

892
Pag 69

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

**EFFECTO TOXICO DE ALGUNAS PLANTAS MEDICINALES
SOBRE LOS TROFOZOITOS DE
*Entamoeba histolytica***

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR

MYRA ELIZABETH CUSTODIO CRUZ

PARA OPTAR AL TITULO DE

QUIMICO BILOGO

GUATEMALA, SEPTIEMBRE 1998

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

06
7(1890)

c.4

JUNTA DIRECTIVA

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

DECANA	LICDA. HADA MARIETA ALVARADO BETETA
SECRETARIO	LIC. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	DR. OSCAR MANUEL COBAR PINTO
VOCAL II	DR. RUBEN DARIEL VELASQUEZ MIRANDA
VOCAL III	LIC. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	BR. HERBERTH RAUL AREVALO ALVARADO
VOCAL V	BR. MANOLA ANLEU FORTUNY

DEDICO ESTA TESIS

- A DIOS Por su mano poderosa que nunca me abandonó.
- A MIS PADRES Sergio Alfredo y María Luisa por su guía, apoyo, cariño y dedicación a lo largo de toda mi vida.
- A MIS HERMANOS Aldo y Andrés por su cariño.
- A MIS TIOS Judith, Mario, Alicia y Victor por interés en mi bienestar.
- A MIS ABUELITAS Máxima y Hilda por su ternura y su palabra de aliento siempre.
- A MI NOVIO Marco Tulio, por su amor, comprensión y apoyo incondicional.
- A MIS AMIGAS Anna, Karla y Cecilia por su compañía y fortaleza brindada en toda la trayectoria de nuestra carrera.

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento a las personas e instituciones que hicieron posible la realización de este trabajo.

Lic. María Beatriz López

Lic. Armando Cáceres

Dra. María de Lourdes Muñoz

Lic. Miguel Moreno

Lic. Patricia García

Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV) del Instituto Politécnico Nacional (IPN), México D.F.

Departamento de Citohistología e Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC.

INDICE

	No. pág.
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	2
III. ANTECEDENTES	4
A. Historia	4
B. Morfología y fisiología	4
C. Ciclo vital	6
D. Epidemiología, prevención y control	7
E. Anatomía patológica	9
F. Sintomatología	10
G. Diagnóstico	11
H. Tratamiento de la amebiasis	18
I. Productos naturales para el tratamiento de la amebiasis	20
IV. JUSTIFICACION	38
V. OBJETIVOS	39
VI. HIPOTESIS	40
VII. MATERIALES Y METODOS	41
1. Diseño estadístico	43
VIII. RESULTADOS	49
IX. DISCUSION DE RESULTADOS	53
X. CONCLUSIONES	55
XI. RECOMENDACIONES	56
XII. BIBLIOGRAFIA	57
XIII. ANEXOS	65

I. RESUMEN

En este trabajo de investigación se estableció un modelo experimental adecuado para demostrar la actividad amebicida *in vitro* de plantas usadas en el tratamiento de diarreas; se realizaron ensayos *in vitro* con 10 extractos de 5 plantas nativas de Guatemala para observar el efecto que tienen sobre la viabilidad de los trofozoítos de *Entamoeba histolytica*. Para ello se requirió el uso de 3 métodos para cuantificar la viabilidad de los trofozoítos. Dos métodos que consisten en el conteo de trofozoítos vivos posterior a una incubación a 37°C por 24 h con el extracto de cada planta en tubos Eppendorf y placas de 96 pozos. El tercer método consiste en la cuantificación espectrofotométrica utilizando sal de tetrazolio. Se realizaron 7 ensayos en triplicado utilizando 3 concentraciones de cada extracto 1, 0.5 y 0.250 mg/ml enfrentados a 3×10^4 trofozoítos de *E. histolytica*.

En todos los ensayos realizados se obtuvo un 100 por ciento de actividad amebicida (resultado positivo) con el extracto de la planta *Solanum americanum*, los demás extractos de plantas variaron significativamente de un 0 a 20% de actividad amebicida en cada ensayo, lo que los convirtió en un resultado negativo.

Se encontró que el extracto acuoso de la planta *Solanum americanum* tiene actividad sobre la viabilidad de los trofozoítos. Se concluye que los ensayos realizados son reproducibles y de gran utilidad para la evaluación de extractos vegetales; se recomienda seguir realizando más ensayos para elucidar la molécula activa de *S. americanum* y además seguir investigando otras plantas que tengan efectos similares contra los trofozoítos de *E. histolytica* para poder, así, descubrir un posible compuesto con efecto antiamebiano que ofrezca una opción en el tratamiento del parásito.

II. INTRODUCCION

La amebiasis es una parasitosis del ser humano causada por *Entamoeba histolytica*; se manifiesta a nivel intestinal y extraintestinal, es invasiva y recurrente, y es endémica con algunas variaciones estacionales semejantes a las que tienen otras infecciones entéricas, sin que se pueda hablar en ningún momento de brotes epidémicos. Se reconoce que los manipuladores de alimentos, tanto como los portadores sanos, son los medios más comunes de transmisión de la enfermedad. *E. histolytica* ocupa el primer lugar entre los protozoos entéricos que atacan al hombre. Conservadoramente, se sabe que el 25 por ciento de la población mundial se encuentra infectada por el parásito, equivalente a 650 millones de seres humanos que la padecen (1).

Esta enfermedad es un problema de salud en todo el mundo. En la actualidad, el tratamiento de la enfermedad es a base de compuestos químicos que son relativamente tóxicos y algunos de ellos cancerígenos (2). Aún más, en algunos casos se ha detectado que el hospedero presenta resistencia al tratamiento. A causa de ello, se han tratado de encontrar nuevos compuestos que posean un efecto tóxico para el parásito, pero sin mayores efectos para el hospedero. Tomando en cuenta que los medicamentos que en la actualidad ofrecen las casas farmacéuticas no están al alcance de la mayoría de la población es necesario realizar investigaciones exhaustivas, con el propósito de descubrir drogas de bajo costo y accesibles para la población más vulnerable. Desde esta perspectiva, un paso inicial consiste en el estudio de plantas medicinales que posean

efectos amebicidas. A partir de una base de datos obtenida de la revisión etnobotánica nacional para el establecimiento de plantas de uso medicinal en el tratamiento de afecciones parasitarias realizada por el Centro Mesoamericano de Estudios sobre Tecnología Apropriada (CEMAT) y el Laboratorio y Droguería de Productos Fitofarmacéuticos Farmaya, se hizo una selección de plantas con base a la mayor frecuencia de uso en enfermedades atribuibles a protozoarios y de éstas se escogieron las plantas más populares. (ver Tabla No.1) En este estudio se estableció un bioensayo para determinar cuál o cuáles de los extractos de estas plantas ofrecen mayores ventajas para el tratamiento y cuál es el más efectivo; y así seleccionar aquéllos que tengan un efecto tóxico significativo sobre la viabilidad de los trofozoítos.

Para determinar la efectividad de los extractos, se realizaron 7 bioensayos *in vitro* cuantificando la viabilidad de los trofozoítos por 3 diferentes métodos descritos en el Resumen. Con esto se estableció que el extracto de *Solanum americanum* tiene un efecto tóxico estadísticamente significativo sobre el parásito.

III. ANTECEDENTES

A. Historia

La *Entamoeba histolytica* es un protozoo perteneciente a la familia *Endamoebidae*, orden *Amebida*, clase *Lobosea*, phylum *Sarcomastigophora* (1). Fue descubierta en 1875 por Lösch en las heces de un ruso con disentería grave, quien produjo experimentalmente las lesiones intestinales en un perro, sin embargo, la relación entre el parásito y la disentería sólo quedó demostrada en las investigaciones de Kartulis en 1867 (2). En 1901, Councilman y Lafleur publicaron un estudio de la anatomía patológica de disentería amebiana y absceso hepático. Schaudinn diferenció *Entamoeba coli* de *E. histolytica*, administrando quistes de la ameba a voluntarios, poniendo así la base del concepto actual de la relación hopero-parásito en cuanto a la infección clínica (3).

B. Morfología y fisiología

En las heces se puede encontrar *E. histolytica* en forma de trofozoito, prequiste y quiste. El trofozoito o forma vegetativa activa de *E. histolytica* se reconoce de las demás amebas del intestino por características morfológicas de gran importancia diagnóstica. El ectoplasma es hialino, ancho, transparente y claramente separado del endoplasma y representa más o menos la tercera parte del parásito y emite un pseudópodo delgado parecido a un dedo (2). El endoplasma de gránulos finos, generalmente contiene glóbulos rojos en varias etapas de desintegración, pero no contienen bacterias ni partículas extrañas. El núcleo es excéntrico y puede a veces reconocerse en la ameba sin teñir como un anillo

granuloso y fino. (Anexo1) La tinción con hematoxilina muestra una membrana nuclear muy clara, cuya superficie está cubierta de gránulos de cromatina uniformes, pequeños en contacto íntimo. El cariosoma pequeño toma bien los colorantes y se encuentra en el centro del núcleo, éste está formado por varios gránulos encerrados en una cápsula, de donde nace una red de fibrillas que se dirige a la periferia del núcleo. Los trofozoitos en degeneración se mueven lentamente, el límite entre endo y ectoplasma se va perdiendo, el citoplasma es más granuloso y el núcleo se observa mejor (3).

Los trofozoitos poseen movimiento unidireccional observados en preparaciones en fresco de heces líquidas (2). Las amebas prequisticas son células incoloras, redondas u ovals, más pequeñas que el trofozoito pero mayores que el quiste. Carecen de inclusiones alimenticias y los pseudópodos se forman lentamente por lo que el parásito no se desplaza (4).

Los quistes son redondos u ovals, ligeramente asimétricos, hialinos, con pared lisa y refringente que no se tiñe. El citoplasma de los quistes jóvenes contienen vacuolas con glucógeno y cuerpos alargados oscuros, muy refringentes, de extremos redondeados. Estos cuerpos cromatoides, que al parecer contienen fosfatos y ácido desoxirribonucleico, tienden a desaparecer cuando el quiste madura. Ambos tipos de inclusiones citoplásmicas parecen representar reservas de alimento (5).

El trofozoito vive en la pared y en la luz del colon, especialmente el ciego y el recto sigmoide. Se multiplica por fisión binaria y la división del núcleo corresponde a una mitosis modificada. También puede haber reproducción por formación de quiste, la ameba

metaquística, la cual al salir del quiste, produce 8 amébulas. El enquistamiento es esencial para la transmisión, pues sólo tiene poder infectante el quiste maduro (3).

E. histolytica se desarrolla mejor en un ambiente anaeróbico y con tensión de oxígeno reducida. Sintetiza compuestos protoplásmicos para producir sustancias nutritivas mediante varias enzimas, como la fosfatasa alcalina. Produce glutaminasa que es activada por el fosfato pero no por el cloruro; en cambio, no produce colagenasa *in vitro*. (1) El parásito puede utilizar la dextrosa extracelular. En los cultivos ha podido demostrarse cierta actividad amilolítica (3). Los productos de desecho en forma soluble o en gránulos se eliminan por vacuolas excretorias superficiales; las partículas no digeridas se excretan por protuberancias del ectoplasma (4).

La ameba absorbe sus alimentos de los tejidos disueltos por sus enzimas citolíticas e ingiere glóbulos rojos, hemoglobina, sustancias parcialmente sintetizadas por el hospedero y fragmentos de tejido, todo ello por inclusión de un pseudópodo. Puede ingerir bacterias y fragmentos de materias fecales del intestino. Los adelantos en los métodos de cultivo han permitido estudiar mejor las características biológicas, las necesidades nutritivas, viabilidad y patogenia del parásito. Como regla, los medios complejos enriquecidos suministran los mejores cultivos. El desarrollo óptimo tiene lugar a 37°C a pH 7, en condiciones anaeróbicas (1).

C. Ciclo vital

El ciclo vital de *E. histolytica* es relativamente sencillo. Los quistes infectivos resistentes que se forman en la luz del intestino grueso son expulsados con las heces y

después de cierto tiempo son ingeridos por un nuevo hospedero. En la disenteria aguda se expulsan pocos o ningún quiste; pero son muy frecuentes en infecciones crónicas. El hombre puede ser al mismo tiempo hospedero y fuente de infección principal. Otros mamíferos rara vez tienen amebas (3).

En el intestino, bajo la influencia de los jugos digestivos alcalinos o neutros y de la actividad de la ameba, se rompen las paredes del quiste, liberando una ameba metaquistica de cuatro núcleos que finalmente se divide en ocho trofozoitos. Estas pequeñas amebas inmaduras pasan al intestino grueso. La éstasis intestinal permite a veces que las amebas formen un foco infeccioso en la región del ciego, pueden ser llevadas hasta el recto sigmoide y aún así ser expulsadas (5).

D. Epidemiología, prevención y control

Los quistes son por lo general ingeridos a través del agua contaminada. En los trópicos, las verduras y alimentos contaminados constituyen fuentes importantes de quistes, las moscas han sido incriminadas en zonas de producción fecal (3). Los portadores asintomáticos de quistes constituyen la fuente principal de contaminación y pueden ser responsables de brotes epidémicos graves donde se filtra el drenaje a los abastos de agua y ocurre la demolición de la disciplina sanitaria (como en las instituciones mentales, geriátricas e infantiles) (2).

La dieta rica en carbohidratos, baja en proteínas, favorece la disenteria amebiana en los animales de experimentación y en casos humanos conocidos (6). Las medidas de control consisten en mejorar la salubridad del medio y en el manejo sanitario de los

alimentos. El tratamiento de los portadores es controversial, aunque se sugiere que se les debe prohibir que manejen los alimentos. No existe todavía medicamento seguro y eficaz para la quimioprofilaxis y la mezcla de medicamentos requerida para la terapia, confirma los problemas del tratamiento de la amebiasis (7).

El Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá (INCAP) realizó algunas evaluaciones en 1965, donde se reportó que la amebiasis es endémica en la ciudad capital, con un índice de prevalencia del 10 por ciento para la capital y del 23 por ciento para el área rural (8). No hay datos recientes sobre la endemidad actual.

El diagnóstico de la amebiasis presenta varios problemas, particularmente en el hallazgo del microorganismo; tradicionalmente se identifica en muestras de heces, sin embargo a menos que se trate de pacientes hospitalizados, es muy difícil obtener una buena muestra. Todos estos inconvenientes pueden superarse con el uso de las pruebas serológicas (9).

En Guatemala, como en el resto del mundo el diagnóstico de la amebiasis depende de la identificación microscópica del parásito, técnica que es muy poco sensible y que no puede distinguir entre la forma invasiva de *E. histolytica* y la no invasiva conocida actualmente como *Entamoeba dispar* (10). A este hecho es necesario agregar que el entrenamiento del personal de laboratorio que diagnostica la amebiasis generalmente es insuficiente, por lo que los errores diagnósticos son frecuentes en el país. Anteriormente, se trató de estandarizar un método inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos en suero, sin embargo, éste no es útil en caso de infección intestinal, por lo que

ahora se propone un ELISA reverso que distingue entre los zimodemos patógenos y no patógenos de *E. histolytica* (11).

E. Anatomía patológica

E. histolytica produce lesiones primarias en el intestino y secundarias fuera de él. La invasión de la mucosa por amebas con ayuda de las enzimas proteolíticas ocurre a través de las criptas de Lieberkühn formando úlceras discretas con el centro del tamaño de una cabeza de alfiler y con bordes levantados por los que pasan moco, células necróticas y amebas (2). Los cambios patológicos son inducidos siempre por los trofozoítos; los quistes de *E. histolytica* no se forman en los tejidos (6). Los trofozoítos amebianos pueden penetrar la túnica muscular hasta la submucosa y proseguir la rápida diseminación lateral de las amebas en multiplicación, socavando la mucosa y produciendo la úlcera característica de la amebiasis primaria en "foma de botella" que es un pequeño punto de entrada, que conduce por un angosto cuello a través de la mucosa, a un área necrótica expandida en la submucosa (7). En la pared intestinal puede formarse una masa tumoral inflamatoria o granulomatosa amebiana conocida como ameboma (6). Los cambios histológicos incluyen histólisis, trombosis, hemorragias petequiales, infiltración de células redondas y necrosis (10).

Las complicaciones de la amebiasis intestinal comprenden apendicitis, perforación intestinal, hemorragia, constricción y formación de granuloma (5). La infección

extraintestinal es metastásica y rara vez ocurre por propagación directa desde el intestino. La forma más común es la hepatitis amebiana o absceso del hígado, la cual parece ser debida a microembolias, que incluyen a trofozoítos llevados a través de la circulación porta. Un absceso amebiano verdadero es progresivo, no supura (a menos que esté infectado secundariamente) sin formación de paredes. Los abscesos amebianos pueden ocurrir infrecuentemente en otros órganos, por ejemplo en el pulmón o el bazo. Cualquier órgano o tejido en contacto con los trofozoítos pueden volverse un sitio de invasión y de absceso (6).

La actividad patógena de *E. histolytica* depende de:

1. resistencia del hospedero
2. virulencia y poder invasor de la cepa amebiana
3. condiciones del tubo digestivo (11).

F. Sintomatología

La respuesta clínica es sumamente variable según la localización e intensidad de la infección. La disentería sólo afecta a un pequeño número de personas. La invasión secundaria por bacterias puede explicar muchos síntomas. Estos pueden ser vagos y mal localizados a pesar de existir lesiones extensas. Las infecciones crónicas subclínicas pueden durar años, con o sin exacerbaciones posibles, a veces dejan como secuela un colon irritable o una colitis posdisentérica (12).

Las infecciones asintomáticas son las más frecuentes, especialmente en las zonas templadas. Estos portadores sanos pueden expulsar millones de quistes al día,

probablemente por multiplicación de los trofozoítos en la luz del intestino. Las molestias abdominales vagas, la debilidad y la neurastenia que aquejan algunos enfermos pueden tener relación con la infección. La fase siguiente se caracteriza por un síndrome poco irregular de tipo cólico, con hipersensibilidad local o sin ella, indica invasión de la mucosa por el parásito. Pueden alternar estreñimiento y diarreas leves (10).

La amebiasis intestinal aguda tiene un período de incubación que va de una a catorce semanas. Hay disentería intensa con evacuaciones pequeñas y numerosas en las cuales se encuentra sangre, moco, filamentos de mucosa necrosada y trofozoítos de *E. histolytica*. Se observa dolor abdominal, hipersensibilidad y fiebre de 37.5 a 39°C. Se puede encontrar deshidratación, toxemia y postración intensas. No es rara una leucocitosis hasta 20,000/mm³, que puede deberse a infección bacteriana sobreagregada (3).

G. Diagnóstico

Este generalmente depende de la identificación del parásito en heces o tejidos. El diagnóstico clínico de la amebiasis intestinal debe diferenciar este proceso de otras disenterías y enfermedades intestinales. En el absceso hepático debe realizarse el diagnóstico diferencial con quiste hidatídico, infección de la vesícula, enfermedad maligna y enfermedad pulmonar (13).

El diagnóstico clínico se basa en la historia de residencia en una zona endémica, signos y síntomas gastrointestinales y generales típicos, exploración física, sigmoidoscopia y radiografías. Con el sigmoidoscopio es posible reconocer las clásicas lesiones granulares

y petequiales, aunque la imagen no siempre es patognomónica. El diagnóstico sigmoidoscópico debe ser completado con el estudio microscópico (14).

1. Diagnóstico directo

Este puede realizarse por la identificación del parásito en las heces mediante el uso de la microscopía, la cual depende de una buena correlación del material y del examen inmediato en frotos o biopsias cuidadosamente preparadas (14). No siempre es fácil el diagnóstico, ya que requiere de exámenes repetidos, especialmente en los casos crónicos (15).

En la amebiasis intestinal el aspecto de las heces es a veces útil, particularmente para el diagnóstico diferencial con la disentería bacilar. La evacuación amebiana típica es maloliente, ácida, con gran cantidad de materia fecal, poco exudado celular y sangre en cantidades variables. Los eritrocitos degenerados forman a veces masas grandes; se encuentran pocos neutrófilos polimorfonucleares y pocas células epiteliales, pero en cambio hay muchos restos picnóticos, cristales de Charcot-Leyden y algunas bacterias, es alcalina y poco abundante; el exudado celular es notable; con cantidades variables de sangre con eritrocitos no alterados, células epiteliales y abundantes polimorfonucleares pero raro en residuos picnóticos y cristales de Charcot-Leyden; hay muchas bacterias y no hay amebas (3).

Es posible encontrar trofozoítos en las heces líquidas de la disentería aguda; se deben buscar quistes en las heces formadas de enfermos crónicos y portadores (16). El parásito *E. histolytica* debe ser diferenciado de las amebas de vida libre que contaminan las

heces y de *E. coli* así como de otros artefactos de las heces (17). En las heces recientes, los trofozoítos se reconocen por sus movimientos rápidos en una sola dirección, el ectoplasma bien reconocible, pseudópodos hialinos en forma de hoja, núcleo poco definido y glóbulos rojos ingeridos en desintegración parcial (3). Los quistes se reconocen por la presencia de 1 a 4 núcleos, una masa difusa de glicógeno y grandes cuerpos cromatoides. El número de quistes puede variar día a día, desde 0 hasta 6 mil por gramo de heces. En algunos enfermos que expulsan menos de mil quistes por día, es posible que los resultados positivos sólo se tengan después de 4 exámenes o más. Las posibilidades de encontrar quistes mediante el frote directo de heces formadas es de aproximadamente 20 por ciento en cada examen y 50 por ciento en 3 exámenes (18).

Combinando estos pasos con los métodos de concentración, las posibilidades aumentan del 30 al 50 por ciento para un análisis único (19).

La detección citológica de los trofozoítos de *E. histolytica* y su diferenciación de otras células presentes en heces de pacientes con amebiasis clínica, resulta tediosa por lo que para una mejor observación de los mismos, se recomienda el uso de la tinción permanente de Wright. Todos los trofozoítos de *E. histolytica* teñidos con Wright presentan un uniforme color púrpura con vacuolas citoplasmáticas más evidentes y diferenciación completa de los leucocitos presentes en el frote (17, 18).

2. Cultivo

En ausencia de visualización del parásito en muestras de heces u otros materiales clínicos, el cultivo del espécimen puede servir como diagnóstico (20). El cultivo provee un

medio para la multiplicación de trofozoítos para su posterior observación microscópica (20).

Los cultivos *in vitro* de *E. histolytica* aumentan añadiendo penicilina y estreptomycinina para limitar el crecimiento bacteriano, empleando muestras recientes y buscando quistes por métodos de concentración (21).

Inicialmente, la microbiota intestinal original y varias de las bacterias o especies de protozoos que la conforman fueron utilizadas para el cultivo, constituyendo los cultivos polixénicos y monoxénicos, posteriormente, fueron sustituidos por el medio axénico (22-24). El cultivo axénico, o crecimiento de uno o más individuos de una especie particular, en un ambiente libre de cualquier otra célula metabolizadora permite cultivar el microorganismos en un medio semidefinido para el estudio de los mecanismos metabólicos y bioquímicos, comprobar el efecto de los medicamentos y producir antígenos para pruebas inmunológicas y diagnósticas (25).

Los medios polixénicos, monoxénico y axénico pueden realizarse por los procedimientos descritos por Diamond (1).

Estudios realizados por Benham y Havens demostraron la posibilidad de cultivar *E. histolytica* en ausencia de otros organismos vivos, en cultivos continuos, lo que permite la preparación de antígenos necesarios para investigaciones serológicas (26).

Se ha encontrado una relación directa entre el número de quistes de *E. histolytica* presente en las muestras de heces y la incidencia de cultivos de trofozoítos positivos;

demostrando que el máximo número de trofozoítos encontrados es entre el primero y el segundo día de incubación (27).

a. Cultivo polixénico

En este medio se permite el crecimiento de uno o más individuos de varias especies que tengan los mismos requerimientos fisiológicos nutricionales (27). Se han utilizado los medios LES (huevo entero con solución de Locke y suero) y LEA (albúmina de huevo y solución de Locke), ambos desarrollados por Boeck y Drbohlav (27, 28). Las muchas modificaciones que han sido desarrolladas específicamente para *E. histolytica* han involucrado sustituciones con varias suspensiones y bases en un intento de mejorar el aislamiento y mantenimiento de este parásito. Probablemente el medio más adecuado para propósitos de rutina es la modificación de Boeck y Drbohlav al que se le agrega antibióticos y almidón de arroz (28). Según Diamond, el cultivo debe contener tripticasa, extracto de levadura, mucina gástrica y suero (4).

b. Cultivo axénico

Es el cultivo de *E. histolytica* libre de bacterias y especies de parásitos. Diamond reporta desde 1961 un medio difásico para el cultivo axénico de *E. histolytica*, constituido de un agar nutritivo enriquecido con suero cubierto con extracto de embriones de pollo (CEE) y vitaminas; este medio es el denominado TPS-1 (tripticasa-Panmede-suero de hígado digerido) (23). Los cultivos axénicos son iniciados con trofozoítos provenientes de cultivos polixénicos y monoxénicos (29). El agregado de antibióticos como estreptomycinina y penicilina suprime el crecimiento bacteriano (28).

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

3. Diagnóstico serológico

En la amebiasis extraintestinal, la aplicación de técnicas serológicas puede ayudar al diagnóstico (30, 31). La amebiasis invasiva provoca respuesta humoral cuyos anticuerpos pueden ser detectados serológicamente (32-34).

La prueba de precipitina tiene valor confirmatorio en la amebiasis hepática (35). La prueba de hemaglutinación indirecta es positiva en el 96 por ciento de los pacientes con absceso hepático y suele serlo también en los que tienen infecciones intestinales clínicamente reconocidas permaneciendo así durante unos meses después del tratamiento eficaz. Las infecciones asintomáticas muchas veces dan resultados negativos (26).

Las fracciones antigénicas de *E. histolytica* pueden extraerse y aislarse por métodos inmunolectroforéticos, de inmunodifusión, hemaglutinación indirecta, fijación del complemento y estimación de proteína (36).

En estudios recientes se ha demostrado que la inmunofluorescencia indirecta es útil para la detección de trofozoitos de material aspirado (29).

La mayoría de técnicas serológicas disponibles desde los años 60 que han sido aplicadas para la detección de anticuerpos contra *E. histolytica* incluyen: fijación del complemento, inmunolectroforesis, contralectroforesis, hemaglutinación indirecta (IHA), aglutinación en látex, difusión en gel, inmunofluorescencia indirecta e inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) (28, 37, 38). Las investigaciones recientes se han concentrado en el uso de ELISA como un posible método en la detección del antígeno de *E. histolytica* en material fecal (37).

La serología ha probado ser muy útil en el diagnóstico clínico. Se sabe que en el 95% de los pacientes con absceso hepático amebiano, ocurre una producción de anticuerpos específicos anti-ameba, los cuales pueden ser identificados enfrentándolos al antígeno amebiano (proteína amebiana), por diferentes técnicas como inmunoelectroforesis, centrifugación diferencial, y más recientemente por ensayo inmonosorbente ligado a enzima e inmunobloting. También es de algún valor en casos sospechosos de amebiasis intestinal cuando los exámenes de rutina fallan en la demostración de la presencia de este microorganismo (29).

El diagnóstico serológico es muy útil, sobre todo en la amebiasis invasiva, existen pruebas con inmunohemaglutinación, aglutinación con partículas de látex, difusión en gel, ELISA y muchas otras más. Estas pruebas detectan anticuerpos IgG, sin embargo, con pruebas más especiales como la inmunofluorescencia ya han detectado anticuerpos IgM, IgE e IgA (34).

4. Otros ensayos

Las dos especies de *E. histolytica* patogénica y no patogénica pueden diferenciarse por medio de aglutinación con concanavalina lecitina, electroforesis de las enzimas hexoquinasa y fosfoglucomutasa y por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Además se ha demostrado que la cepa no patogénica no crece axénicamente, únicamente en cultivo monoxénico con la bacteria *Fusobacterium symbiosum* (39-40).

Existen otros análisis más avanzados sobre la especie patogénica (*E. histolytica*), entre ellos están la detección de zimodemos, los cuales han sido estudiados por varios

investigadores (41). Sánchez-Guillén y col. (42) evaluaron la amebiasis en humanos, encontrando que es una infección parasitaria cuyo aspecto clínico involucra casos asintomáticos y sintomáticos intestinales y extraintestinales en individuos infectados por *E. histolytica*. Sugirieron la participación de varios factores para explicar la variabilidad de las manifestaciones de la enfermedad. Las técnicas hemaglutinación indirecta e inmunotransferencia han sido utilizadas para evaluar las diferencias de virulencia de las cepas de *E. histolytica* (41).

Así también el estudio coproparasitológico por medio de la técnica de Faust y Ferreira, permite distinguir los zimodemos patógenos de los no patógenos de *E. histolytica* o mezcla de los mismos (42).

El desarrollo comercial de kits de detección de antígenos y las pruebas de ADN pueden proveer procedimientos diagnósticos rápidos, precisos y menos costosos en el futuro (29).

H. Tratamiento de la amebiasis

La finalidad es la desaparición de los síntomas clínicos y la destrucción de la *E. histolytica* en su estado de trofozoíto y quiste por medio de las sustancias denominadas amebicidas o antiamebianas que se utilizan por vía oral, intramuscular y endovenosa. Para garantizar la curación debe demostrarse la ausencia de la *E. histolytica* por lo menos en 4 exámenes coproparasitológicos seriados en los 7 días consecutivos al tratamiento y repetirse los estudios al mes, en presencia del estado clínico asintomático (43-46).

En la actualidad, se encuentran disponibles una serie de medicamentos derivados del Nitroimidazol® que combinados con cirugía son capaces de producir curación en la mayoría de las formas de amebiasis, es decir: proctocolitis amebiana, ameboma y absceso hepático (46).

Los casos de portadores asintomáticos y sintomáticos son de gran importancia epidemiológica; ya que son los responsables de la diseminación de la amebiasis. Se ha utilizado con éxito la Quinfamida® y Secnidazol® con tratamiento de un solo día, reportando índices de curación del 86 al 95 por ciento y se considera que los casos de ineficiencia al tratamiento se deben a error diagnóstico o mal empleo de los amebicidas (47-50).

La idea moderna del tratamiento médico de la amebiasis tiene un carácter eminentemente profiláctico: mejorar las condiciones de higiene de la población, y en particular de los manejadores de alimentos, potabilizar el agua, desaparecer el fecalismo al aire libre, el empleo de tratamiento de un solo día en los portadores asintomáticos para romper el ciclo de la amebiasis, y una vez diagnosticado el cuadro de amebiasis intestinal o extraintestinal, emplear tratamientos cortos con medicamentos de mayor acción amebicida que reporten altos índices de curación, más del 90 por ciento acompañados de mínimos efectos colaterales y tóxicos (47,48).

1. Clasificación de los amebicidas

Por el sitio de acción de los medicamentos sobre *E. histolytica* se consideran 3 clases de amebicidas: de acción intestinal o luminal, de acción intestinal y sistémica o tisular, y de acción sistémica o tisular.

a. Amebicidas de acción intestinal o luminal

Estos amebicidas corresponden a los que actúan únicamente en el colon, en la luz intestinal. Están indicados en portadores asintomáticos y proctocolitis leve y son hidroxiquinoleínas halogenadas, dicloroacetamidas y quinfamidas.

b. Amebicidas de acción intestinal y sistémica o tisular

Estos amebicidas son más modernos y eficaces, y actúan sobre *E. histolytica* localizada en la pared de la mucosa intestinal y extraintestinal. Indicados en proctocolitis moderada y severa, ameboma, absceso hepático, colon tóxico combinado con cirugía. Entre ellos: Metronidazol®, Ornidazol®, Tinidazol®, Senidazol® y Hemezol®.

c. Amebicidas de acción sistémica o tisular

Integrado por los amebicidas más antiguos que tienen la capacidad de destruir la *E. histolytica* de localización extraintestinal, pero que se acompaña de efectos colaterales y tóxicos sobre el corazón, el músculo esquelético y el tracto gastrointestinal. Comprenden a la Emetina®, prácticamente fuera del mercado, Dehidroemetina® y Cloroquina®, ésta última utilizada en el tratamiento del paludismo. La indicación de Dehidroemetina® y Cloroquina® es para la amebiasis localizada en el absceso hepático, ameboma y proctocolitis severa (43, 44).

I. Productos naturales para el tratamiento de la amebiasis

El tratamiento de desórdenes gastrointestinales es de gran importancia para muchas poblaciones que presentan serios problemas de disentería. Frecuentemente estas enfermedades están asociadas con infecciones por *E. histolytica* y por varias bacterias. Por ello varios investigadores han desarrollado ensayos que ponen de manifiesto la posibilidad del uso de productos naturales con compuestos amebicidas.

Keene y colaboradores realizaron ensayos *in vitro* utilizando *E. histolytica* para describir la evaluación de extractos crudos de la planta *Cephaelis ipecacuanha*, la cual dio origen a la Emetina® (51, 52).

Leeuwenberg reporta que hay especies de más de 139 géneros de plantas distribuidas en todo el mundo para el tratamiento de la amebiasis, entre otras se encuentran *Acacia nilotica*, *Alstonia scholaris*, *Borreria verticillata*, *Caricia papaya*, *Holarrhena floribunda*, etc. (53).

Wright y otros realizaron ensayos *in vitro* para probar la actividad antiamebiana de *Brucea javanica* y *simarouba amara* utilizando la técnica de microdilución en placas de 96 pozos (54-56).

Ahmad realizó un tamizaje de 4 plantas para evaluar la acción antiamebiana de las plantas: *Balsamodendron mukul*, *Caesalpina bonducella*, *Curcuma zedoavia* y *Melia azedarach*; para ello utilizó un cultivo de *E. histolytica* cepa NIH:200 en medio monofásico TPS-1 empleando el método de Neal (57).



Kaneda y otros realizaron ensayos *in vitro* para demostrar efectos del sulfato de Berberina en el crecimiento y estructura de *E. histolytica*, *Giardia lamblia* y *Trichomonas vaginalis* (58, 59).

También se han hecho ensayos *in vivo* para analizar el efecto de diversas plantas contra amebas, tal es el caso de Sohni y col. quienes investigaron la medicina tradicional de la India (60). Ghosal analizó la actividad antiamebiana de *Piper langum* (61).

Se han realizado varios estudios sobre la botánica de uso medicinal en el tratamiento de infecciones parasitarias. Las revisiones se concentran en informes de encuestas etnobotánicas nacionales que incluyen la identidad botánica de las plantas.

A partir de una base de datos obtenida de la revisión etnobotánica nacional para el establecimiento de plantas de uso medicinal en el tratamiento de afecciones parasitarias realizada por CEMAT y el Laboratorio y Droguería de Productos Fitofarmacéuticos Farmaya, se hizo una selección en base a la mayor frecuencia de uso en enfermedades atribuibles a protozoarios y de éstas se escogieron las plantas de mayor uso.

En el proyecto CYTED-JICA se hizo una investigación titulada "Preliminary studies on the effects of plant-origin drugs against parasites, especially *Trypanosoma cruzi* in Guatemala" y de este se extrajo una lista de las plantas popularmente usadas en el tratamiento de la amebiasis que se muestran en la tabla No. 1

TABLA No.1
Plantas utilizadas en el
tratamiento de amebiasis

Universo: Plantas utilizadas para el tratamiento de infecciones parasitarias = 246

Población: Plantas utilizadas para el tratamiento de amebiasis = 114

Muestra: Selección en base a la mayor frecuencia de uso = 29

Nombre científico	Nombre popular	Partes usadas
<i>Annona reticulata</i>	anona	h,s
<i>Acacia farnesiana</i>	subín	r
<i>Bixa orellana</i>	achiote	h,s
<i>Byrsonima crassifolia</i>	nance	c,h
<i>Bursera simaruba</i>	palo jiote	c,f
<i>Caesalpinia coriaria</i>	cascalote	c,h,s
<i>Cissampelos pareira</i>	alcotán	r
<i>Chamaesyce hirta</i>	golondrina	j,h
<i>Chrysophyllum cainito</i>	caimito	c,h
<i>Diphysa robinoides</i>	guachipilín	c,h
<i>Gliricidia sepium</i>	madre cacao	c,f,h
<i>Guazuma ulmifolia</i>	caulote	fr
<i>Heliotropium angiospermum</i>	alacrán	h
<i>Heliotropium indicum</i>	alacrán	h
<i>Jacaranda mimosifolia</i>	jacaranda	h,f
<i>Manilkara achras</i>	chicozapote	c,fr,s
<i>Neurolaena lobata</i>	tres puntas	h
<i>Petiveria alliacea</i>	apacín	h,r
<i>Psidium guajaba</i>	guayaba	c,fr,h,r
<i>Rauvolfia tetraphylla</i>	chalchupa	h,r
<i>Rhizophora mangle</i>	mangle	c
<i>Simarouba glauca</i>	jocote de mico	c,h
<i>Smilax regelii</i>	palo de la vida	r
<i>Solanum americanum</i>	quilete	h
<i>Solanum nigrescens</i>	quilete	h
<i>Spondias mombin</i>	jobo	c
<i>Tecoma stans</i>	timboco	c,h
<i>Tridax procumbens</i>	hierba del toro	h
<i>Wigandia caracasana</i>	chocón	f,h,r

partes usadas: c=corteza, f=flor, fr=fruto, j=jugo, h=hoja, r=raíz, s=semilla

Departamento de Citohistología, USAC, Proyecto CYTED-JICA
 (1993-95)

1. *Psidium guajava* L. (guayaba)

a. Descripción botánica

Arbol de 10 m de alto, tronco 20-25 cm de diámetro, corteza suave, pubescente, delgada, rojo-café, produce escamas que caen. Hojas verdes, opuestas, peciolo corto, elípticas u oblongas, 5-15 cm de largo, redondas en el ápice y en la base, múltiples venas horizontales conspicuas, provistas de glándulas. Flores axilares, solitarias, blancas, 3-4 cm de ancho, penacho de 275 estambres. Frutos aromáticos, ovales o piriformes, 2-10 cm de largo, cáscara amarilla, carnaza rosada o amarilla, por fuera granular y firme, al centro suave, lleno de pulpa jugosa con muchas semillas color café claro, 3-5 mm de largo, redondas y duras (62).

b. Habitat

Nativo de América tropical, se encuentra en bosques húmedos y secos, pastos y bosquecillos puros del árbol; sembrado comercialmente en zonas cálidas de Africa y Asia hasta 1800 msnm. En Guatemala, se ha descrito en todo el país, particularmente en: Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa y Suchitepéquez (62).

c. Agricultura

Se adapta a una gran variedad de climas, desde tropical húmedo hasta mediterráneo; necesita 1000-4500 mm-año de lluvia, aunque resiste hasta 6 meses de sequía; se adapta desde suelo arcilloso y compacto hasta arenoso, ligeramente ácido. La propagación puede hacerse por semillas, acodos, injerto, estacas e hijuelos. En la descendencia se observa mucha variación, lo que sugiere hibridación fuerte. Las semillas conservan su poder

germinativo hasta un año; después de remojo se siembran en semilleros de arena desinfectados, se repican a bolsa al tener 4 cm y se transplantan al campo al tener 30 cm. La propagación por acodos y estacas verdes se hace por medios convencionales. Se plantan a distancias de 5x5 m en hoyos de 50 cm de profundidad, deben mantenerse libres de hierbas, cada dos años se desmocha el árbol a 4-5 de su altura. La producción empieza a los 2 ó 3 años, que pueden ser de 20-60 kg/árbol.

Entre los insectos que lo atacan están la mosca blanca, cochinillas y hormigas, que favorecen el apareamiento de fumagina. Las enfermedades más comunes son momificación del fruto, declinación, roya amarilla, chancro del tallo y algas de las hojas. Las hojas se colectan al final de la época lluviosa y se secan a la sombra; los frutos se colectan al estar maduros pero no blandos.

d. Usos medicinales atribuidos

La decocción de hojas y corteza se usa por vía oral para tratar afecciones digestivas (amebiasis, diarrea, disentería, cólico, dolor de estómago, parasitismo intestinal, vómito), anemia, artritis, diabetes, hemorragias, hinchazón, uretritis, asma y resfrio. La decocción de raíz se usa para tratar hidropesía (63).

La decocción por vía tópica se recomienda en baños y lavados para tratar enfermedades dermatomucosas (fistulas, leucorrea, piodermia, raspones, tinea, úlcera) y enjuagues para lengua inflamada. Las hojas y corteza contienen una resina llamada "guafin" que tienen acción marcada contra las fiebres palúdicas (63).

A las hojas y corteza se les atribuye propiedades antibacteriana, antiemética, antiinflamatoria, antihelmíntica, lítica y tónica. El fruto se usa para aliviar la congestión respiratoria, se le atribuye propiedades astringente, febrífuga y desinflamante.

e. Otros usos populares

La fruta madura se come fresca, cocida y en jalea. La corteza es amarilla y se utiliza para curtir pieles y teñir seda y algodón. El árbol se siembra como sombra del café, cerco vivo y ornamento. La madera es amarilla-rojiza, fibra fina, compacta, pesada, fuerte y durable. La madera se usa para leña y para hacer mangos de herramientas. Con las frutas y hojas se prepara una bebida astringente conocida como guarapo (63).

f. Farmacología

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas es activa contra *E. coli*, *S. dysenteriae*, *S. typhi*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. flexneri* y *P. aeruginosa*; es inactiva contra *V. cholerae* y *N. gonorrhoeae* (63).

Estudios antifúngicos demuestran que la tintura de hojas es activa contra *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. stellatoidea* (63).

g. Clínica

Estudios destinados a comparar la actividad antidiarréica de una preparación oral de hojas con suspensión de caolín y pectina en un grupo de pacientes menores de 5 años y entre 20 y 40 años con diagnóstico de diarrea aguda, presentaron resultados positivos, el número de casos mejorados o curados fue siempre mayor al 70 por ciento, independientemente de la terapia empleada (63).

En un grupo de pacientes con tricomoniasis vaginal se demostró que un supositorio conteniendo el extracto alcohólico de hojas aplicado durante quince días tiene efecto beneficioso similar al del fármaco de referencia (Metronidazol®) (63).

h. Composición química

La planta es rica en tanino. Las hojas contienen grasa, ácido maslínico y el gico, aceite esencial, triterpenoides, ácidos orgánicos, flavonoides derivados de quercetina como guayaverina y avicularina.

El tamizaje fitoquímico del fruto indica la presencia de polifenoles, taninos, terpenos, glicósidos esteroidales, antraquinonas; la raíz contiene leucoantocianinas, esteroides y ácido gálico. La corteza contiene elagitaninos. El análisis proximal de 100 g de hoja revela que contiene proteína (11.7 g), grasa (8.7 g), carbohidratos (71.9 g), fibra (16.1 g), ceniza (7.7 g), calcio (1340 mg) y fósforo, vitamina A y ácido ascórbico (300-486 mg). 100 g del fruto contiene: calorías (36-50), fibra (2.8-5.5 g), proteína (0.9-1.0 g), grasa (0.1-0.5 g), ceniza (0.43-0.7 g), carbohidratos totales (9.5-10 g), calcio (9-17 mg), fósforo (17-30 mg), hierro (0.3-0.7 mg), caroteno (200-400 UI), tiamina (0.46 mg), rivo flavina (0.3-0.4 mg), niacina (0.6-1.1 mg), glucósidos totales (17 g), celulosa (4.1 g) (63).

i. Farmacognosia

Las hojas y la corteza son la materia médica. Las características macroscópicas y microscópicas indican que la corteza es no fibrosa, contiene una variedad de oxalatos de calcio, taninos y almidones; los lenticelos son pequeños y pronunciados en la superficie; las

trichomas de la epidermis de la piel son unicelulares y vermiformes, se presentan avidades mucilaginosas (62).

Microscópicamente las hojas presentan un cutícula delgada, epidermisi uniestratificada con células de paredes delgadas, apéndices en forma de tricomas no glandulares, hipodermis formada por 3-4 capas de células alargadas; venación reticulada; la vena central y las secundarias con un haz vascular bicolateral en forma de media luna; lámina de la hoja con glándulas y drusas (63).

Por su contenido en taninos y su actividad astringente es efectiva en el tratamiento de diarrea, indigestión y espasmo abdominal. La actividad antidiarréica se atribuye a las quecetas presentes en las hojas y corteza, que tienen una definitiva acción antisecretoria en la liberación de acetilcolina e inhibidora del peristaltismo intestinal, que no es reversible por naloxone; este efecto se debe al bloqueo de los canales de calcio o a la inhibición del sistema enzimático responsable de la síntesis de prostaglandinas, que se relacionan con la liberación de acetilcolina; el extracto alcohólico muestra una actividad similar a la producida por morfina (63).

La actividad antibacteriana se atribuye a los flavonoides (avicularina, guayaverina y quercetina). La actividad antiprotozoaria se atribuye al ácido psidiólico que además tiene actividad contra *Mycobacterium phlei*; es un triterpeno ácido, peso molecular 455, soluble en metanol, etanol y piridina, insoluble en hexano (63).

2. *Solanum americanum* Mill. (quilete)

a. Descripción botánica

S. americanum, hierba de 1 m de alto, talo pubescente. Hojas en pares o solitarias, 3-14 cm de largo, lanceoladas, ápice agudo. Inflorescencia internodal, racemiforme, pedunculada, pocas flores. Flores en cálices de 1-2 mm, lóbulos ovalados, agudos; corola blanca, limbo partido, 5-8 mm de ancho, estilo 2.5-3.5 cm de largo, más largo que los estambres, ovario globoso. Frutos globosos, negros al madurar, 4-8 mm de diámetro; semillas pequeñas (63).

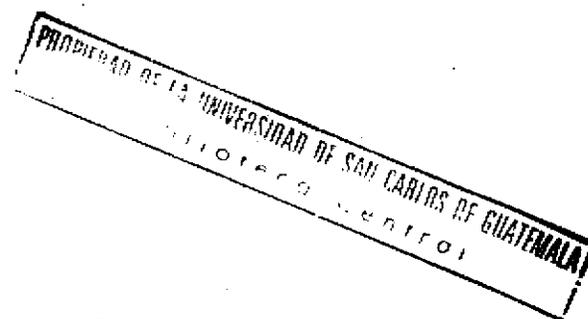
b. Habitat

Es nativa de América, crece en matorrales y sembradíos de 350-1500 msnm. En Guatemala, se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (63).

c. Agricultura

Se obtiene por recolección en lugares de crecimiento silvestre, recientemente se ha visto en el mercado local follaje cultivado. Su propagación se hace principalmente por semilla, que germina entre 15 y 20 días, se transplanta a los 2 ó 3 meses a una distancia de 30-40 cm a la sombra o media sombra; florece entre 5 ó 6 meses y fructifica entre los 6 y 9 meses. Para consumo como alimento se colecta el follaje al inicio de la floración; para medicamento se colecta toda la planta al final de la fructificación, se separan las hojas y frutos y se dejan secar a la sombra separadamente; la relación fresco:seco es baja.

d. Usos medicinales atribuidos



El cocimiento de hojas y semillas tiene amplio uso medicinal, por vía oral se administra en el tratamiento de afecciones gastrointestinales (cólico, diarrea, estreñimiento, gastritis, úlcera gástrica) y respiratorias (asma, amigdalitis, tos ferina), anemia, cirrosis, dolor de muelas, escorbuto, hinchazón, meningitis, nerviosismo, paludismo, presión alta, retención urinaria, reumatismo (63).

La decocción de hojas se usa por vía tópica para el tratamiento de afecciones dematomucosas (acné, abscesos, dermatitis, eczema, erisipela, exantema, heridas, leucorrea, llagas, mezquinos, pústulas, tiña, úlceras y vaginitis); el cataplasma de hojas frescas se usa para tratar erisipela. Los frutos se usan para tratar verrugas y madurar abscesos (63).

Se le atribuye propiedades aperitiva, calmante, depurativa, diurética, desinflamante, emoliente, mineralizante, reconstituyente, sedante y vulneraria.

e. Otros usos populares

Las hojas se comen en caldo o fritas con huevos; es una hierba que se consume en grandes cantidades en el país y es frecuente encontrarla en mercados y supermercados, se acostumbra comerla en la convalecencia y recuperación de diversas enfermedades.

f. Composición química

Es de composición compleja, aunque poco estudiada; *S. americanum* contienen alcaloides (solasodina, solasonina, glucoalcaloides y alcaminas) (63).

g. Farmacología

Estudios antibacterianos demuestran que la decocción de las hojas tiene actividad antibiótica; la decocción de *S. americanum* contra *S. aureus*. El mejor disolvente para la extracción antibiótica es el etanol (63).

Estudios antimicóticos demuestran que la decocción y tintura de hojas son activas contra *C. albicans* y *C. neoformans* (63).

h. Farmacognosia

Las hojas sazonas y secas y frutos secos son la materia vegetal usada como medicina, que deben reunir las mismas características fisicoquímicas y sanitarias de la materia prima usada para la elaboración de productos fitofarmacéuticos. No se tienen datos sobre la relación entre la actividad farmacológica atribuida y la composición química, ni de estudios tendientes a la formulación de productos fitofarmacéuticos.

La actividad antibiótica del género *Solanum* se atribuye a alfa-solanina, un alcaloide esteroideal básico, peso molecular 559, soluble en álcali, insoluble en agua, éter y cloroformo, presenta actividad fungicida, insecticida y antiinflamatoria. La solasodina y solasonina son solubles en alcohol, sirven de materia inicial para esteroides (63).

3. *Tridax procumbens* L. (hierba del toro)

a. Descripción botánica

Planta perenne, base leñosa, tallos ramificados, 15-50 cm de largo, a veces enraizado en los nódulos, densamente hirsuta. Hojas cortas pecioladas, limbo rómbicoovalado o lanceolado, 2-7 cm de largo, agudo o acuminado, cuncales en la base, verde oscura, márgenes fuertemente dentadas, hirsuto en el envés, escabroso en el haz.

Flores en cabezuelas radiadas, solitarias, pedúnculos desnudos, 10-20 cm de largo, hirsutos; involucros ampliamente campanulados, 5-8 mm de largo; filarios biseriados. Flores del disco amarillas, 5-7 mm de largo; aquenios negros, 2.5 mm de largo, pilosos; pappus en corona con 20 cerdas plumosas, rayos reducidos, 2-3 mm de largo (63).

b. Habitat

Nativa de México y Centro América, se encuentra en lugares húmedos o secos, en campos de maleza y praderas, en suelo cubierto de arena a las orillas de arroyos o caminos, a menudo en terrenos baldíos o suelos cultivados hasta 2300msnm; introducida en Sur América, Caribe, Africa y Asia. En Guatemala, se ha descrito en Alta Verapaz, Chimaltenango, El Quiché, Escuintla, Guatemala, Izabal, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (63).

c. Agricultura

La planta se obtiene exclusivamente por recolección en los campos de crecimiento silvestre en las regiones cálidas y subtempladas del país. Se recomienda su manejo o cultivo para garantizar su aprovisionamiento sostenido. Su propagación se hace por semillas o divisiones del tallo o raíces y se siembra en lugares de media sombra. Se colectan las hojas y flores durante la fructificación y se secan rápidamente a la sombra.

d. Usos medicinales atribuidos

La planta fresca o seca, en infusión o decocción es usada por vía oral para tratar alergia, anemia, afecciones gastrointestinales (diarrea, disentería, dolor de estómago, flatulencia, parásitos intestinales) y respiratorias (bronquitis, catarros, fiebre), dolor de

cabeza, diabetes, enfermedades hepáticas, inflamaciones, hipertensión y trastornos menstruales (63).

El emplasto de las hojas se aplica tópicamente para aliviar inflamaciones; el jugo de hojas frescas se usa para detener hemorragias y lavar cortadas, raspones y heridas; la decocción se usa en lavados para tratar casos de vaginitis (63).

Se le atribuye propiedad antiséptica cicatrizal, purgativa, depurativa, desinflamante, emenagoga, febrífuga, hepatoprotectora, hipoglicémica, insecticida, vermícida y refrescante (63).

e. Farmacología

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas es inactiva contra enterobacterias y bacilos Gram positivo (63).

El aceite esencial (3 por ciento) tiene actividad insecticida contra la mosca doméstica, larvas de mosquito y cucarachas, así como presenta actividad repelente contra 3 variedades de hormigas.

La infusión de las hojas en dosis de 750 y 1000 mg/kg de peso posee actividad antiinflamatoria (63).

f. Composición química

El tamizaje fitoquímico de toda la planta presenta esteroides/terpenoides, flavononas, taninos, saponinas, azúcares y beta-sitosterol. Las hojas y semillas contienen un alcaloide, ácido fumárico, beta-sitosterol y taninos. Las flores frescas contienen luteolina, glucoteolina, quercetina e isoquercetina.

g. Farmacognosia

El material de la planta a utilizar como materia médica debe reunir las mismas características fisicoquímicas y sanitarias que la materia prima utilizada en la elaboración de productos fitofarmacéuticos.

Los principios responsables de la actividad cicatrizante no han sido perfectamente definidos. Uno de los posibles responsables de esta actividad es el ácido fumárico, tiene peso molecular 116, es una molécula esencial para la respiración tisular, tiene potente actividad antioxidante y se usa como mordiente en varios colorantes (63).

4. *Annona reticulata* L. (anona)

a. Descripción botánica

Arbol de 8-12 m, hojas oblongo-lanceoladas, de 8-20 cm, agudas a acuminadas; sépalos redondeados-triangulares, de 1.5-2.5 cm, fruto subgloboso, de 8-12 cm, casi liso, algo areolado; la pulpa amarillenta, dulce (63).

b. Habitat

La planta se encuentra en regiones tropicales (cultivada), originaria de América tropical.

c. Usos medicinales atribuidos

Para el dolor abdominal, se utiliza la decocción en sal de la hoja y la corteza por vía oral. Para flatulencias, se utiliza la decocción con sal de la hoja por vía oral. Para choque emocional, se utiliza la decocción con sal de la hoja y la corteza por vía oral y la aplicación

de la hoja sobre la cabeza. Para vómitos, se utiliza la decocción de la hoja por vía oral. Para la llaga y herida, el fruto machacado se aplica localmente(63).

d. Farmacología

En condiciones experimentales, a dosis iguales o inferiores a 800 mg/kg administrados por vía intraperitoneal, *A. reticulata* no presenta ninguna actividad sedante. Sin embargo, la planta presenta un efecto antiespasmódico de tipo neurotrofo a partir de 200 mg/ml frente a contracciones inducidas por la carbamoilcolina. El efecto es, pues, dependiente y se observa además una inhibición del peristaltismo basal del duodeno aislado de rata (64).

La planta no presenta ninguna actividad antimicrobiana contra enterobacterias responsables de las principales infecciones intestinales, es activa contra *Streptococcus pneumoniae* en extracto alcohólico (62).

Las raíces, tallos, hojas y semillas poseen una actividad insecticida y repelente. El extracto de tallo posee efectos inotrofo y cronotrofo sobre el corazón de conejo y una actividad comparable a la hormona juvenil. Las partes aéreas muestran una actividad antiespasmódica *in vitro* sobre el ileon del cobayo. Las semillas son ictiotóxicas (64).

e. Composición química

La planta es rica en taninos y contiene una resina con propiedades insecticidas. El fruto es rico en elementos nutritivos: vitaminas, proteínas, magnesio. La hoja contiene sesquiterpenos: cardinol, delta elemol. Se han identificado 5 alcaloides en diversas partes de la planta: alcaloide isoquinoleico simple (salsolinol), del tipo

benziltetrahydroisoquinoleico (reticulina y coclaurina), del tipo aporfinoide (anonaina y norushinsunina), del tipo oxoaporfínico (liriodenina) y la dopamina (65).

f. Farmacognosia

Las hojas y la corteza secas son la materia médica que deben reunir las mismas características fisicoquímicas y sanitarias de la materia prima usada para la elaboración de productos fitofarmacéuticos. No hay datos sobre la relación entre la actividad farmacológica atribuida y la composición química, ni estudios tendientes a la formulación de productos fitofarmacéuticos.

9.5 *Rhizophora mangle* L. (mangle)

a. Descripción botánica

Arbol de 25 m, tallo pequeño, tronco de 1 m de diámetro, corteza delgada y hojas pecioladas, muy gruesas, ovaladas o elípticas de 5-15 cm de largo obtusas, enteras, de un verde profundo arriba, más pálidas abajo, los nervios obsoletos; los pétalos amarillos de 7-8 mm de largo, vellosos por dentro, los estambres de 5 mm de largo; el fruto de 2.5-3.6 cm de largo.

b. Habitat

La planta se encuentra en Estados Unidos, México, Centro América, Sur América y Oceanía. Usualmente está en asociación con *Conarus*, *Laguncularia* y *Avecennia* (66). También se le conoce como "mangle rojo" en Belice; "tapche", "tabche" (maya yucateco). El mangle y sus especies asociadas forman una asociación importante que existe en una gran parte de las costas de toda la América tropical.

La *Rhizophora* esta especialmente adaptada para cualquier habitat acuático por sus raíces largas y rígidas que sobresalen de la tierra formando un arco de círculo. Las raíces muy a menudo están cubiertas con ostras y otros animales marinos, y son muy frecuentadas por cangrejos, arañas y saltamontes.

c. Usos medicinales atribuidos

Se le atribuye propiedades antiprotozoárica especialmente contra amebiasis, leishmaniasis y trichominiasis.

Con respecto a su composición química, farmacología y farmacognosia no ha sido estudiada.

III. JUSTIFICACION

Se estima que el 12 por ciento de la población mundial está infectada por *E. histolytica* (54). La disentería amebiana es común en regiones del trópico y subtropico; sin embargo, la amebiasis está más relacionada con condiciones sanitarias y estatus socioeconómico que a clima.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), ésta infección junto con otras causadas por bacterias se encuentra dentro de las cinco primeras causas de muerte en países tropicales de América.

En cuanto al tratamiento, se ha empleado un gran número de drogas con la finalidad de erradicar ésta infección, pero, el uso desmedido de éstas puede permitir que se obtengan cepas resistentes a ciertos medicamentos. Asimismo, ciertos compuestos son tóxicos para el hospedero, tales como el Metronidazol, el cual es carcinogénico para roedores de laboratorio y la Emetina que es cardiotóxica para humanos (47).

Por lo tanto, la búsqueda de nuevos compuestos con actividad amebicida es urgente y muy importante. El desarrollo de una droga nueva, poco costosa es una prioridad para el control de la enfermedad (OMS, 1985). En este aspecto, un paso inicial es el estudio de plantas popularmente usadas en el tratamiento de la amebiasis. El uso de técnicas *in vitro* para el estudio de la susceptibilidad de trofozoítos de *E. histolytica* a diferentes compuestos vegetales será una valiosa ayuda para elucidar posibles compuestos con efectos antiamebianos y ensayarlos preclínica y clínicamente como opciones terapéuticas.

IV. OBJETIVOS

1. Establecer un bioensayo para demostrar la actividad amebicida *in vitro* de diez extractos de cinco plantas usadas en el tratamiento de diarreas.
2. Tamizar la actividad de extractos de cinco plantas usadas en el tratamiento de la amebiasis.

BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD FRANCISCO DE GUATEMALA

V. HIPOTESIS

Los trofozoitos de *Entamoeba histolytica* cepa HM1:IMSS son susceptibles a los efectos tóxicos de al menos uno de los extractos de cinco plantas usadas popularmente en el tratamiento de la amebiasis.

VI. MATERIALES Y METODOS

A. Universo de trabajo

Plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de la amebiasis.

1. Muestra

Extractos acuoso y etanólico de 5 plantas medicinales (*Psidium guajava*, *Solanum americanum*, *Annona reticulata*, *Tridax procumbens* y *Rhizophora mangle*) usadas en Guatemala para el tratamiento de la amebiasis.

B. Recursos

1. Humanos

a. Asesores

Lic. María Beatriz López

Lic. Armando Cáceres

b. Coasesores

Dra. María de Lourdes Muñoz (IPN-México D.F.)

Lic. Miguel Angel Moreno (IPN-México D.F.)

c. Estudiante tesista:

Br. Myra Elizabeth Custodio Cruz

2. Físicos

a. Reactivos

Peptona

Dextrosa

Cloruro de Sodio

Fosfato de Potasio

L-Cisteína

L-Acido Ascórbico

Citrato Férrico Amoniacal

suero bovino

Dimetilsulfóxido

Cloruro de Potasio

Cloruro de Calcio

Metronidazol®

Sal de Tetrazolio (MTT)

b. Productos de plástico

tubos de propileno Eppendorf

filtros descartables

placas de 96 pozos

c. Productos de vidrio

pipetas Pasteur

tubos con tapón de rosca

botellas de cultivo

d. Equipo

campana de flujo laminar

microscopio

autoclave

centrífuga

balanza

espectrofotómetro

3. Institucionales

Departamento de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia USAC

Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA)

Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED)

Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV) del Instituto

Politécnico Nacional (IPN), México D.F.

C. Procedimiento

1. Ensayo

a. Obtención, extracción y concentración de los vegetales

Se obtuvieron las plantas en su lugar de crecimiento, bajo cultivo. Se recolectó el órgano de interés de la planta cuidando que no estuviera dañado ni infestado por insectos. Se lavó con agua limpia y se puso a secar en desecadores. Una vez secas las hojas se partieron con las manos. La materia seca vegetal (MSV) se guardó en frascos de plástico rotulados. Para la obtención de extractos acuosos se procedió de la siguiente forma: Se pesó 50 g de MSV y se agregaron 500 ml de agua destilada hirviendo y se dejó reposar por 2 h, se filtró 3 veces y se congeló a -40°C por 24 h. Luego se liofilizó. Para la preparación

y se congeló a -40°C por 24 h. Luego se liofilizó. Para la preparación de extractos etanólicos, se colocó en un percolador la MSV y se agregó etanol al 95 por ciento, se dejó reposar por 24 h y se colectó la fracción eluída, se repitió 3 veces. Luego se filtró y concentró a presión reducida, se colocó en la desecadora y se guardó a temperatura ambiente.

b. Ensayos de solubilidad

Se pesaron los extractos acuosos y etanólicos y se mezclaron con agua destilada, etanol y dimetilsulfóxido (DMSO) dilución 1:10, se disolvieron y filtraron con filtros descartables de 0.45 mm de diámetro.

c. Preparación de controles positivo y negativo

Se preparó la solución Ringer estéril (Cloruro de Sodio, Cloruro de Potasio y Cloruro de Calcio).

El Metronidazol® se llevó a una concentración de 8mg/50ml.

d. Preparación de cultivo axénico

Se preparó el medio de cultivo TYI-S-33 (Peptona, Dextrosa, Cloruro de Sodio, Fosfato diácido de Potasio, Fosfato monobásico de potasio, L-Cisteína, L-Acido ascórbico y Citrato Férrico Amoniacal). Se pesaron los ingredientes, se disolvieron en agua destilada, se ajustó el pH a 6.8, se filtró en papel Whatman y se esterilizó en autoclave a 121 lb de presión por 10 min, luego se refrigeró. Se agregó 20 por ciento de suero bovino vitaminado al 3 por ciento con una mezcla de vitaminas de Diamond. Se trasvasó a botellas de cultivo en condiciones estériles bajo campana de flujo laminar.

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

e. Preparación de trofozoítos para la resiembra

Se observaron los tubos de cultivo axénico bajo el microscopio invertido, se seleccionaron los más confluentes y se depositaron en un baño de hielo por 10 min para despegar las amebas. Se inocularon 0.5 ml de trofozoítos a las botellas de cultivo fresco, se incubaron a 37°C por 72 h.

f. Conteo de trofozoítos

Se despegaron las amebas de la botella de cultivo por inmersión de los tubos en un baño de hielo, se trasvasó todo el contenido a un tubo de centrifuga estéril, se centrifugó 4 min a 2000 rpm, se descartó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 0.3 ml de medio de cultivo fresco, se realizó el conteo en un hemocitómetro.

g. Reto amebicida

i. Ensayo por recuento de trofozoítos en hemocitómetro

Se realizó el ensayo en triplicado en placa de 96 pozos y en tubos Eppendorf. A cada poco y tubo Eppendorf se le agregó solución Ringer, extractos acuoso y etanólico en concentraciones de 1, 0.5, 0.250 mg/ml y 3×10^4 trofozoítos dando un volumen final de 0.2 ml para la placa de 96 pozos y 1 ml para los tubos Eppendorf. Se incubaron a 37°C por 24 h. Para el ensayo en placa de 96 pozos; se despegaron las amebas con solución Ringer fría y se realizó el recuento de trofozoítos viables. Para el ensayo en tubos Eppendorf; se centrifugó a 2000 rpm por 4 min, se descartó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento en 0.3 ml de solución Ringer, se realizó el recuento de trofozoítos viables y se guardaron para la siguiente etapa.

Los controles negativo (solución Ringer, como medio de mantenimiento y DMSO dilución 1:10 como placebo) y positivo (Metronidazol®) se incubaron con los trofozoítos en las mismas condiciones que los extractos de plantas.

Se calculó el porcentaje de viabilidad tomando como 100 por ciento el número de trofozoítos vivos en la solución Ringer y DMSO dilución 1:10.

ii. Ensayo Colorimétrico

Se basa en el desdoblamiento de la sal de Tetrazolio (MTT) al ser incorporada por los trofozoítos viables de *E. histolytica* tratados con los extractos de plantas, la cual es liberada produciendo un compuesto cromógeno que puede dar lectura de absorbancia en un espectrofotómetro a 570 nm. Un aumento de absorbancia indica un contenido mayor de amebas viables.

Los tubos Eppendorf utilizados en el ensayo por recuento de trofozoítos se centrifugaron nuevamente a 2000 rpm por 4 min, se descartó el sobrenadante y se le agregó al sedimento 1 ml de MTT, se incubó 4 h a 37°C, se centrifugaron a 2000 rpm por 4 min, se descartó el sobrenadante y el sedimento se lavó con PBS, luego se agregó 1 ml de alcohol isopropílico acidificado al 0.04 por ciento con ácido clorhídrico concentrado. Se leyó el sobrenadante en un espectrofotómetro a 570 nm. Se comparó la viabilidad con el aumento de absorbancia.

Se consideró un resultado positivo cuando el extracto produjo una inhibición de crecimiento del 50 por ciento comparándolo con los controles positivo y negativo.

Cada ensayo se realizó por triplicado y se repitió 7 veces en diferentes días.

2. Diseño Estadístico

a. Tipo de estudio: Experimental

Diseño totalmente al azar: La asignación de los tratamientos a las unidades experimentales fue totalmente aleatorizado.

b. Número de grupos o tratamientos (T): 7 (con 3 dosis cada uno: 1, 0.5 y 0.250 mg/ml)

1. Control negativo (solo solución de mantenimiento)
2. Control positivo (Metronidazol®)
3. Grupo con T1 (planta: *Solanum americanum*)
4. Grupo con T2 (planta: *Psidium guajava*)
5. Grupo con T3 (planta: *Rhizophora mangle*)
6. Grupo con T4 (planta: *Annona reticulata*)
7. Grupo con T5 (planta: *Tridax procumbens*)

c. Unidades experimentales: Cultivo de amebas

- i. Respuesta a medir: Recuento de trofozoitos de *E. histolytica* vivos y muertos
- ii. Número de réplicas: 7 por grupo

D. Análisis estadístico:

Variable. Respuesta: Binomial, los ensayos prueban que existe diferencia significativa entre tratamientos donde las respuestas medias fueron: 1. Positiva si la planta destruyó a los trofozoitos de *E. histolytica* y 2. Negativa si la planta no demostró ningún efecto nocivo sobre los trofozoitos.

VII. RESULTADOS

A. Ensayos de solubilidad

1. Solubilidad de extractos vegetales

Tabla No. 2
Solubilidad de Extractos Vegetales

Planta	Extracto	Solubilidad		
		A	E *	D*
<i>P. guajava</i>	acuoso	+	⊛	⊛
	etanólico	-	-	-
<i>R. mangle</i>	acuoso	+	⊛	⊛
	etanólico	-	-	+
<i>S. americanum</i>	acuoso	+	⊛	⊛
	etanólico	-	-	+
<i>A. reticulata</i>	acuoso	+	⊛	⊛
	etanólico	-	-	+
<i>T. procumbens</i>	acuoso	+	⊛	⊛
	etanólico	-	-	+

*A, Agua desionizada estéril, E, Etanol al 70%, D, DMSO dil 1:10

⊛ no fue ensayada su solubilidad en ese disolvente

+ solubilidad total

- insoluble

2. Solubilidad del Metronidazol® (control positivo)

El compuesto es soluble en agua. Se preparó una solución 1mM (8mg/50 ml)

Se observó que el diluyente de los extractos etanólicos DMSO dil 1:10 no es tóxico para los trofozoítos de *E. histolytica*. No hay ninguna variación en el recuento de los trofozoítos vivos ni en la medición colorimétrica. Además, hay un recuento equivalente al que se realizó con el otro control negativo la solución Ringer.

En todos los ensayos se observó la eliminación total de los trofozoítos con el control positivo Metronidazol®.

Al realizar el recuento de los trofozoítos viables se contaron únicamente los trofozoítos enteros, viables no dañados.

Los trofozoítos no viables se observaron totalmente destruídos.

Tabla No.3
Efecto de los extractos vegetales
sobre la viabilidad de los trofozoítos
de *E. histolytica*

Planta	Extracto	1	0.5	0.250 mg/ml
<i>S. americanum</i>	acuoso	+	+	+
	etanólico	-	-	-
<i>P. guajava</i>	acuoso	-	-	-
	etanólico	-	-	-
<i>R. mangle</i>	acuoso	-	-	-
	etanólico	-	-	-
<i>A. reticulata</i>	acuoso	-	-	-
	etanólico	-	-	-
<i>T. procumbens</i>	acuoso	-	-	-
	etanólico	-	-	-

+ Actividad contra viabilidad de los trofozoítos de *E. histolytica*

- No se observó ninguna actividad sobre la viabilidad de los trofozoítos de *E. histolytica*

VIII. DISCUSION DE RESULTADOS

En un principio la solubilidad de los extractos acuoso y etanólico de las cinco plantas fue probada en agua desionizada estéril. Luego, los extractos que no fueron solubles en agua, pasaron a la segunda etapa en la que fue probada su solubilidad en etanol, como ninguno presentó una solubilidad completa, se realizó la tercera etapa que fue la prueba de solubilidad con DMSO diluido 1:10 con agua desionizada estéril, el cual fue un disolvente adecuado para el resto de los extractos.

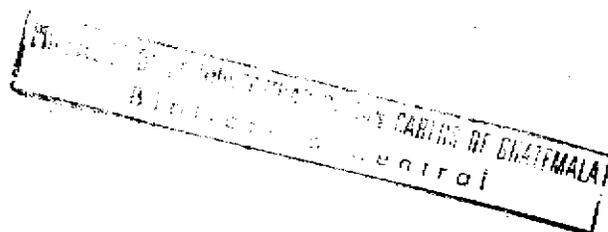
La viabilidad de los trofozoítos de *E. histolytica* no fue afectada por los extractos de las plantas *P. guajaba*, *R. mangle*, *A. reticulata* y *T. procumbens*. Sin embargo, el extracto acuoso de *S. americanum* en las 3 concentraciones si produce efecto dañino sobre la viabilidad de los mismos. Este efecto fue observado en los 7 ensayos realizados en diferentes días, y por los 3 métodos probados; por lo que se considera reproducible. Con los otros extractos se observó que en el segundo y tercer ensayo hubo un efecto parcialmente tóxico pero no hubo correlación con los demás ensayos, por lo que se asume que el único extracto que posee actividad tóxica sobre la viabilidad de los trofozoítos es el extracto acuoso de *S. americanum* por presentar en los 3 métodos utilizados la misma tendencia.

Al comparar los resultados obtenidos entre los 3 métodos se puede demostrar que el método colorimétrico es el más rápido y sencillo de acuerdo a los ensayos realizados por otros investigadores como Cedillo-Rivera, A. Ramírez y O. Muñoz (67). Los métodos de

cuantificación por medio de la cámara de Neubauer son más largos pero también demuestran gran reproducibilidad aún comparándolos con el ensayo colorimétrico.

De acuerdo con las 3 metodologías convenidas se pudo establecer el bioensayo y demostrar la actividad amebicida *in vitro* de los diez extractos de las cinco plantas usadas en el tratamiento de la amebiasis.

Estadísticamente, los resultados del estudio dieron una respuesta binomial en la que se acepta la hipótesis convenida, ya que hubo un resultado en el que se evidenció una respuesta diferente.



X. CONCLUSIONES

1. La viabilidad de los trofozoítos de *E. histolytica* CEPA HM1:IMSS es afectada por el extracto acuoso de la planta *Solanum americanum*.
2. El extracto acuoso de *Solanum americanum* presenta actividad contra los trofozoítos de *Entamoeba histolytica* a concentraciones de 1, 0.5 y 0.250 mg/ml en ensayos *in vitro* incubados a 37°C durante 24 h.
3. Los ensayos realizados concluyen que el método más adecuado para medir la viabilidad de los trofozoítos de *E. histolytica* es el método colorimétrico con sal de tetrazolio (MTT), por ser rápido, sencillo y reproducible.
4. El modelo experimental fue efectivo en la demostración de la actividad amebicida *in vitro* del extracto acuoso de la planta *Solanum americanum*.

X. RECOMENDACIONES

1. Seguir investigando el extracto acuoso de *Solanum americanum* para elucidar su molécula activa y su posible toxicidad contra células de mamífero, para poder realizar ensayos preclínicos y clínicos como una opción terapéutica.
2. Es importante continuar el estudio con diferentes plantas para seguir en búsqueda de un posible compuesto con actividad amebicida.

XI. BIBLIOGRAFIA

1. Jensen JB. *In vitro* Cultivation of Protozoan Parasites. Boca Ratón: CRC Press Inc, 1983. 297p. (p.65-89)
2. Petersdorf RG *et al.* Principios de Medicina Interna. 6ed. México: McGraw-Hill, Vols 2, Vol 1. 1752p. (p.1649-1655)
3. Brown H. Parasitología Clínica. 3ed. México: Nueva Editorial Interamericana, 1985. 362p. (21-41)
4. Steele JH. Handbook Series in Zoonoses. Boca Ratón: CRC Press Inc, Vols 2, Vol 1, 1985. 361p. (21-41)
5. Berkow R, Fletcher AJ, Cochir B. El Manual Merck. 8ed. México: Ediciones Doyma, 1989. XXXII+2944p. (p.218-255)
6. Jawetz E *et al.* Microbiología Médica. 13ed. México: Manual Moderno, 1990. 617p. (p.322-325)
7. Markell K, Vogt N. Parasitología, diagnóstico, prevención y tratamiento. 5ed. México: El Manual Moderno, 1984. 429p. (p.20-38)
8. Aguilar F. Parasitología Médica. Guatemala: Litografía Delgado, 1987. 212p. (135-137)
9. Patterson G. *et al.* Serologic testing for amoebiasis. Gastroenterology 1980;78: 136-141
10. Sargeant PH. "*Entamoeba histolytica*" is complex of two species. J Trop Med & Hyg. 1922;2: 348

11. Paredes ME. Obtención de antígeno amebiano a partir de cultivo axénico de *Entamoeba histolytica* y estudios preliminares para estandarización del método ELISA. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1991. 58p. (p.9-10)
12. Acevedo M. Elementos de patología clínica. Guatemala: Editorial Universitaria, Vols 2, Vol 1, 1993. 240p. (31-34)
13. Carroll F, Farr P, Clifton J. Clinical Parasitology. United States: Lea & Feriger, 1986. 890p. (217p.)
14. Alkan W *et al.* The clinical syndrome of amebic abscess of the left lobe of the liver. Unites States: Science, 1961. 315p. (p.117-119)
15. Robinson G. The laboratory diagnosis of human parasitic amoeba. J Trop Med & Hy. 1968; 2:285-294
16. Omar MS, Awad ME, Al-Madani AA. Giardiasis and Amoebiasis Infections in three Saudi Closed communities. J Trop Med & Hy. 1991;2: 57-59
17. Arbo A *et al.* La *Entamoeba histolytica* inhibe el estadio respiratorio de los polimorfonucleares. Arch Invest Med. 1990;4: 57-61
18. Anaya F, Sabanero G, Arias S. Use of Wright's to identify *Entamoeba histolytica* trofozoites in faeces. J Trop Med & Hy. 1989;2: 35-36
19. Cáceres A, Logemann H, Samayoa B. Plantas de uso medicinal en Guatemala, tamizaje de la actividad antimicrobiana. Guatemala: Universidad de San Carlos Guatemala, 1989. 10p. (p.8)

20. Sheetan DJ, Bottone EJ, Pauletick K, Heath MC. *Entamoeba histolytica*: Efficacy of Microscopic Cultural and Serologic Techniques for Laboratory Diagnosis. *J Clin Microb.* 1979;10: 128-133
21. Sargeunt P, Williams J. The morphology in culture of the intestinal amoeba of the man. *J Trop Med & Hy.* 1992;4: 465-472
22. Benham R, Havens Y. Some cultural properties of *Entamoeba histolytica* *J Inf Dis.* 1988;102: 121-142
23. Shetty N *et al.* Age-specific sero prevalence of amebiasis and giardiasis in Southern Indian infants and children. *J Trop Med & Hy.* 1992;38: 57-62
24. Diamond L. *Entamoeba histolytica* shaudinn, from xenic to axenic cultivation. *J Protoz.* 1986;1: 1-5
25. De La Torre M *et al.* Cultivos axénicos de *Entamoeba histolytica*. *Arch Invest Med.* 1986;7: 165-172
26. Argüello R *et al.* Evaluación de una metodología de inmunoblot para la detección de antígenos relevantes de *Entamoeba histolytica* por anticuerpos inducidos en amebiasis humana. *Arch Invest Med.* 1990;4: 60-69
27. Rangel A, Espinoza G, Muñoz AJ, Pascual Ch. Antígenos axénicos y polixénicos de *Entamoeba histolytica* en el diagnóstico de la amebiasis humana. *Arch Invest Med.* 1990;5: 60-64
28. Botero D. Rate of Growth of *Entamoeba histolytica* in different culture media. *J Trop Med & Hy.* 1986;55: 539-546

29. Eileen M. Laboratory Diagnosis of Amebiasis. *Diag of Imp Paras Dis.* 1991;4: 829-858
30. Meerovitch E, Lachance P. A method for separating amoebic cyst from mixtures of trophozoites and cysts in cultures. *J Zool.* 1987;39: 322
31. England P, Sher A. The biology of parasitism, a molecular and immunological approach. United States: Alan R Inc, 1988. 544p. (p.41-60)
32. Santa Cruz M *et al.* Evaluación de la inmunidad celular en pacientes con absceso hepático amebiano utilizando la prueba de inhibición de la migración de los leucocitos (LIF). *Arch Invest Med.* 1986;17: 319-325
33. Krupp Y. Antibody responses in intestinal and extraintestinal amoebiasis. *J Trop Med & Hy.* 1970;2: 51-54
34. Shetty N, Nagpal S, Schoedereder H. Detección de anticuerpos IgG, IgA, Ig M e IgE en amebiasis invasora en zona endémicas. *Arch Invest Med.* 1990;3: 19
35. Beltrán F, Giagi F. Anticuerpos contra *Entamoeba histolytica* a distintas edades. México: Hospital Infantil de México, Doc. Tec. No. 4, 1962. 505p. (441-445)
36. Joyce P, Raudin J. Antigens of *Entamoeba histolytica* recognized by immune sera from liver absces patients. *J Trop Med & Hy* 1988;3: 74-80
37. Khan AZ, Meerovitch E. Studies on the purification of *Entamoeba histolytica* antigens by gel filtration. II. The Antigenic Properties of the Isolated Fractions. *Am of Microb.* 1980;16: 493-49

38. Rashidul H *et al.* Diagnosis of Pathogenic *Entamoeba histolytica* infection using a stool ELISA based on monoclonal antibodies to the Galactosa-Specific-Adhesin. *J Inf Dis.* 1992;167: 247-249
 39. Kollaritsh H, Stemberger H, Bander M, Wiedermann G. Suitability of the Phase Sistem for discrimination of *Entamoeba histolytica* isolaates by isoenzyme isoelectrofocusing. *J Trop Med.* 1989;6: 211-212
 40. Bhutany K, Sharma G, Ali M. Plants bassed antiamebic drugs; Part I. Antiamoebic activity with emetine. *Plant Med.* 1987;53: 120-122
 41. Spice W, Ackers J. The Amoeba Enigma. *Parasitology Today.* 1992;8: 403-405
 42. Martínez M *et al.* Eficacia de los zimodemos de la *Entamoeba histolytica*. Una técnica para el estudio y reporte epidemiológico de nuevos métodos en México. *Arch Invest Med.* 1990;3: 203-206
 43. Sánchez M *et al.* Estudios de la infección por *Entamoeba histolytica* en humanos por medio de zimodemos, hemaglutinación indirecta e inmunoelectrotransferencia. *Arch Inves Med.* 1990;2: 110-115
 44. Litter M. Quimioterapia de la Amebiasis. *Farmacología Experimental y Clínica.* 7ed. Argentina: Editorial el Ateneo, 1986. 1887p. (1674-1687)
 45. Owen R *et al.* *Gastroenterology Disease. Amebiasis.* 4ed. Boca Ratón: CRC Press Inc, 1991. 2107p. (1155-1164)
 46. Petri W, Hill D, Silvestein F. *Gastroenterology.* United States: JB Lippincoh Company, 1991. 1130p. (2103-2107)
-

47. Plor J. Amebiasis. Principles of Internal Medicine. 12 ed. United States: McGraw-Hill, 1991. 1130p. (778-782)
48. Aguilar J, Villegas C. Tratamiento de la Amebiasis Intestinal con Quinfamida® en un solo día. *Inv Med Int.* 1991;18: 16-1
49. Romero R. Valoración Terapéuta de la Quinfamida® en Amebiasis Intestinal con un solo día. *Inv Clin Lat Am.* 1991;11: 1-3
50. Videau D, Niel G, Siboulet A. Secnidazol® Bri. *J Ven Dis.* 1978;54: 77-80
51. Latanio A. Efficacy of a single dose of Secnidazol® in the treatment of acute and chronic amoebiasis. *J Trop Med.* 1988;91: 201-204
52. Alison T, Keene A, Phillipson D. *In vitro* Amoebicidal Testing of natural Products; Part I. Methodolgy. *Plan Med.* 1988;65: 29-33
53. Alison T, Keene A, Phillipson D. *In vitro* Amoebicidal Testing of Natural Products; Part II. Alkaloids Related to Emetine. *Plan med.* 1989;32: 77-81
54. Leeuwenberg J. Medicinal and Poisonous Plants of the Tropic. Boca Ratón: CRC Press Inc, 1987. 123p. (70-78)
55. Colin W, Wright A, Melanie O. Use of Microdilution To Assess *in vitro* Antiamoebic Activities of *Brucea javanica* fruits, *Simarouba amara* stem, and a Number of Quassinoids. *Antimic Agen Chemo.* 1988;23: 70-78
56. Colin W *et al.* Antiamoebic and Antiplasmodial Activities of Alkaloids Isolated from *Strychnos usambarensis*. *Plant Med.* 1991;57: 337-340

57. Colin W *et al.* Natural Products and the Development of Selective Antiprotozoal Drugs. *Res Phy.* 1990;32: 122-126
58. Ansari M. Ahmad S. Screening of some Medicinal Plants for Antiamoebic Action. *Res Phy.* 191;25: 56-60
59. Kaneda Y. *et al.* *In Vitro* effects of Berberine Sulphate on the growth and Structure of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Trichomonas vaginalis*. *Trop Med Par.* 1991;85: 417-425
60. Heinrich M *et al.* Parasitological and Microbiological evaluation of Mixed Indian Medicinal Plants (México). *J Ethnopharmacol.* 1992;36: 81-85
61. Youvraj R *et al.* The amoebic effect of a crude drug formulation of herbal extracts against *Entamoeba histolytica in vitro* and *in vivo* *J Ethnopharmacol.* 1995;45: 43-52
62. Ghosal S *et al.* Antiamoebic activity of *Piper longum* fruits against *Entamoeba histolytica in vitro* and *in vivo*. *J Ethnopharmacol.* 1996;45: 167-170
63. Cáceres A. *Plantas de Uso Medicinal en Guatemala.* Guatemala: Editorial Universitaria USAC, 1996. 402p. (194-315)
64. Strandley P, Steyer M. *Flora of Guatemala Fieldiana: Botany.* Vols 12, Vol. 6,9, 1949. 440p. (172.174)
65. *British Herbal Pharmacopeia* 1989. Bournemouth, 164p. (30-33)
66. Tattersfield & Porter, 1940; Prabhu & Jhon; Porgacs *et al.*, 1981; Bupta; Islam 1984.

67. Cedillo R *et al.* A Rapid Colorimetric Assay with the Tetrazolium Salt MTT and Phenazine Methosulfate (PMS) for Viability of *Entamoeba histolytica*. Arch Med Res. 1992;23: 59-61

XII. ANEXOS

Anexo No.1

Fuente: Brown H. Parasitología Clínica. 3ed. México: Nueva Editorial Interamericana, 1985. 362p. (p. 21)

DIAGRAMA

ESTADIO INFECTIVO

DEL CICLO DE VIDA

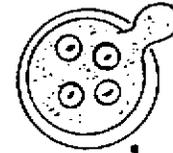
Puede INADIR Y

MULTIPLICARSE (abscesos en el Hígado, pulmones, etc.)

quistes maduros INGERIDOS

en ileo inferior

DESENQUISTA



MEDIO EXTERNO

MEDIO INTERNO (HOMBRE)

en el lumen del colon

SE MULTIPLICA

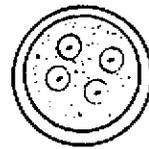


regresan

pueden invadir la pared del colon Y MULTIPLICARSE

ESTADIOS DE DIAGNOSTICO (en las heces)

maduro



algunos trofozoitos SE ENQUISTAN

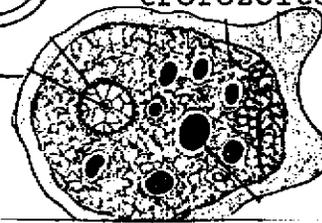
inmaduro



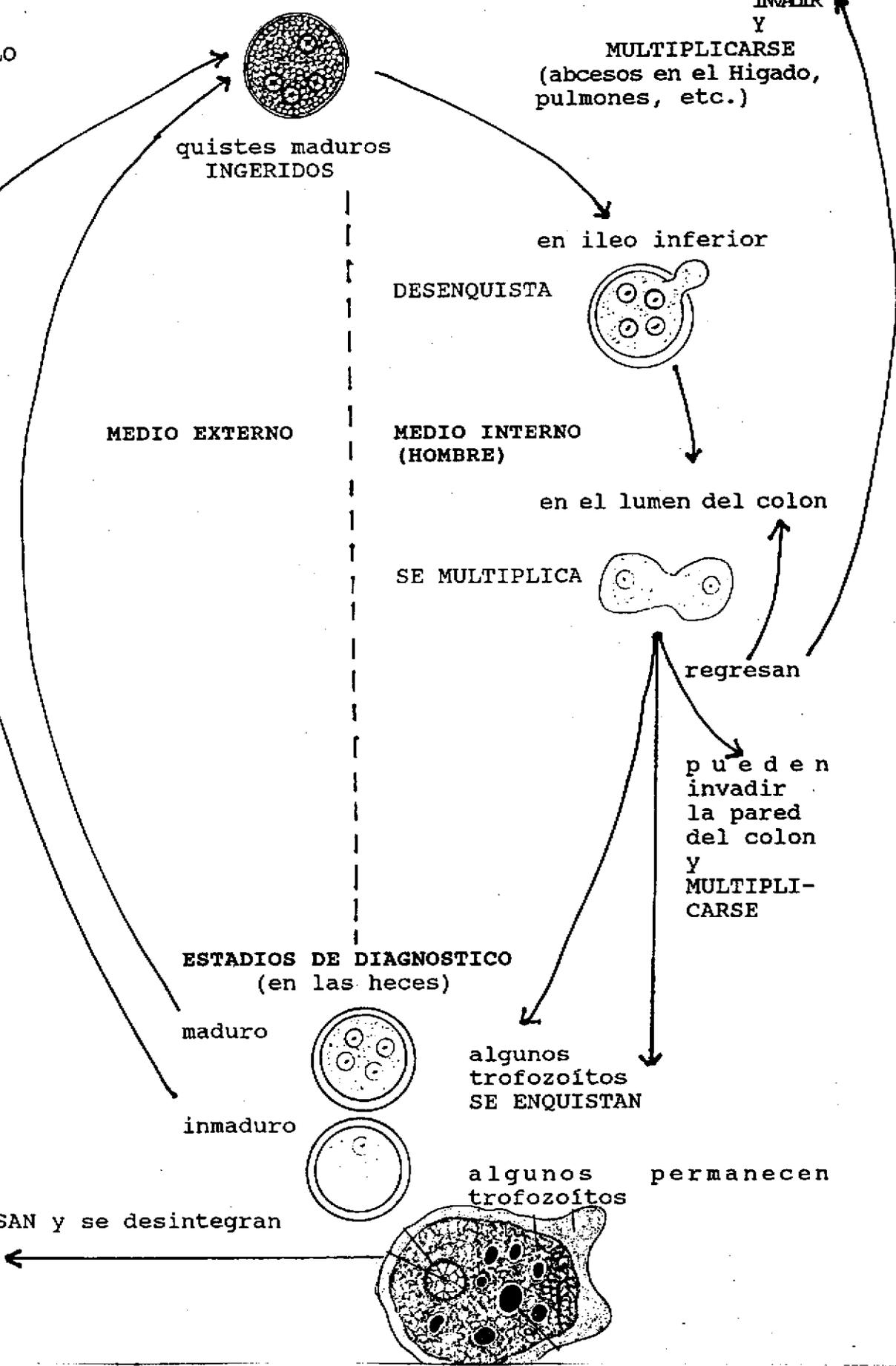
algunos trofozoitos

permanecen

PASAN y se desintegran



madura





MYRA ELIZABETH CUSTODIO CRUZ
AUTORA



LIC. MARIA BEATRIZ LOPEZ CASTELLANOS
ASESORA



LIC. ARMANDO CACERES ESTRADA
ASESOR



LIC. HEIDI ELKE LOGEMANN LIMA
DIRECTORA



LIC. HADA MARIETA ALVARADO BETETA
DECANA