico. U. S. National Museum Contribution. 23: 1721 pp.

Toda, M., Okubo, S., Hiyoshi, R. and Shimamura, T. 1989. Antibacterial and Bactericidal Activities of Japanese Green Tea. Journal of Bacteriology 44(4):669-672.

Villalobos, H. M. 2001. ¿Por qué la Medicina Alopática no es una Medicina Tradicional?. Revista Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México 44(1):2- 4.

Villatoro, R. A., Luna, L., González, y Esquinca, A. R. 2006. El Cualote, Recurso Herbolario de Chiapas. Ciencias. 20 pp.

Villavicencio, N. M. A. y Pérez, B. E. 1995. Plantas Útiles del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado De Hidalgo. Pachuca. 125 pp.

World Health Organization. 2010. Weekly Epidemiological Record 85: 293-308.

12. ANEXO: FICHAS DE PLANTAS MEDICINALES.

***Guazuma ulmifolia* Lam.**

Nombre común: Guázima

Familia: Sterculiaceae



Figura 31. *Guazuma ulmifolia*.

Descripción botánica: Árbol caducifolio de hasta 20 m de altura; hojas alternas, simples con pecíolo corto, ovadas, oblongo-lanceoladas a lanceoladas, margen aserrado; flores en panículas, aromáticas; pétalos de color crema, 3-5 mm de largo; ovario súpero; fruto es un cápsula muricada verde a carnososa cuando tierna pero negra cuando madura, de 2 a 4 cm de largo (Francis, 1991).

Usos: Es empleado como alimento para ganado, para fabricar artesanías, se usa la madera para fabricar violines y tapas de guitarra. Su uso comestible, se elaboran dulces y bebidas, con el fruto.

Posee propiedades medicinales como astringente, emoliente, refrigerante, sudorífica, antiulcerogénica, antioxidante, depurativa, citotóxica, pectoral, antifúngica, antiamebiana, antibacteriana e hipocolesterolémica (Villatoro *et al.*, 2006).

***Lippia graveolens* HBK.**

Nombre común: orégano.

Familia: Verbenaceae.



Figura 32. *Lippia graveolens*.

Descripción botánica: Arbusto delgado de hasta 2 m de alto, ramas con pubescencia corto-pilosa; hojas en pecíolos de 5-10 mm de largo, las láminas oblongas, elípticas a ovalado-oblongas, de 2-4 cm de largo, usualmente obtusas o

redondeadas en el ápice, algunas veces agudas, redondeadas o subcordadas en la base, densamente pilosas en el haz, suaves al tacto, glandular y densamente pilosas en el envés, el borde crenado; 2-6 inflorescencias en la axila de la hoja, 4-12 mm de longitud. Flores en espigas subglobosas a oblongas de 4-12 mm de largo, ovado a lanceoladas, glandulares y densamente pilosas; cáliz de 1-2 mm de largo, glandular y veloso; corola blanca, el tubo estrigoso de 3-6 mm de largo; frutos parciales dos, pequeños, secos, envueltos por el cáliz persistente, separables fácilmente en la madurez, de paredes papiráceas o sebáceas (Morataya, 2006).

Usos: Su uso medicinal para tratar anemia, afecciones gastrointestinales como amebiasis, cólico, diarrea, disentería, dispepsia, estreñimiento e indigestión, afecciones respiratorias como asma, bronquitis, catarro, influenza, laringitis, pleuresía, resfrío, tos, tuberculosis. Otros usos en la ictericia, amenorrea, dismenorrea y reumatismo. Las hojas en decocción, para la cicatrización de heridas, llagas e inflamaciones y aliviar prurito. Planta fresca macerada en aceite para dolores reumáticos (Gaitán, 2005).

La hoja del orégano se emplea principalmente como condimento alimenticio en la preparación de alimentos frescos como son platillos típicos (pozole, menudo, barbacoa, etc.) estofados de carnes, pizzas, etc. En alimentos enlatados se utiliza en productos como el salmón, atún, sardinas, etc. Se añade industrialmente a salsas, aderezos, aceitunas, encurtidos, frijoles envasados, entre otros (Huerta, 1997).

***Persea americana* Mill.**

Familia: Laureceae.

Nombre común: Aguacate.



Figura 33. *Persea americana*.

Descripción botánica: Árbol hasta 20 m de altura; hojas ovales a elípticas de 10 a 30 cm de longitud, 3.5 a 20 cm de ancho, agudas u obtusas, abundantemente pubescentes cuando están jóvenes; perianto deciduo, de 5.5 a 7 mm de longitud; flores verdosas, pedicelos de 1 a 6 mm de longitud, se presentan en panículas axilares de hasta 10 cm de longitud; fruto oval o piriforme, hasta de 18 cm de largo, lisos, con pulpa aceitosa espesa; (Pennington y Sarukhán, 2005).

Usos: Las hojas se preparan en té y se toma tres veces al día para el empacho y el dolor de estómago. Esta misma infusión puede ser ingerida para normalizar la regla. Las hojas de aguacate con chocolate se beben para agilizar el parto (Callejas, 2006).

En Puebla se ocupa para expulsar los gusanos intestinales, para esto se hierve la cascarita de la semilla y se dan a tomar tres tazas al día hasta ser expulsadas totalmente. En caso de tener cólico se toma un cocimiento preparado con dos hojas en un litro de agua y se bebe una taza cuando se presenta malestar. También se usa para el dolor de cabeza, caída de cabello, caspa, neuralgias y sofocamiento (Martínez et al., 1995). En Veracruz se utiliza para la diarrea, disentería, empacho, vómito, parto, mal aire, susto (Morales y Toledo, 1987). Para catarro crónico y contra la sarna (Martínez, 1990).

***Poliomintha longiflora* A. Gray.**

Familia: Lamiaceae.

Nombre común: Orégano, Orégano Indio y Orégano del Norte



Figura 34. *Poliomintha longiflora*.

Descripción botánica: Arbusto de aproximadamente 30 cm de alto; hojas opuestas, de 5 a 10 mm de largo enteras, ovales, redondeadas u obtusas en el

ápice, canecentes tomentulosas en el envés, con pelos simples, el haz verde corola de 2.5 a 3.5 de largo, con un gran número de glándulas aromáticas; flores rojas o rosas a moradas (Standley, 1982); el cáliz tubular simétrico; el tubo de la corola igual o más largo que el cáliz.

Usos: en medicina tradicional, para tratar afecciones digestivas y respiratorias en el estado de Hidalgo. Su uso comestible, como un condimento en recetas tradicionales (Cortés, 2005)

***Psidium guajava* L.**

Familia: Myrtaceae.

Nombres comunes: Guayaba.



Figura 35. *Psidium guajava*.

Descripción botánica: Arbustos o árboles pequeños hasta de 10 m de altura; corteza lisa, pardo-rojiza; hojas simples, opuestas, elípticas u oblongas de 6-14 cm de largo y 3-6 cm de ancho; flores solitarias u ocasionalmente en dicasio; pétalos 4-5, blancos; fruto una baya, globosa a piriforme u ovada, de 2-6 cm de largo, 3-8

cm de diámetro, de verde a amarilla o amarilla-rosada al madurar, coronada en el ápice con los lóbulos del cáliz (Sánchez, 1990).

Usos: La corteza y las hojas son usadas a manera de infusión para la disentería. El cocimiento de cinco hojas frescas se toma para la diarrea y el dolor de estómago; éste también se puede utilizar cuando hay mal de boca aplicando fomentos en la parte afectada. El fruto se come en ayunas para las combatir gusanos intestinales (Callejas, 2006).

En Veracruz esta planta se emplea para el sofocamiento, pujos y granos (Morales y Toledo, 1987). En Hidalgo las hojas se hierven y la infusión se bebe una o varias veces al día para combatir la diarrea (Villavicencio y Pérez, 1995). El fruto se usa para la diarrea (Estrada, 1989). El cocimiento de la corteza quita las hinchazones de las piernas y cura las llagas fistulosas (Martínez, 1990).

Es utilizada como antidiarréica, antidisentérica, antihelmíntica, así como también antiamebiana. Las hojas, retoños, frutos además de la corteza y el pericarpio del fruto son las partes más utilizadas (Osuna y Tapia, 2005).

***Tabebuia rosea* (Bertol.) DC.**

Familia: Bignoniaceae.

Nombre común: Amapola, maculís, palo de rosa, rosa morada, Macuilis (Tabasco), roble, roble blanco (Oaxaca), amapola (Sinaloa).



Figura 36. *Tabebuia rosea*.

Descripción Botánica: Árbol caducifolio, de 15-25 m (hasta 30 m) de altura, con un diámetro a la altura del pecho de hasta 1 m; tronco derecho, a veces ligeramente acanalado, de color café grisáceo oscuro a amarillento; hojas decusadas, digitado compuestas, de 10-35 cm de largo, incluyendo el pecíolo; folíolos 5, los dos inferiores más pequeños, el terminal más grande, lanceolados o elípticos, con el margen entero; flores en panículas, de hasta de 15 cm de largo, escamosas; cáliz blanco verdoso, tubular, de 2-2.5 cm de largo; corola de 7-10 cm de largo, tubular en la base y expandida en la parte superior en un limbo bilabiado; tubo de la corola de color blanco; lóbulos color lila a rosado pálido o púrpura rojizo; frutos en cápsulas estrechas de 2.2-3.8 cm de largo por 0.9-1.5 cm de ancho, lisas, con dos suturas laterales, péndulas, pardo oscuras, cubiertas por numerosas escamas, con el cáliz persistente (Rueda *et al.*, 2011).

Usos: En medicina tradicional se usa la corteza, en infusión o decocción y en forma de gargarismos se usa en las afecciones de la garganta, también se utiliza en esta misma forma como astringente y en estados febriles. En las encías, para fortalecerlas, masticar lentamente una hoja fresca (Cuyun, 1996).

***Zingiber officinale* Roscoe.**

Familia: Zingiberaceae.

Nombre común: Jengibre.



Figura 37. *Zingiber officinale*.

Descripción botánica: Planta perenne, con una altura entre 60-120 cm; rizoma tuberoso y grueso; hojas lanceoladas de 15-30 cm de longitud; flores verdosas con manchas púrpuras dispuestas en espigas radicales de hasta 7 cm de largo, con pedúnculos de 30 cm de largo. Algunos tallos son estériles y no presentan flores. El fruto es de forma capsular aunque rara vez el jengibre fructifica (Aguay, 2012).

Usos: Analgésico, anestésico, antiséptico, como aromatizante, para problemas digestivos, antiespasmódicos y para tratar el asma (Hernández *et al.*, 2002)