

UNIVERSIDAD REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES
UNIANDES



FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL GRADO
ACADÉMICO DE MAGISTER EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA

TEMA:
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO
ALCOHÓLICO Y EXTRACTO ETÉREO DE *Annona muricata* FRENTE A
***Pseudomona aeruginosa*.**

AUTORA: QF. MERCHÁN PEÑAFIEL MAYRA STEFANÍA

ASESORES: Dr. VITERI RODRÍGUEZ JUAN ALBERTO
ING. OÑA CISNEROS FABIÁN DAVID, MSC PHD (c)

AMBATO – ECUADOR
2018

APROBACIÓN DE LOS ASESORES DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

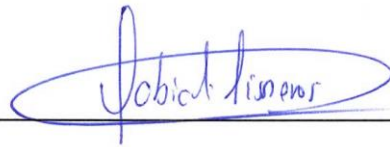
CERTIFICACIÓN:

Quienes suscriben legalmente **CERTIFICAN QUE:** el presente Trabajo de Titulación realizado por la **QF. Merchán Peñafiel Mayra Stefanía**, Maestrante del Programa de Maestría en Farmacia Clínica y Hospitalaria, Facultad de Ciencias Médicas, con el tema **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO ALCOHÓLICO Y EXTRACTO ETÉREO DE *Annona muricata* FRENTE A *Pseudomona aeruginosa*”**, ha sido prolijamente revisado, y cumple con todos los requisitos establecidos en la normativa pertinente de la Universidad Regional Autónoma de los Andes - UNIANDES-, por lo que aprueban su presentación.

Ambato, Mayo del 2018



Dr. Viteri Rodríguez Juan Alberto
ASESOR

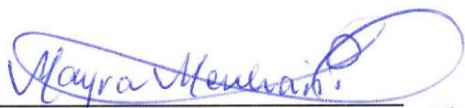


Ing. Oña Cisneros Fabián David. MSc
ASESOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, **Mayra Stefanía Merchán Peñafiel**, maestrante del programa de Maestría de Farmacia Clínica y Hospitalaria, Facultad de Ciencias Médicas, declaro que todos los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, previo a la obtención del grado académico de **MAGÍSTER EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA**, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas, por lo que son de mi exclusiva responsabilidad.

Ambato, Mayo del 2018



Mayra Stefanía Merchán Peñafiel

C.I. 0927308999

Autora

DERECHOS DEL AUTOR

Yo, **Mayra Stefanía Merchán Peñafiel**, declaro que conozco y acepto la disposición constante en el literal d) del Art. 85 del Estatuto de la Universidad Regional Autónoma de los Andes, que en su parte pertinente dice: El patrimonio de la UNIANDES está constituido por...“La propiedad intelectual sobre las investigaciones, trabajos científicos o técnicos, proyectos profesionales y consultoría que se realice en la Universidad o por cuenta de ella...”

Ambato, Mayo del 2018



Mayra Stefanía Merchán Peñafiel

C.I. 0927308999

Autora

DEDICATORIA

El presente proyecto de investigación está dedicado a Dios, ya que gracias a él me ha dado la fuerza para continuar día a día y seguir formándome en mi vida profesional.

También está dedicado con todo mi amor y cariño a mi esposo, a mis padres Alejandro y Cristina, a mis hermanos, por el sacrificio, apoyo incondicional y las palabras de aliento y de amor que tuvieron siempre hacia mí, por siempre impulsarme y ayudarme a continuar en mi vida tanto personal como profesional.

AGRADECIMIENTO

Debo agradecer de manera especial a DIOS, porque gracias a su voluntad hoy puedo decir que he alcanzado una de mis metas a corto plazo.

Agradecer a mis tutores los Doctores; Juan Viteri y Fabián Oña, por su capacidad para guiar mis ideas siendo este un valor invaluable.

Sin duda alguna a mi apoyo fundamental en mi vida, mis padres, a quienes después de nuestro creador, les debo todo lo que tengo en la vida.

Quiero expresar también mi agradecimiento a mi esposo y mis hermanos, por su aporte y participación durante el desarrollo de este proyecto de investigación, destacando su disponibilidad y paciencia.

ÍNDICE GENERAL

PORTADA

APROBACIÓN DE LOS ASESORES DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

DERECHOS DEL AUTOR

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

RESUMEN

ABSTRACT

Introducción.....	1
Planteamiento del problema.....	3
Formulación del problema.....	3
Delimitación del problema.....	4
Objeto de investigación.....	4
Campo de acción.....	4
Identificación de la línea de investigación.....	4
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos.....	5
Hipótesis.....	5
Justificación del tema.....	5
Metodología.....	6
Resumen de la estructura de la tesis.....	6
Aporte teórico.....	6
Significación práctica.....	7
Novedad científica.....	7
CAPÍTULO I.....	8
1. Marco teórico.....	8
1.1. Las plantas medicinales.....	8
1.1.1. Plantas medicinales en el Ecuador.....	10
1.2. <i>Annona muricata</i>	12

1.2.1. Definición.	12
1.2.2. Descripción de la <i>Annona Muricata</i>	12
1.2.3. Descripción botánica.	13
1.2.4. Componentes químicos de la hoja de guanábana.	14
1.2.5. Ambiente y cultivos.	15
1.2.5.1. Condiciones agroecológicos.	15
1.2.5.2. Producción de guanábana en el Ecuador.	16
1.2.6. Uso medicinal de <i>Annona muricata</i>	16
1.2.7. Actividades biológicas.	17
1.2.7.1. Actividad antimicrobiana.	17
1.2.8. Posibles efectos secundarios del extracto de las hojas de guanábana...	18
1.3. Farmacognosia.	18
1.3.1. Concepto de farmacognosia.	18
1.3.2. Etimología.	18
1.3.3. Aspectos históricos de la farmacognosia.	18
1.3.4. Conceptos básicos empleado en farmacognosia.	19
1.3.5. Clasificación.	20
1.3.5.1. Farmacognosia general.	20
1.3.5.2. Farmacognosia especial.	20
1.3.6. Objetivos de la farmacognosia.	20
1.3.7. Ramas de la farmacognosia.	21
1.4. Fitoquímica.	21
1.4.1. Importancia de la fitoquímica.	21
1.4.2. Clasificación de la fitoquímica.	22
1.4.3. Metabolito primario o inmediato	22
1.4.4. Metabolitos secundarios	22
1.4.5. Tamizaje fitoquímico.	23
1.4.6. Técnicas de extracción.	23
1.4.6.1. Extracción mecánica.	23
1.4.6.2. Destilación.	24
1.4.6.3. Extracción con fluidos en condiciones supercríticas.	24
1.4.6.4. Extracción con disolventes.	24
1.4.6.5. Extracción con disolventes discontinuo.	24
1.4.6.6. Extracción con disolventes continuo.	25

1.4.7. Extracto etílico	25
1.4.8. Extracto etéreo.....	26
1.4.9. Extracto acuosos	26
1.5. Etnobotánica.....	27
1.5.1 Evaluación cuantitativa de la diversidad de especie.....	27
1.5.2. Índice de valor de uso (IVU)	27
1.5.3. Nivel de uso significativo (UST)	28
1.6. <i>Pseudomonas</i>	29
1.6. Antecedentes.....	29
1.6.1. El género <i>Pseudomonas</i>	30
1.6.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
1.6.3. Características.....	31
1.6.4. Habitat.	31
1.6.5. Importancia clínica.....	31
1.6.6. Infecciones causadas por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
1.6.6.1. Otitis externa.....	32
1.6.6.2. Las Neumonías.....	33
1.6.6.3. Infecciones oculares.	33
1.6.6.4. Meningitis.....	33
1.6.6.5. Infecciones por heridas quemaduras.....	33
1.6.7. Vialidad, propagación y transmisión.	33
1.6.8. Resistencia a los antibióticos.....	34
1.6.9. Uso clínico de Aminoglucósidos contra la <i>Pseudomona aeruginosa</i>	37
1.7. La <i>Pseudomona aeruginosa</i> en el Ecuador.....	37
1.8. Conclusiones del capítulo.....	38
CAPÍTULO II.	39
2. Marco metodológico y planteamiento de la propuesta.	39
2.1. Caracterización del sector.	39
2.1.1. Área de estudio.....	39
2.2. Descripción de la metodología de la investigación.	39
2.2.1. Tipo de estudio	39
2.3. Tipo de investigación.....	40
2.3.1. Investigación bibliográfica.....	40
2.3.2. Investigación de campo.....	40

2.3.3. Investigación experimental.....	40
2.4. Metodología, técnica e instrumentos.	40
2.4.2. Técnicas.	41
2.4.3. Instrumentos y reactivos.....	44
2.4.3.1. Material de laboratorio.	44
2.4.3.2. Equipos.....	44
2.4.3.3. Reactivos.	44
2.5. Elaboración de los Instrumentos de evaluación.....	45
2.5.1. Selección de Material Vegetal.....	45
2.6. Obtención de los extractos	47
2.6.1. Preparación del extracto alcohólico	47
2.7. Preparación de las concentraciones.....	50
2.8. Tamizaje Fitoquímico.....	51
2.8.1. Extracto alcohólico.....	51
2.8.2. Preparación del extracto Etéreo.....	54
2.9. Análisis microbiológico.....	56
2.9.1. Obtención de la cepa de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	56
2.9.2. Selección de la técnica Kirby – Bauer.....	56
2.9.3. Selección de Agar.....	57
2.9.4. Preparación de Mueller – Hinton.....	57
2.9.5. Procedimiento del Método Kirby-Bauer.	58
2.10. Conclusiones del capítulo.	59
CAPÍTULO III.	60
3. Análisis de resultados.....	60
3.1. Resultados de encuestas realizadas, estudio etnofarmacológico.....	60
3.1.1. Nivel de uso significativo (UST)	61
3.1.2. Índice de valor de uso.....	62
3.2. Porcentajes y edades de las personas encuestadas.....	63
3.3. Nivel de educación de los encuestados.....	64
3.4. Distribución porcentual del sexo de los encuestados.	65
3.5. Preguntas y resultados de las respuestas obtenidas en las encuestas.	65
3.6. Resultados generales.	70
3.7. Resultados del tamizaje fitoquímico de la hoja de <i>Annona muricata</i>	71
3.8. Extractos alcohólicos.	71

3.9. Extractos etéreos.....	72
3.10. Resultado general del tamizaje fitoquímico.	73
3.11. Preparación de las concentraciones.	74
3.12. Análisis estadístico.	76
3.13. Conclusiones del capítulo.	80
CAPITULO IV	81
4.1. Conclusiones generales	81
4.2. Recomendaciones.....	82

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de la Guanábana.	12
Tabla 2. Características principales de la planta y las frutas de la guanábana.	14
Tabla 3. Componentes químicos de la hoja	15
Tabla 4. Propiedades medicinales de la guanábana según sus partes.....	17
Tabla 5. Principales metabolitos vegetales primario y secundarios	23
Tabla 6. Ensayos a realizar para encontrar los metabolitos secundarios.	25
Tabla 7. Esquemas de ensayos en el extracto etéreo.....	26
Tabla 8. Esquema de ensayos en extracto acuoso.	26
Tabla 9. Ensayos en el extracto alcohólico	51
Tabla 10. Ensayos en el extracto etéreo	54
Tabla 11. Nivel de uso significativo de las plantas con fines medicinales	61
Tabla 12. Índice de valor de uso de las plantas con fines medicinales	63
Tabla 13. Resultados generales de la encuesta.....	70
Tabla 14. Metodología de interpretación de resultados.....	71
Tabla 15. Resultados del tamizaje fitoquímico, extractos alcohólicos	72
Tabla 16. Resultados del tamizaje fitoquímico, extractos etéreos	72
Tabla 17. Resultados del tamizaje fitoquímico, extractos alcohólico y etéreo ..	73
Tabla 18. Promedio de halo de inhibición en el extracto alcohólico	75
Tabla 19. Promedio de halo de inhibición en el extracto etéreo	75
Tabla 20. Análisis de varianza del extracto alcohólico	76
Tabla 21. Análisis de varianza del extracto etéreo	78

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Bacteria <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30
Ilustración 2. Perfiles de sensibilidad a antibióticos en UCI.....	36
Ilustración 3. Perfiles de sensibilidad a antibióticos en no UCI.....	36
Ilustración 4. Ubicación del recinto Santa Bárbara, cantón Paján	46
Ilustración 5. Hojas recolectadas de <i>Annona muricata</i>	46
Ilustración 6. Hojas de <i>Annona muricata</i> trizadas.	48
Ilustración 7. Secado de hojas en estufa.....	48
Ilustración 8. Maceración de la muestra	49
Ilustración 9. Proceso general de selección, recolección limpieza y estabilización de la muestra	49
Ilustración 10. Muestras obtenidas de alcohol etílico y etéreo	50
Ilustración 11. Cantidad de personas que han utilizado plantas medicinales...	60
Ilustración 12. Nivel de uso de las plantas utilizadas en porcentajes	62
Ilustración 13. Índice de valor de uso de las plantas utilizadas	63
Ilustración 14. Porcentajes y edades de las personas encuestadas.	64
Ilustración 15. Nivel de estudios de las personas encuestadas	64
Ilustración 16. Distribución porcentaje del sexo de los encuestados.....	65
Ilustración 17. Resultados de la pregunta 1	65
Ilustración 18. Resultados de la pregunta 2	66
Ilustración 19. Resultados de la pregunta 3	66
Ilustración 20. Resultados de la pregunta 4	67
Ilustración 21. Resultados de la pregunta 5	67
Ilustración 22. Resultados de la pregunta 6	68
Ilustración 23. Resultados de la pregunta 7	68
Ilustración 24. Resultados de la pregunta 8	69
Ilustración 25. Resultados de la pregunta 9	69
Ilustración 26. Resultados generales de encuesta realizada.....	70
Ilustración 27. Coeficientes estandarizados del extracto alcohólico	76
Ilustración 28. Factor de dilución.....	77
Ilustración 29. Coeficientes estandarizados del extracto etéreo.....	78
Ilustración 30. Factor de dilución.....	79

RESUMEN

La medicina tradicional es una fuente de gran valor científico y ofrece numerosas posibilidades de aprovechamiento, las plantas poseen una gran riqueza química, metabolitos primarios y secundarios que le permiten crecer, reproducirse y sobrevivir. El presente proyecto de investigación se basó en tres fases, el estudio etnofarmacológico, la obtención de extractos alcohólicos y etéreos, y el análisis microbiológico de las hojas de *Annona muricata* contra la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*.

Se evaluó una encuesta sobre el uso de las plantas medicinales en la provincia de Manabí, cantón Paján, donde se obtuvo el nivel de uso significativo del 30% y un índice de valor de uso igual a 0,05; lo cual cumple con la aceptación cultural para ser tomada en cuenta en tratamientos de problemas en la salud de una población.

Se realizó la marcha fitoquímica para la obtención de los metabolitos secundarios, obteniendo como resultado en el extracto alcohólico flavonoides alta intensidad de reacción y en el extracto etéreo terpenoides en una intensidad moderada de reacción.

El estudio microbiológico se evaluó por el método de difusión en agar, donde se utilizó la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* para evaluar la posible actividad antibacteriana in vitro, sin obtener halos de inhibición en los extractos alcohólico y etéreo en las concentraciones utilizadas, que fueron al 25%, 50%, 75% y 100%.

Al utilizar el ANOVA para la estadística, se determinó un $p < 0,0001$ para los extractos alcohólico y etéreo de la *Annona muricata*, comprobándose evidencia de efecto antimicrobiano frente a la *Pseudomonas aeruginosa*, aceptando la hipótesis alterna de la investigación

Palabras claves: *Annona muricata*, *Pseudomonas aeruginosa*, extracto etéreo, extracto alcohólico, halos de inhibición

ABSTRACT

Traditional medicine is a source of great scientific value and offers numerous possibilities of use, plants possess a wealth of chemistry, primary and secondary metabolites that allow them to grow, reproduce and survive. This research project is based in three phases, the ethnopharmacological study, the production of alcoholic and ethereal extracts, and the microbiological analysis of the leaves of *Annona muricata* against the strain of *Pseudomonas aeruginosa*.

It was evaluated a survey on the use of medicinal plants in the Province of Manabí, in the City of Paján, where it was possible to get the 30% of significant use of and an index of use value equal to 0.05; which meets the cultural acceptance to be taken into account in treatment of problems in the health of a population.

The phytochemical gear for the obtaining of the secondary metabolites was carried out, getting, as a result, a high level of flavonoids in the alcoholic extract and a moderate level of terpenoids in the ethereal extract

The microbiological study was evaluated by the agar diffusion method, where the strain of *Pseudomonas aeruginosa* was used to evaluate the possible antibacterial activity in vitro, without obtaining halos of inhibition in the alcoholic extracts and ethereal in the concentrations used, which were the 50%, 25%, 75% and 100%.

When using the ANOVA for the statistics, it was determined a $p < 0.0001$ for ethereal and alcoholic extracts of *Annona muricata*, revealing evidence of antimicrobial effect against *Pseudomonas aeruginosa*, accepting the alternative hypothesis of the research.

Introducción

La Organización mundial de la salud (OMS) indica que La medicina tradicional natural es un conjunto de los conocimientos, habilidades basadas en teorías, creencias, y experiencias indígenas de las diversas culturas, ya sea que fueran explicables o no, utilizadas para el buen mantenimiento de la salud, así como para la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades físicas y mentales. (1)

Durante los últimos años, los sistemas tradicionales de medicina son un tema de gran relevancia, la OMS indica que una gran parte de la población depende de las plantas medicinales naturales para satisfacer la atención primaria de salud, las hierbas medicinales han mantenido la popularidad por razones culturales y económicas. (2)

En la actualidad hay un incremento en el consumo de frutas y hortalizas, ya que el hombre desde sus tiempos ancestrales fue creando condiciones con el objetivo de tratar enfermedades y mejorar su calidad de vida, motivado por una creciente preocupación hacia una dieta más equilibrada y una mayor conciencia de la importancia de los hábitos nutricionales humanos en los problemas de salud y longevidad de las comunidades. (3)

En varios países del mundo, la población aun hace uso a la medicina tradicional, en la que incluye las plantas para su tratamiento y alivio de diversos síntomas. En diversas comunidades rurales de África partes de Asia, América Central y del Sur, donde la medicina natural tradicional es especialmente empleada, las plantas y el variado conocimiento sobre su aplicación y utilización hacen que sean accesibles y asequibles. (4)

En otros países, la variedad de tratamientos tradicionales basados en las plantas se ha integrado cada vez más en los sistemas de salud convencionales. Por ejemplo, en diciembre de 2016, el gobierno chino anunció su objetivo de integrar la medicina tradicional China (MTC) en su sistema de salud para 2020, reconociendo una mejor comprensión científica de las plantas y su valor en el tratamiento de condiciones crónicas.

En Europa, en la actualidad también hay una tendencia hacia el uso de medicinas tradicionales basadas en plantas junto con medicamentos farmacéuticos; en Alemania, se calcula que el 90% de la población usa hierbas medicinales y la industria del tratamiento con medicinal natural va creciendo a través de los años.

En el año 2000, se invirtió US \$ 17 mil millones en los EE. UU, en plantas medicinales tradicionales. En 2003, la Organización Mundial de la Salud calculó que el mercado mundial anual de plantas medicinales tenía un valor US \$ de 60 mil millones de dólares y para 2012 la industria mundial en medicina tradicional solo tenía un valor de US \$ 83 mil millones. Esta inversión cubre la necesidad de más investigación que evalúa las propiedades medicinales de las plantas, así como su potencial como nuevas drogas.

La Guanábana es un árbol de fruta tropical que pertenece a la familia *Annonaceae*, su nombre científico es *Annona muricata* y se encuentra distribuida en toda la América tropical; en efecto, se la puede observar en áreas cálidas de Ecuador, Brasil, Colombia, Venezuela, América central, Las Antillas y el Sur de México.

Las hojas de *Annona muricata* se han utilizado tradicionalmente para tratar dolores de cabeza, hipertensión, tos, asma y como sedante. En un modelo de papiloma cutáneo en ratones, el extracto de hojas de *A. muricata* fue capaz de suprimir la iniciación tumoral y la promoción de los mismos inclusive a bajas dosis, demostró propiedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas y antiinflamatorias.

Se han realizado estudios, para realizar procedimientos en endodoncia, y poder determinar el efecto antimicrobiano de extractos de agua de hojas de *Annona muricata* frente en *Enterococcus faecalis*, el extracto mostró una efectividad similar a la del hipoclorito de sodio en cual se concluye que *Annona muricata* puede desarrollarse como una alternativa al hipoclorito de sodio para los irrigantes del conducto radicular.

El éxito del tratamiento endodóntico depende de la desinfección completa de los conductos radiculares, los irrigantes del conducto radicular tienen un papel

principal en la desinfección completa de los conductos radiculares. Los irrigantes químicos del conducto radicular son más o menos tóxicos para el entorno oral.

Las hojas de *Annona muricata* son de forma oblongo-elípticas a oblongo-obovadas, de 6 a 12 cm de largo por 2.5 a 5 cm de ancho, glabras, estas se deben seleccionar para realizar el proceso de tamizaje fitoquímico y medir la actividad antimicrobiana de los extractos alcohólicos de las hojas secas.

Planteamiento del problema

Las bacterias gramnegativas multirresistentes es una problemática mundial que se encuentra relacionada con las infecciones que causan, la producción de betalactamasas de espectro extendido provoca un serio problema en la actualidad de resistencia entre enterobacterias, el organismo clínicamente relevante es la *Pseudomonas aeruginosa*.

El agente causal habitual en las infecciones del tracto urinario es *Pseudomonas aeruginosa*, la resistencia a los fármacos se está convirtiendo en uno de los obstáculos principales para su control y con la aparición de cepas multirresistentes a los antibióticos normalmente utilizados se ve la necesidad del uso de fitofármacos.

En las zonas tropicales el conocimiento de las plantas medicinales es milenario y ha trascendido por generaciones gracias a la tradición y es donde se encuentra naturalmente la planta de *Annona muricata*.

El uso de la planta como medicinal natural no está regulado, por lo que su consumo no tiene garantía, seguridad, calidad y eficacia científicamente comprobada.

Formulación del problema

¿Cuál será el efecto antimicrobiano de los extractos de aceite alcohólico y etéreo de la hoja de *Annona muricata* sobre la *Pseudomonas aeruginosa*?

Los consumidores y los profesionales de la salud necesitan hasta la fecha, información autorizada sobre la seguridad y eficacia de las alternativas terapéuticas basados en plantas, y evidencia científica si las hojas de *Annona muricata*, posee actividad antimicrobiana frente a la cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, al encontrarse una considerable concentración de taninos y terpenoides en su composición.

Delimitación del problema

El presente proyecto de investigación se llevara a cabo en tres provincias del Ecuador.

- Manabí, cantón Paján, en el recinto Santa Bárbara se realizará la recolección de las hojas de *Annona muricata* y la encuesta etnofarmacológica
- Guayas, en el cantón Durán se realizara los análisis microbiológicos.
- Riobamba, en los laboratorios de la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo se realizarán las obtenciones de los extractos alcohólico y etéreo.

Objeto de investigación

Evaluar la actividad antimicrobiana de extracto alcohólico de hojas de *Annona muricata* frente al microorganismo (gramnegativo), *Pseudomonas*.

Campo de acción

Actividad antimicrobiana de extracto alcohólico de hojas de *Annona muricata* frente al microorganismo (gramnegativo), *Pseudomonas aeruginosa*.

Identificación de la línea de investigación

Estudios microbiológicos.

Objetivo general

Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto alcohólico y etéreo de las hojas de *Annona muricata* frente al microorganismo (gramnegativo), *Pseudomonas aeruginosa*.

Objetivos específicos

1. Determinar mediante el estudio etnofarmacológico el índice de valor de uso y el nivel significativo de las plantas medicinales del sector en estudio.
2. Obtener los extractos alcohólico y etéreo de las hojas de *Annona muricata*, y distinguir los metabolitos activos mediante la marcha fitoquímica.
3. Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto alcohólico y el extracto etéreo de la *Annona muricata* en la *Pseudomonas aeruginosa*.

Hipótesis

Hipótesis nula.

El extracto alcohólico y el extracto etéreo de *Annona muricata* no presentan efecto antimicrobiano frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

$$H_0: \mu = 0$$

Hipótesis alterna.

El extracto alcohólico y el extracto etéreo de *Annona muricata* presentan efecto antimicrobiano frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

$$H_1: \mu \neq 0$$

Justificación del tema

El hombre describe la cura de muchas enfermedades por plantas milagrosas, ya sean estas severas, agudas o críticas. Además su uso se ha incrementado considerablemente ocupando cada vez más espacio dentro de la atención de salud, cambiándola por la medicina ancestral.

El uso de las plantas como terapia medicinal ha adquirido una gran importancia durante los últimos años, debido a la práctica que se realiza en ciertas zonas rurales del país, siendo una de las alternativas para la cura de ciertas enfermedades, existen respaldos de varios estudios realizados a nivel mundial, los avances tecnológicos también han ido descubriendo nuevas

propiedades de las plantas, los mismos que comprueban su capacidad de aliviar síntomas y curar enfermedades.

El intento por controlar el uso excesivo de antibióticos, motiva a realizar estudios antibacteriano de las plantas medicinales, ya que en la actualidad se ha creado una gran resistencia frente a determinado microorganismos.

El uso frecuente de las plantas como terapia medicinal ya sea preventivo o terapéutico en la zona rural de Manabí, crea la necesidad de realizar un estudio, para la evaluación de su actividad antibacteriana, ya que la población la utiliza para aliviar ciertos síntomas como otitis, infección vías urinaria y dolor de estómago sin evidencia alguna.

Metodología

El presente trabajo de investigación se realizó tres fases: el estudio etnofarmacológico aplicando encuesta como instrumento, siendo de tipo transversal y descriptivo, la segunda fase es la obtención de los extractos mediante maceración y la tercera fase es el análisis microbiológico mediante la técnica de difusión en disco en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% con un control positivo de Gentamicina al 2% y con el control negativo agua destilada. Finalmente, el análisis de resultados será desarrollado con métodos estadísticos que permitirán establecer la conclusión final.

Resumen de la estructura de la tesis

El trabajo esta constituidos por tres capítulos: el marco teórico, que contienen la información bibliográfica necesaria que sustentara la discusión, el marco metodológico, donde se enfocara al planteamiento y desarrollo de la propuesta investigativa y el análisis de los resultados del presente proyecto, que contiene estudios etnofarmacológico, análisis fitoquímico y análisis microbiológico.

Aporte teórico

Esta investigación se encuentra basada en la historia y en la importancia que se da a las plantas medicinales así como los extractos alcohólicos y etéreo de la *Annona muricata* sobre la sepa de *Pseudomonas aeruginosa*. En todos los

países y sistemas de salud es frecuente el uso de las plantas medicinales o de sus principios activos para tratar enfermedades, el uso ha provenido generalmente de la información proporcionada de manera tradicional.

Es por eso que para emplear una planta de uso popular como medicamento o para aliviar algún síntoma se debe tener un estudio que evidencie y respalde la efectividad de su principio activo en la terapéutica.

Significación práctica

Este estudio pretende comprobar de manera práctica la efectividad de los extractos alcohólico y etéreo de las hojas de *Annona muricata* y la concentración para ser administrada con seguridad como un fitofármaco, el presente proyecto también servirá para futuras investigaciones y creación de nuevas formas farmacéuticas de origen natural a base de las hojas de *Annona muricata*. El uso de las plantas medicinales es empleado en estados poblacionales socioeconómicos marginados tanto urbanos como rurales sin evidencias científicas, de tal modo surge la iniciativa del presente trabajo para evaluar el conocimiento que tienen, acerca de la planta medicinal a través de encuestas y de manera experimental.

Novedad científica

El presente trabajo de investigación permite conjugar el conocimiento ancestral de la utilización de plantas, medicinales con los conceptos modernos de evaluación de la actividad biológica y junto a ello con un análisis fitoquímico para lograr identificar los principios activos responsables de la actividad biológica evaluada, tratando de comprobar la eficiencia o ineficiencia de esta terapéutica, sobre la base de una realidad científica, ayudando a la industria a realizar fármacos a través de la presente investigación. Al demostrar la actividad antibacteriana las hojas de *Annona muricata* se podrá utilizar con mayor confiabilidad, en concentraciones específicas y a un menor costo, disminuyendo así, el uso de sustancias químicas y proponiendo a futuro una nueva alternativa para infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, por lo tanto es necesario dar a conocer que existe un método de receta terapéuticas populares basadas en estudios.

CAPÍTULO I.

1. Marco teórico

1.1. Las plantas medicinales.

Desde los tiempos inmemorables el hombre ha encontrado una serie de usos en las plantas, una de ellas el uso medicinal sea en sus frutos, hojas o en las demás partes que conforman una planta.

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde hace siglos como un mecanismo curativo en nuestros antepasados, estos conocimientos han pasado transmitidos de generación en generación hasta nuestros días, hoy en días podemos parpar esta medicina con nuestros padres o abuelos, en el empleo de infusiones de diferentes plantas cuando presentamos algún mal de infecciones en nuestro organismo.

Con el paso del tiempo las políticas de ciencia y salud están tratando de restablecer el uso de las plantas medicinales en la salud, se cree que el cuidado realizado mediante el uso de las plantas medicinales es favorable para la salud humana desde que el usuario tenía conocimiento de su finalidad, riesgos y beneficio. (54)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha determinado que alrededor del 80% de la población mundial, utiliza la medicina tradicional para atender necesidades médicas. La OMS, analizando el interés y el empleo de las personas por la medicina natural, acordó establecer pautas para la identificación de medicamentos herbarios que sean inocuos y eficaces. (53)

No solo en nuestro país se frecuente el uso de la medicina natural o el uso de las plantas con fines medicinales, también es frecuente el uso en países desarrollados o que se encuentran en vías de desarrollo, podemos encontrar países como Cuba, México, Perú, y Brasil, que han demostrado interés por el estudio científicos en diversas plantas llamadas milagrosas.

En 1978, la OMS define la integración de los remedios tradicionales de eficacia comprobada en las políticas farmacéuticas y reglamentación de los países,

dándole potestad a los ministerios de salud la aprobación de los remedios vegetales y la prohibición del uso de aquellos que son peligrosos, y en 1989; se reconoce la importancia de los medicamentos herbarios en la salud de los individuos y de las comunidades. (53)

El hombre describe la cura de muchas enfermedades por plantas milagrosas, ya sean estas agudas o crónicas, en diversas fuentes de información podemos encontrar una planta en especial, la *Annona muricata*, también conocida como guanábana, con el pasar de los años su reproducción comercial ha incrementado de una manera mesurada. Pero a qué se debe esto, a la información que podemos encontrar libremente en redes sociales, libros medicinales, o en este caso, las creencias de las personas comentadas por sus antepasados.

Se dice que esta fruta al igual que sus hojas tiene cierto poder curativo en algunos aspectos, pero el más importante es escuchar que tiene un poder antes la células cancerígenas, esto no está aún certificado científicamente, lo que si podemos encontrar es una serie de estudios relacionados ante una actividad antibacteriana.

Estos estudios existen desde décadas atrás, pero en el año de 1970 un médico de la Universidad de Purdue en California junto a sus colaboradores, realizaron el descubrió de las acetogeninas en la graviola, su nombre, Jerry McLaughlin, este médico probó y evaluó más de 3500 especie de plantas, encontrando que las acetogeninas de la familia *annonaceae* eran más potentes. (6)

Como el de las acetogeninas, hay otras series de estudios científicos respecto a la especie *Annona muricata*, países como Cuba, Brasil y Perú han llevado a cabo investigaciones sobre esta planta.

Una de estas investigaciones es la realizada en el 2006 en las universidades de Perú, en la que habrían demostrado (in vitro) que un extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* tendría un efecto citotóxico sobre los tipos C678 y H460 de cultivos de líneas celulares de adenocarcinoma gástrico y pulmonar. (27)

1.1.1. Plantas medicinales en el Ecuador.

Según la OMS, los medicamentos herbarios abarcan las hierbas, material herbario, preparaciones herbarias y productos herbarios acabados, que contienen como principios activos partes de plantas u otros materiales vegetales, o combinaciones de esos elementos. Para el caso de las poblaciones rurales, muchas veces es difícil el acceso a medicamentos farmacológicos, las razones son muchas, mencionando unos cuantos; los costos altos, el acceso a un centro de salud, los aspectos culturales, entre otros, siendo la primera opción la medicina herbaria que está a su alcance. (55)

En nuestro país es frecuente el uso de algunas plantas conocidas, para uso medicinal en diferentes aspectos, tanto en la costa, sierra y amazonia, en lugares rurales o en comunidades pequeñas donde el acceso es difícil es frecuente el uso de la medicina natural.

En Ecuador se establece como política de estado fortalecer y consolidar la salud intercultural, incorporando la medicina ancestral y alternativa al Sistema Nacional de Salud, que busca entre otras cosas diseñar y aplicar protocolos para facilitar la implementación progresiva de la medicina ancestral y alternativa, con visión holística, en los servicios de salud pública y privada. (55)

Según el INIAP, en el país se utiliza mucho algunas infusiones de ciertas plantas para uso medicinal, las cuales son frecuentes para el uso de dolores estomacales, respiratorios y otros usos para beneficio personal. A continuación presentamos una serie de plantas utilizadas. (51)

Dolor de estómago.

- Infusión de Menta
- Infusión de orégano
- Infusión de toronjil
- Infusión de Yerba Luisa

Problemas respiratorios.

Infusión de flores de violeta, salvia, borraja, hojas de malvas, escanel, cardo santos.

Afecciones hepáticas.

- Infusión de orégano con limón
- Hojas machacadas de la lengua de vaca
- Cocimiento de ramas floridas de manzanilla
- Cocimiento de taraxaco
- Cocción de ramas de ruda con leche

Para la presión arterial. Infusión de hojas de Jícama

Para la fiebre. Infusión de borraja y flores de cedrón, frotar flores de ortiga por el cuerpo

Afecciones cardíaca.

- Cocimiento de hojas de culantro
- Macerado de hojas de romero con vino blanco
- Infusión de hojas de malva
- Hojas caliente de toronjil aplicadas sobre el pecho

Para las hemorragias.

- Infusiones de matico
- Zumo de ramas y hojas de ortiga
- Infusión de ruda y zumo de la raíz de la violeta.

Para las úlceras.

- Consumir el zumo y hojas de raíces y llantén mezclados con miel de abeja
- Cocción y emplasto de matico
- Machacado e infusión de hojas de geranio
- Zumo de la raíz de violeta

Para eliminar lombrices.

- Consumir de hojas de paico
- Infusión concentrada de hierba buena

En el 2016 la bióloga Maritza Gallegos, realizó un estudio sobre el uso de las plantas medicinales en Babahoyo, Provincia de los Ríos, con el fin de identificar

las prácticas para el tratamiento de enfermedades en las comunidades rurales de esta localidad, de los resultados, el más relevantes fue el uso para enfermedades del sistema digestivo, infecciosas y parasitarias. (55)

Nuestro país, por su diversidad geográfica es muy rico en variedades de culturas ancestrales que juntan representan cerca del 30% de la población total, estas por miles de años han empleado múltiple remedios naturales. La gran variedad de planta con usos medicinales que se expenden en mercados de la Costa, Sierra y Amazonia son en su mayoría nativas y comprenden el 60% del total de plantas útiles reportadas par el Ecuador. (56)

1.2. *Annona muricata*.

1.2.1. Definición.

Perteneciente a la familia *annonaceae* es conocida en América con el nombre de guanábana o graviola y sursop en el idioma inglés, es una fruta natural originaria de América y África tropical con interés actual por sus propiedades medicinales tanto en las hojas como en su fruto, utilizada como bactericida, antiparasitaria, antiviral, antifebril, anticonvulsivante e incluso antihipertensiva y en enfermedad del cáncer. (5)

1.2.2. Descripción de la *Annona Muricata*.

Perteneciente a la familia *anonaceae* tiene diversos nombres nativos como, guanábana, graviola o chirimoya del Brasil.

Tabla 1. Taxonomía de la Guanábana.

Nombres nativos	<i>Guanábana, masasamba, corosol, chirimoya del Brasil.</i>
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Magnoliales</i>
Familia	<i>Anonaceae</i>
Genero	<i>Annona</i>
Especie	<i>Muricata L</i>

Fuente: Graviola Guanabana (6)

Elaboración: Mayra Merchán.

1.2.3. Descripción botánica.

Los arboles de estas frutas varían mucho en cuestión de crecimiento, follaje y copas, generalmente son de 10 metros de altura con hojas oblongo-abobadas de 6 a 12 cm de largo por 2,5 a 5 cm de ancho.

Hay variedades de *Annona muricata* con tronco ramificado en su base, otras con un tronco principal y ramificaciones menores alternas, se cultivan principalmente en los trópicos de América, África e islas del Pacífico. En América su cultivo se extiende de México hasta Brasil. (5)

Su sistema radicular extensivo le permite soportar periodos largos de sequía ya que explora y cubre una zona amplia de terreno, dependiendo de los obstáculos en el suelo, sus raíces llegan a penetrar más de un metro de profundidad.

- **Flores.**

Las flores, hermafroditas, se forman sobre las ramitas cortas auxiliares o directamente sobre el tronco del árbol, poseen tres sépalos color verde oscuro y seis pétalos de color cremoso. (8)

- **Hojas.**

En algunos lugares del mundo son muy utilizadas, en México como en otros países de América latina es frecuente el uso en infusión para diversas dolencias, tradicionalmente para dolores de cabeza, dolores estomacales y como antiinflamatorio.

- **Frutos y Semillas.**

El fruto es el más grande en el género, es una fruta jugosa y está llegando a medir hasta 40 cm de largo, elipsoidal u ovoide a menudo asimétrico en el ápice debido a la polinización deficiente.

Los carpelos aparecen separados por un surco fino, y en la mayoría llevan al centro una espina, curva hacia abajo, algunas variedades son lisas, en su madurez la fruta conserva su color verde brillante. (6)

La aromática pulpa tiene una textura similar a la del algodón, es blanca, cremosa y suave, recubre totalmente a las semillas negras de 1 a 2 cm de largo. (8)

Cada fruta puede tener hasta 200 semillas, su sabor ácido y sub ácido ha sido descrito como similar al de la piña o mango. El peso de la fruta va de 1 a 10 kilos, es considerada como tropical exótica, con características sensoriales excelsas que le brinda un potencial para su utilización bien como producto fresco o transformado. (8)

Tabla 2. Características principales de la planta y las frutas de la guanábana.

Características			Descripción
Vida de almacenamiento (15-30°)			alta (> 5 días)
Planta	Tasa de reproducción		alta (> 60 kg/árbol/año))
	Resistencia	Clima (temperatura)	Bajas temperatura < 18°C
		Pestes y enfermedades	Alta
	Época de cosecha		Todo el año
Fruta	Tamaño	Industria	Grande
		Consumo fresco	Pequeño
	Peso	Industria	> 2,5 kg
		Consumo fresco	0,8-2,5 kg
	Cáscara		Pequeña protuberancias
	Pulpa		Sub-ácidas, baja fibra
	Sabor		sabor sub-ácido
	Semillas (numero/100 g de pulpa)		bajo (10-30 semillas)

Fuente: Actividad antioxidante en guanábana. (24).

Elaboración: Mayra Merchán.

Estudios científicos realizados con los años, han demostrado que la guanábana tiene cierto tipo de compuestos bioactivos conocidos como acetogeninas de anonáceas, las cuales se han encontrado en esta planta, siendo la hoja su fuente principal. (25)

1.2.4. Componentes químicos de la hoja de guanábana.

Se ha comprobado que las hojas de guanábana poseen los siguientes componentes químicos, clasificados como grupos de lactonas, isoquilonas y lípidos.

Tabla 3. Componentes químicos de la hoja

Lactonas	Isoquinolinas	Lípidos
Annohexocina	Anonaine	Ácido gentísico
Annomuricina A,B,C y E	Anoniine	Ácido lignocérico
Annomutacina	Atherospermine	Ácido linoleico
Annopentocinas A,B y C	Coreximine	Ácido esteárico
Gigantetronemina		
Murihexocina A y C		
Javoricina		

Fuente: Varién Moos. Hojas y frutas de la guanábana. (25)
Elaboración: Mayra Merchán.

1.2.5. Ambiente y cultivos.

La guanábana es una planta que empieza a producir al tercer año de su plantación, de todas las anonáceas comestibles la guanábana es la de requerimiento más tropical, prefiere los climas cálidos y húmedos para su producción, a continuación anotaremos las condiciones agroecológicas, es decir los requerimientos climáticos y edáficos según el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias de Ecuador (INIAP).

1.2.5.1. Condiciones agroecológicas.

Las condiciones de cosechas y sembríos de la guanábana son las siguientes según el (INIAP):

- Zonas: las zonas subtropicales son ideales para el cultivo de la guanábana.
- Altitudes: 300 a 700 msnm
- Temperatura: 20 a 32°C durante el día y de 13 a 19°C durante la noche.
- Precipitación: 1200 mm a 1500 mm/año.
- Humedad relativa: 60 al 90%,
- **Suelo:** se adapta a una amplia gama de suelo.
- **pH:** de neutros a ligeramente ácidos 5,5 a 7.0

1.2.5.2. Producción de guanábana en el Ecuador.

Uno de los países donde se ha notado mayormente el desarrollo de esta fruta es en Brasil, seguido de Colombia y Ecuador, donde es posible observar plantaciones tecnificadas que abastecen los mercados de las principales ciudades como Sao Paulo, Bogotá, Cali, Quito, Guayaquil entre otras.

En Ecuador y en estudios del programa de Fruticultura del INIAP, se han observado diversidad morfológica entre arboles silvestre en cuanto a forma y tamaño de árboles. Las principales áreas de cultivos se ubican en la Península de Santa Elena y Guayas donde se encuentran lotes totalmente tecnificados, además de la zona sur de Manabí y áreas rurales de Santo Domingo de los Colorados. (7)

La producción de guanábana se remonta en 1998, según el Banco Central del Ecuador, los sitios más representativos para el cultivo de esta fruta son: Esmeraldas, Tachina, Rio Verde, Pedernales, Chone, Santa Ana, Babahoyo, Milagro, El Triunfo, La Troncal, Tena, Puyo y otras zonas amazónicas. (8)

El área en donde este frutal está disperso naturalmente, como es la zona sur de Manabí y zonas adyacentes a la población de Santo Domingo de los Tsáchilas se encuentran a una altitud de entre 300 y 700 msnm.

1.2.6. Uso medicinal de *Annona muricata*.

Las hojas de *Annona muricata* se han utilizado tradicionalmente por el hombre para tratar dolores de cabeza, hipertensión, tos, asma y como sedante en países como Cuba y Brasil y Perú sin previa validación científica.

Según la revista Cubana de Plantas Medicinales, Scielo; en este país se han realizados unas series de estudios con las hojas de *Annona muricata* para así poder encontrar respuesta a las series de comentarios por parte del ser humano en creencias de sus antepasados. (13)

Esta revista también a base de informes de estudios científicos realizados sobre anonacinas, señalan sobre la posibilidades de efectos anticancerosos en el compuesto de la guanábana, según resultados en estudios realizados *in vitro*

o *in vivo* en animales, no sin antes mencionar que no existen informes sobre el tema en los seres humanos. (13)

Correa gordillo et al en su artículo relacionado a la actividad antioxidante de la guanábana, menciona que las hojas de esta especie son utilizadas para problemas del hígado en Brasil, además del uso como supurativo contra secreciones y mucosidades. (24)

En Ecuador normalmente utilizamos las hojas para infusión y curar dolores estomacales y dolores de cabeza.

En la siguiente tabla adjunta a continuación mencionaremos algunas de las propiedades encontradas en la guanábana en sus partes o componentes, como son las hojas, el fruto y la corteza.

Tabla 4. Propiedades medicinales de la guanábana según sus partes.

HOJAS	CORTEZA	FRUTO
Anticancerígeno	Antibacteriana	Galactogogo
Antiespasmódico	Antiulceroso	
Sedativo	Antiparasitario	
Antimalárico		
Antidiabético		
Vasolidatador		

Fuente: Varíen Moos. Hojas y frutas de la guanabana. (25)
Elaboración: Mayra Merchán.

1.2.7. Actividades biológicas.

1.2.7.1. Actividad antimicrobiana.

Lock y Rojas (2003) menciona sobre ensayos realizados en Cuba con extractos en acetona de hojas y tallos de esa localidad, que han demostrado que tienen actividad antibacteriana *in vitro*, usando el test de difusión en agar (concentración no especificada). (23)

Las bacterias sometidas con la aplicación del extractos son, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella B*, *S. Newport*, *S. typhosa*, *Serratia marcescens*, *Shillega flexneri*, *Staphylococcus aureus* y *S. albus*, pero es inactivo frente *Sarcinia lutea*. (23)

1.2.8. Posibles efectos secundarios del extracto de las hojas de guanábana.

En México se está revisando información sobre los posibles efectos secundarios del extracto de hojas de la guanábana, y estos efectos serían perjudiciales para órganos como el hígado y los riñones. (26)

La investigación sobre los efectos secundarios concluyó en su primera etapa en el 2015, y fue liderada por una doctora en ciencias de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Actualmente está por iniciarse la segunda parte de la investigación por lo que no hay mucha información al respecto, y por lo tanto el estudio realizado, aun no tiene validez científica.

1.3. Farmacognosia.

1.3.1. Concepto de farmacognosia.

La farmacognosia es la ciencia que estudia los principios activos de origen natural que pueden poseer un potencial terapéutico que repercute en las ciencias médicas. (35)

Estudia tanto las sustancias con propiedades terapéuticas como aquellas tóxicas y otras con interés farmacéutico que puedan tener un uso básicamente tecnológico y no terapéutico, por eso se la considera una rama de la Farmacología, además es una de las ciencias médicas más antiguas. (37)

1.3.2. Etimología.

Etimológicamente significa: “conocimiento de los fármacos” proviene de dos palabras griegas, **pharmakon** que significa remedio o fármaco y **gnosis** que es conocimiento. (36)

1.3.3. Aspectos históricos de la farmacognosia.

Hablar del inicio de la historia de la farmacognosia es incierto, si revisamos la historia de nuestros antepasados nos daremos cuenta que para sobrevivir tenían que ser espectadores cuidadosos de la naturaleza, para la caza de animales tuvieron que desarrollar técnicas y estudiar la conducta de los mismos para acercarse y que estos no perciban su presencia. (35)

Para el bienestar de ellos y la necesidad de curarse alguna herida, practicaban empíricamente la selección de vegetales o animales que tenían la propiedad de sanar o mitigar el dolor, también descubriendo que algunas sustancias eran tóxicas que podían producir alucinaciones e incluso hasta la muerte. (37)

El hecho de ver que algunos animales enfermos se recuperaban consumiendo un determinado vegetal, hizo que muchos de nuestros antepasados imiten la conducta animal cada vez que enfermaban, consumiendo planta vegetal o animales. Con el pasar de los años esta conducta fue evolucionando y el tema de las plantas milagrosas y curativas, la religión y la magia quedó en las manos de lo que se conoce como “chaman”. (35)

Muchos de esos conocimientos pasaron de generación a generación hasta consolidarse como una materia de estudio, con la finalidad de encontrar el bienestar y mejorar la calidad de vida del ser humano. Hoy en día las áreas de la farmacognosia se sigue desarrollando abarcando campo como la biología celular y molecular en relación con productos naturales, la etnobotánica, la fitoterapia y la fitoquímica entre otros. (37)

1.3.4. Conceptos básicos empleado en farmacognosia.

Es necesario tener conocimiento de los siguientes conceptos que son utilizados con frecuencia en la farmacognosia. (37)

- **Droga.** Materia prima de origen animal o vegetal, que tiene como fin el uso para la elaboración de medicamentos
- **Droga vegetal.** Parte de la planta que contiene los principios activos y que son empleadas para tratamientos de enfermedades.
- **Planta medicinal.** Se denomina medicinal cuando por lo menos unas de las partes de la planta pueden ser utilizadas para fines preventivos o terapéuticos.
- **Principio activo.** Principal sustancia química pura responsable de los efectos farmacológicos de una droga.
- **Materia prima.** Elementos que forman parte de la composición de un medicamento

- **Medicamento.** Combinación de un principio activo con un excipiente con la finalidad de ser administrado a las personas o animales para prevenir o curar ciertas enfermedades.

1.3.5. Clasificación.

La farmacognosia se divide en dos categorías, Farmacognosia general y Farmacognosia especial

1.3.5.1. Farmacognosia general.

Estudia a las drogas de manera general, es decir desde su historia, origen, composición química, función, conservación y usos. (10)

1.3.5.2. Farmacognosia especial.

Estudia a las droga naturales, su estructura química como son los flavonoides, mucílagos, cumarinas, alcaloides, entre otros. (10)

1.3.6. Objetivos de la farmacognosia.

Hernández (2014), en su libro de farmacognosia general cita algunos objetivos los cuales mencionaremos a continuación.

- Determinar el origen sistemático de la especie, animal o vegetal
- Establecer las características morfológicas y anatómicas.
- Identificación química de las drogas.
- Obtener los extractos de las drogas que contienen los principios activos.
- Controlar la calidad de las droga, buscando métodos para comprobar los contenidos requeridos de principios activos.
- Investigar nuevos principios activos que puedan ser un punto de partida para nuevos fármacos en el futuro.
- Determinar las propiedades físicas de las drogas como son las propiedades organolépticas.
- Determinar la actividad relativa al comportamiento físico-químico.
- Determinar la actividad y propiedades farmacológicas de las drogas.

1.3.7. Ramas de la farmacognosia.

Estas ramas son de fundamental importancia en la farmacognosia, las cuales se mencionan y se detallan a continuación. (39)

- a) Farmacoergasia
- b) Farmacoetnología
- c) Farmacogeografía
- d) Farmacoetimología
- e) Farmacoemporía
- f) Farmacodiascomia

- **Farmacoergasia.** Se encarga del estudio del cultivo, recolección, secado y almacenamiento de las plantas.
- **Farmacoetnología.** Estudia el uso de las plantas medicinales en cada una de las diferentes culturas dentro del contexto histórico. (37)
- **Farmacogeografía.** Estudia las zonas geográficas así como el entorno y factores económicos. (39)
- **Farmacoetimología.** Se encarga del estudio de los diversos nombres que reciben las drogas en los diferentes pueblos. (37)
- **Farmacoemporía.** Estudia la comercialización de las plantas, los puertos y rutas que son utilizadas para su comercialización.
- **Farmacodiascomia.** Se encarga del estudio de los empaques o todo material que sirva para el guardado de la droga vegetal. (37)

1.4. Fitoquímica.

La fitoquímica es una rama que se deriva de la farmacognosia, con el estudio químico de la planta, es decir estudia los metabolitos secundarios extraídos de las plantas, desde su estructura química hasta las propiedades biológicas. (28)

1.4.1. Importancia de la fitoquímica.

La medicina tradicional es una fuente de gran valor científico y ofrece numerosas posibilidades de aprovechamiento, las plantas poseen una gran riqueza química, es decir una gran cantidad de metabolitos primarios y secundarios que le permiten crecer, reproducirse y sobrevivir. (14)

La fitoquímica tiene una gran importancia en los estudios de las plantas, mediante el cual podemos determinar los efectos beneficiosos en la salud como medicina natural, así mismo se puede definir sus efectos perjudiciales al ser humano. (28)

Las plantas poseen una gran cantidad de sustancias, una de las características de estas sustancias es que es antioxidante, en diferentes estudios fitoquímicos realizadas a diversos tipos de plantas, se deducen que algunas pueden ayudar a contrarrestar las enfermedades cardiovasculares o algún tipo de cáncer, pero aún no está comprobado científicamente.

1.4.2. Clasificación de la fitoquímica.

La estructura de los compuestos presentes en los vegetales tiene mucha relación con los grupos orgánicos como son los alquenos, alquinos, alcoholes, aldehídos, cetonas y otros diversos componentes. Las moléculas encontradas en los vegetales son de estructuras grandes, que con frecuencia tienen varios de los grupos anteriormente mencionados unidos a esqueletos moleculares de naturaleza que normalmente se los denomina metabolitos secundarios. (41)

1.4.3. Metabolito primario o inmediato

Son todos aquellos compuestos imprescindibles para mantener las funciones fundamentales de los seres vivos, su crecimiento y reproducción, tales compuesto son los carbohidratos, proteínas, aminoácidos, grasas, ácidos nucleicos, algunos ácidos carboxílicos, vitaminas, entre otros. (10)

1.4.4. Metabolitos secundarios

No son comunes a todas las plantas ya que son sustancias que presentan actividad farmacológica, como ejemplo se tiene alcaloides, flavonoides, taninos, esteroides, aceites esenciales y muchos más. (15)

Los metabolitos secundarios de las plantas son compuestos químicos sintetizados por las plantas que son productos del metabolismo secundario y que cumplen funciones no esenciales en ellas. (52)

Tabla 5. Principales metabolitos vegetales primario y secundarios

Metabolito primario	Metabolito secundario
Glúcidos Lípidos y Grasas Aminoácidos	Isoprenoides (Terpenos, aceites esenciales) (Saponinas, cardiotónicos.)
Proteínas	Derivados Fenólicos (fenoles simples, ácidos fenólicos, taninos) (cumarinas, lignanos, quinonas) (flavonoides, antocianinas)
Ácido Nucleicos	Alcaloides
Compuesto Nitrogenados (glucósidos cianogenéticos, enzimas)	

Elaboracion: Mayra Merchán
Fuente: (Carrión y Jara, 2010). (38)

1.4.5. Tamizaje fitoquímico.

El tamizaje fitoquímico o también conocido con el nombre de *screening fitoquímico*, es una de las etapas iniciales de investigación donde podemos encontrar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta, a partir de eso se orienta a la extracción o a los fraccionamientos de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. (10)

1.4.6. Técnicas de extracción.

Las técnicas de extracción depende de parámetros importantes como son: la cantidad de agua, temperatura, el tiempo, y el sistema utilizado para la extracción.

Hernández (2014), menciona las siguientes técnicas de extracción, extracción mecánica, destilación, extracción con fluidos en condiciones supercríticas y extracción con disolventes.

1.4.6.1. Extracción mecánica.

Permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo. Estas pueden ser por expresión, por calor o por incisiones. (39)

1.4.6.2. Destilación.

Este proceso lleva a cabo la separación de diferentes líquidos, o sólidos que se encuentren disueltos en líquidos, o incluso gases de una mezcla, con el fin de obtener sus componentes individuales. (40)

1.4.6.3. Extracción con fluidos en condiciones supercríticas.

Este tipo de extracción suele ser muy selectiva, es un método donde se trabaja a presión y temperaturas superiores a la presión y temperatura críticas; los gases más utilizados son dióxido de carbono y butano. (37)

1.4.6.4. Extracción con disolventes.

Una de las técnicas de extracción, es la del método con disolventes, estas pueden ser de forma continua o discontinua, los disolventes discontinuos son:

- *Maceración*
- *Digestión*
- *Infusión*
- *Decocción*

Mientras los de manera continua, son los siguientes: percolación y soxhlet. (42)

1.4.6.5. Extracción con disolventes discontinuo.

- *Maceración*

En éste método la muestra se mantiene en reposo durante un tiempo determinado, dependiendo del tipo de planta y los principios a extraer.

- *Digestión*

Parecido al método de maceración con ligero calentamiento durante el proceso de extracción.

- *Infusión.*

Se aplica por medio de la aplicación de un solvente caliente sobre un tipo de hierba o producto orgánico.

- *Decocción*

Es un método de extracción por ebullición de productos químicos o material a base de hierbas, implica macerar y hervir para extraer los aceites.

1.4.6.6. Extracción con disolventes continuo.

Se lo realiza de dos maneras:

- **Percolación.**

Este método de extracción también conocido como lixiviación, es uno de los procesos más difundidos, se puede realizar con disolventes orgánicos en frío para preservar los compuestos que pudiera contener el material a estudiar. (29)

- **Extracción Soxhlet**

Este es un método en caliente que se desarrolla empleando solventes con punto de ebullición bajo.

1.4.7. Extracto etílico

Son extractos con olores característicos, obtenidos a partir de una materia prima desecada de origen vegetal, por maceración (extracción que se realiza a temperatura ambiente) o por percolación (conocido como lixiviación) en contacto con etanol seguida de la eliminación de dicho solvente por un procedimiento físico. (29)

Tabla 6. Ensayos a realizar para encontrar los metabolitos secundarios.

Metabolito secundario	Método
Alcaloides	Ensayo de Dragendorff Ensayo de Mayer Ensayo de Wagner
Terpenoides	Ensayo de Lieberman-Burchard
Quininas	Ensayo de Borntrager
Cumarinas	Ensayo de Baljet
Catequinas	Ensayo de Catequinas
Resinas	Ensayo de Resinas
Saponinas	Ensayo de espuma
Taninos	Ensayo de Cloruro Férrico
Azúcares Reductores	Ensayo de Fehling
Flavonoides	Ensayo de Shinoda
Antocianidinas	Ensayo de Antocianidinas

Elaboración: Mayra Merchán.
Fuente: (BARAHONA CALLE C). (8)

1.4.8. Extracto etéreo.

Es el conjunto de sustancia de un alimento que se extraen con éter etílico, es decir esteres de los ácidos grasos, fosfolípidos, lecitina, esteroides y otros complementos. El esquema de secuencia de ensayos de extracto etéreos de detalla a continuación:

Tabla 7. Esquemas de ensayos en el extracto etéreo

Metabolito secundario	Método
Alcaloides	Ensayo de Dragendorff
	Ensayo de Mayer
	Ensayo de Wagner
Terpenoides	Ensayo de Lieberman-Burchard
Cumarinas	Ensayo de Baljet
Compuesto Grasos	Ensayo de Sudan III

Elaboracion: Mayra Merchán
Fuente: (BARAHONA CALLE C). (8)

1.4.9. Extracto acuosos

Son extractos líquidos cuyo solvente es el agua, son utilizados generalmente para cosméticos y productos alimenticios. A continuación se presenta la secuencia de ensayos a seguir:

Tabla 8. Esquema de ensayos en extracto acuoso.

Metabolito secundario	Método
Alcaloides	Ensayo de Dragendorff
	Ensayo de Mayer
	Ensayo de Wagner
Saponinas	Ensayo de Espuma
Taninos	Ensayo de Cloruro Férrico
Azucares Reductores	Ensayo de Fehling
Flavonoides	Ensayo de Shinoda
Mucílagos	Ensayo de mucílagos

Elaboración: Mayra Merchán.
Fuente: (BARAHONA CALLE C). (8)

1.5. Etnobotánica.

Aguilar y Cartagena (2010), citan a la etnobotánica como una disciplina científica en proceso de evolución, dichas palabras mencionadas por el botánico norteamericano Jhon W. Harshberger en 1895. (16)

Descrita como el estudio de relación o interrelaciones entre los seres humano y las plantas, es decir trata del estudio de los conocimientos de la población local y de sus relaciones con las plantas. (16)

Esta rama tiene una gran importancia en los últimos años, ya que muchas compañías farmacéuticas están interesadas en las plantas como una gran potencial para la obtención de agentes terapéuticos útiles en el tratamiento de enfermedades. (19)

1.5.1 Evaluación cuantitativa de la diversidad de especie.

Según Martín (1995) Phillips et al, (1994), trabajando en la amazonia peruana propusieron un nuevo enfoque al valor de uso. Ellos basan sus estimaciones de la importancia cultural en una técnica del índice de informante, la cual tiene que ver con las condiciones entre la gente local acerca de la utilidad de las distintas especies. (17)

Según Martín (1995), no todos los usos de las plantas tienen de igual importancia, otros aspectos relevante mencionado por este autor es el significado cultural que tiene muchas plantas, pero a pesar de ello pueden mostrar un valor de uso bajo en relación a otras, debido al poco conocimiento de sus otros usos.

1.5.2. Índice de valor de uso (IVU)

El valor del uso según *Phillips y Gentry (1993)*, expresa la importancia o valor cultural de una especie determinada para todo los informantes entrevistados. Para estimar este valor de uso general de cada especie para todos los informantes (IVUs), se utiliza la siguiente fórmula (18):

$$VU_{is} = \frac{\sum U_{is}}{N_{is}}$$

Dónde:

VUis = valor de uso atribuido a una especie particular (s) por un informante (i)

Uis = número de usos mencionados por el informante

Nis = número total de eventos

1.5.3. Nivel de uso significativo (UST)

Para estimar el nivel de uso significativo para cada especie utilizada y verificar su aceptación cultural, se utilizó la metodología propuesta por *Germosén-Robineau (1995)*.

Esta metodología, expresa que aquellos usos medicinales que son citados con una frecuencia superior o igual a 20% por los informantes, pueden considerarse significativos desde el punto de vista de su aceptación cultural y por lo tanto merece su evaluación y validación científica. (18)

Se encontrar el nivel de uso significativo se utiliza la siguiente ecuación:

$$UST = \frac{\text{Uso de especie(s)}}{nis} \times 100$$

Donde:

Uso de especies = número de citaciones para cada especie.

nis = número de informantes encuestados

1.6. *Pseudomonas*.

1.6. Antecedentes.

Con el pasar del tiempo la ciencia junto con la medicina ha avanzado a pasos gigantes, los agentes antimicrobianos modificados y las intervenciones de salud pública junto con nuevas estrategias antimicrobianas pueden ayudar a mitigar el efecto de los organismos multirresistentes. Los antibióticos han revolucionado la práctica médica, lo que permite avances en todo el espectro de la medicina clínica, incluyendo mayor seguridad de los partos, procedimientos quirúrgicos, trasplante de órganos y regímenes de quimioterapia, sin embargo la resistencia a los antimicrobianos amenaza con obstaculizar e incluso revertir algunos de estos avances. (43)

El desarrollo de estudios científicos en plantas ha sido de suma importancia para poder avalar el uso medicinal en los seres humanos, además de eso la actividad antibacteriana que supuestamente ejercen algunas de estas plantas, como por ejemplo la *Pseudomona aeruginosa*.

El desarrollo de antibióticos para las infecciones por bacterias gram-negativas es particularmente difícil debido a la baja permeabilidad de la pared celular de las bacterias gram-negativas, la variedad de bombas de eflujo y una serie de enzimas capaces de activar a todos los medicamentos β -lactámicos conocidos como la penicilina. (43)

La aparición de los antibióticos en la medicina hizo que también aparezca el problema de la resistencia bacteriana, un problema grande para la medicina ya que los antibióticos que se utilizan para el tratamiento de pacientes con infecciones muchas veces eran copias. (44)

Las infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* generalmente se producen en ambientes hospitalarios, donde suelen ser resistentes a diversos antimicrobianos, especialmente en pacientes con quemaduras o niños prematuros, en situaciones excepcionales se pueden producir en pacientes sanos. (45)

1.6.1. El género *Pseudomonas*.

Esta bacteria es del género *Pseudomonas*, que pertenece a la familia *Pseudomonadaceae*, que se sitúa dentro del orden *Pseudomonadales*, que además comprende la familia *Moraxellaceae*. Esta familia de bacteria incluye el género *Xanthomonas*, que junto con *Pseudomonas*. Forman el grupo conocidos como *Pseudomonales*. (20)

Dentro de este género existen muchas especies, de la cual una podemos decir que es la más importante, la *P. aeruginosa*, que está comprobado clínicamente que esta especie tiene la capacidad de producir infecciones en humanos. (45)

1.6.2. *Pseudomonas aeruginosa*.

La *Pseudomonas aeruginosa* es uno de los patógenos nosocomiales globalmente dominante, que ocasiona una gran variedad de infecciones, algunas son de cuadros severos como neumonía, y otras donde la capacidad de adquirir mecanismos de resistencia elevada se convierte en problema para la salud pública llevando a un alto grado de mortalidad, esta bacteria no solo es asociada con enfermedades respiratorias como la neumonía, algunas cepas producen grandes cantidades de polisacárido extracelular que son asociadas a casos de fibrosis quística. (12)

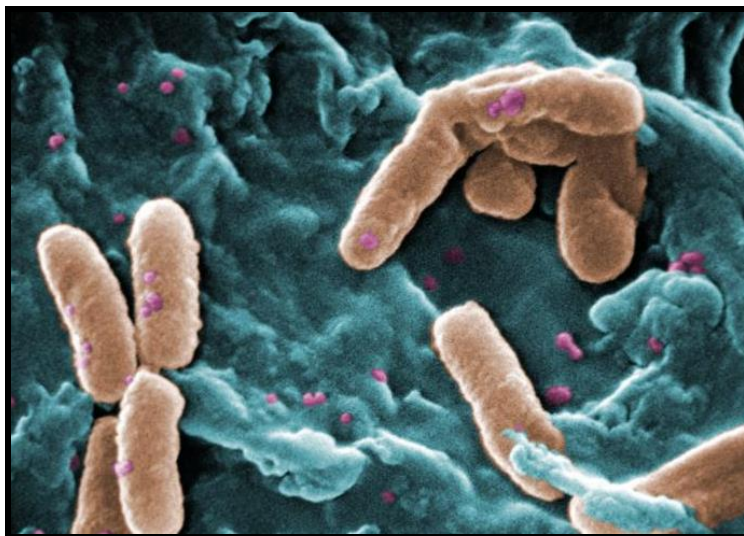


Ilustración 1. Bacteria *Pseudomonas aeruginosa*.
Fuente: Biblioteca de imágenes de salud pública (PHIL)

1.6.3. Características.

Pertenece a la familia *Pseudomonaceae*, se trata de un bacilo recto o ligeramente curvado con un tamaño de 2-4 x 0,5-1 micras y móvil por la presencia de un flagelo polar. El metabolismo normalmente es aerobio, aunque se puede desarrollar en condiciones anaerobias utilizando nitrato, se caracteriza por producir una variedad de pigmento como la piocianina (de color verde azulado), la pioverdina (pigmento de color fluorescente de color verde amarillento) y la piorrubina (de color rojo). (12)

La mayoría de especies tienen un crecimiento óptimo entre los 30 – 37°C, pero pueden sobrevivir y multiplicarse en cualquier ambiente, incluso en ambientes que contienen elevados contenidos de sales. (20)

Se comporta como un patógeno nosocomial oportunista, sus requerimientos nutricionales son mínimos, su tolerancia a una amplia variedad de condiciones físicas y sus resistencias intrínseca a un gran número de antibióticos, explican su papel ecológico como un importante y eficaz patógeno intrahospitalario. (46)

1.6.4. Hábitat.

Puede vivir en numerosos hábitats, sean estos acuáticos y terrestres, tejidos diversos de animales, se encuentran en suelos y aguas que presentan unas condiciones aeróbicas, mesofílicas y con pH neutro. La posibilidad de aislar estos microorganismos en las superficies húmedas, quizás esté limitada solo por el interés para buscarlos, además de habitar en: (46)

- Con un rango de temperatura de 4 – 42°C.
- pH comprendido entre 4 y 8 y que contengan compuestos orgánicos o complejos.

1.6.5. Importancia clínica.

El género *Pseudomonas* consta de 76 especies, dentro de las cuales, *P. aeruginosa* es la más importante con respecto al número y tipo de infecciones generadas en humanos, principalmente en infecciones hospitalarias, además se encuentra la emergencia de cepas multirresistente a la mayoría de antibióticos convencionales. (47)

Aunque esta especie se encuentra típicamente en suelos y aguas, es también un patógeno oportunista de plantas y animales, su implicación en humanos fue reconocida por primera vez en 1882, es reconocida como una fuente común en las infecciones adquiridas de la comunidad y las infecciones nosocomiales. (20)

Lujan Roca en su artículo científico dice que esta bacteria puede colonizar partes del cuerpo humano, claro está que en las personas saludables la presencia es baja, que en su gran mayoría las infecciones ocasionadas se presentan en los ambientes hospitalarios siendo un gran problema clínico.

En la mayoría de los casos, la infección empieza con alteraciones de los mecanismos de defensa del huésped, lo que puede involucrar la disrupción en la integridad de barreras físicas como catéteres urinarios, intravenosos, quemaduras extensas en la piel o tubos endotraqueales los cuales facilitan la colonización bacteriana. (46)

El espectro de infecciones que puede causar, va desde una foliculitis, hasta la bacteriemia que puede comprometer la vida de los pacientes, las infecciones más comunes implican la córnea, la piel y el tracto urinario y respiratorio. (11)

1.6.6. Infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa*.

En un microorganismo gram negativo entérico, Se ha constatado que esta bacteria es causa de unas series de infecciones a nivel nosocomial como la meningitis, bacteriemia e incluida la otitis externa, además de las que se menciona a continuación. (33)

- Infecciones del tracto urinario
- Infecciones de piel y partes blandas como en quemaduras y heridas
- Infecciones en el sistema respiratorio
- Dermatitis, endocarditis, infecciones gastrointestinales
- Neumonía nosocomial

1.6.6.1. Otitis externa.

Es uno de los problemas más frecuentes en los oídos, también llamada otitis del nadador por la condiciones de humedad en esta parte del cuerpo, el agua

que contiene esta bacteria entra por el oído y causa una gran infección provocando dolor y muchas veces secreción auricular. (31)

1.6.6.2. Las Neumonías

Son las más prevalentes en la infecciones nosocomiales, son causadas tanto por la biota del enfermo como por el microorganismo exógenos, siendo uno de los más comunes la *Pseudomona aeruginosa*. (32)

1.6.6.3. Infecciones oculares.

Las infecciones oculares causadas por esta bacteria puede provocar daños en la córnea, las infecciones pueden estar causadas por lesiones, además de producirse por la contaminación de las lentes de contactos o de la solución de las mismas. (31)

1.6.6.4. Meningitis.

La meningitis por *Pseudomona aeruginosa* debe tenerse en cuenta por la severidad del cuadro clínico, y el incremento de las cepas resistentes. Es una infección poco frecuente pero muy grave, altamente mortal y con alto riesgo de secuela. (34)

1.6.6.5. Infecciones por heridas quemaduras.

Esta bacteria es la causa principal de infecciones invasivas en paciente que han sufrido una quemadura severa, muchas muertes están relacionadas con sepsis, originadas a partir de heridas de quemadura. El daño por inhalación es común en los pacientes de quemaduras, resultando en edema y descamación de la mucosa del tracto respiratorio y daño del mecanismo del aclaramiento mucociliar. (48)

1.6.7. Vialidad, propagación y transmisión.

Esta especie es la más aislada de la familia Pseudomonaceae, y se ha asociada con la contaminación de fuentes comunes de agua, este bacilo puede permanecer por tiempos prolongados en líquidos y superficies como antisépticos, alimentos parenterales, fluidos de diálisis, así como también en

colecciones artificiales de aguas, como piscinas, depósitos, calentadores o baños de vapor. (30)

Es excepcional encontrarla como parte de la micloflora de individuos sanos, su temperatura optima de crecimiento es de 37°C, pero puede tolerar temperaturas fuertes de hasta 45°C - 50°C, y puede sobrevivir al menos hasta 70 días en agua destilada. (12)

Se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza, por su alto grado de adaptabilidad fisiológica y los elevados niveles de resistencias frente a numerosos agentes antimicrobianos, es reconocida como un gran problema de salud a nivel mundial, en Cuba está entre los 3 primeros gérmenes de alto riesgo, causante de la sepsis en los diferentes servicios hospitalarios. (30)

1.6.8. Resistencia a los antibióticos.

La *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria resistente, tanto de manera natural como adquirida, esto se debe a las características de su membrana celular que tiene propiedades excepcionales de impermeabilidad. (21)

Las *Pseudomonas* poseen también un número de factores estructurales y toxinas que aumentan la virulencia potencial del germen y lo hacen más resistente a la mayoría de antibióticos empleados de modo habitual. (45)

Los antibióticos son productos del metabolismo secundario de diversos microorganismos del suelo que participan en procesos ecológicos de competencia por nichos nutricionales y representan un ejemplo de diferenciación y especialización microbiana, es obvio que los microorganismos productores de antibióticos también posean mecanismos de resistencia a los mismos antibióticos que producen. (49)

En el 2017 la Organización Mundial de la Salud (OMS) publico una lista dividida en tres categorías; prioridad crítica, elevada y media. El grupo de prioridad crítica incluye las bacterias multirresistentes que son especialmente peligrosas en hospitales, residencias de ancianos y entres los pacientes que necesitan ser atendidos con dispositivos como ventiladores y catéteres intravenoso, este grupo de prioridad crítica lo integran bacterias como *Acinetobacter*,

Pseudomonas, enterobacteriáceas como *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia* y *Proteus*, bacterias que pueden ser letales al momento de causar una infección. Estas bacterias han adquirido resistencia a los mejores antibióticos disponibles, esta lista tiene la finalidad de animar a los gobiernos a la investigación científica y la inversión para el descubrimiento de nuevos antibióticos. (50)

Esta bacteria presenta una gran resistencia a ciertos antibióticos que mostraremos a continuación (21):

- Ampicilina
- Amoxicilina
- Amoxicilina/ácido clavulánico
- Primera generación de cefalosporina
- Segunda generación de cefalosporina
- Cefotaxima
- Ceftriaxoma
- Ertapenem
- Ácido Nalidixico
- Tetraciclina
- Fosfomicina
- Cloranfenicol

Se ha evidenciado que un 10,2 % de los tratamientos para la *Pseudomonas aeruginosa* emerge una cepa resistente que antes del tratamiento era sensible, esta inducción de resistencia varía dependiendo de cada antibiótico. (22)

En un estudio realizado en Colombia, sobre los mecanismos de resistencia de la *Pseudomonas aeruginosa*, nos dice que la infección nosocomial representa un gran reto y un grave problema para la salud publica ya que es multirresistente.

En Colombia el grupo GERMEN es el encargado de monitorear, diseñar e implementar un mecanismo de vigilancia, medidas de prevención y de control de las resistencias a los antimicrobianos en el departamento de Antioquia, ellos realizan investigaciones mensuales en clínicas y hospitales, uno de estos

elementos microbianos en la *Pseudomonas aeruginosa*, cuyo reporte entre los años 2014, 2015 y 2016 son elevados. (22)

Estos reportes de perfiles de sensibilidad a antibióticos antes mencionados se realizaron en unidades de cuidados intensivos y en áreas de hospitalización en diversos hospitales y clínicas del departamento de Antioquia, República de Colombia, los cuales se muestran a continuación.

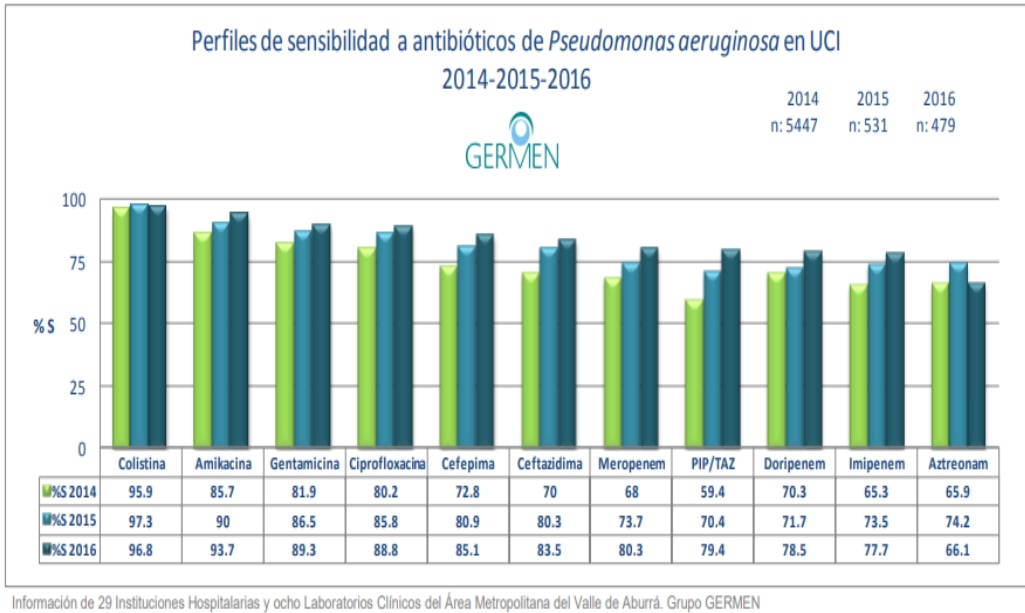


Ilustración 2. Perfiles de sensibilidad a antibióticos en UCI.
Fuente: Grupo GERMEN. Colombia.

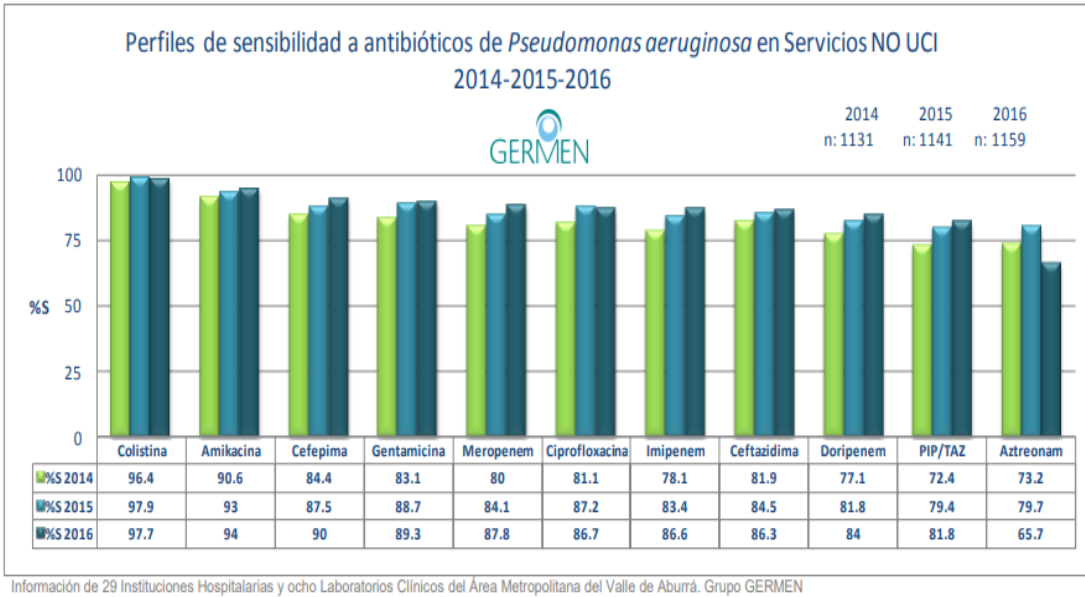


Ilustración 3. Perfiles de sensibilidad a antibióticos en no UCI.
Fuente: Grupo GERMEN. Colombia.

1.6.9. Uso clínico de Aminoglucósidos contra la *Pseudomona aeruginosa*.

Una publicación de la OPS/OMS en el año 2012, dice que los aminoglucósidos in vitro, demuestran sinergia en combinación con antibióticos activos contra la pared bacteriana como los betalactámicos. Esta sinergia ocurre contra bacterias como la *esterococos*, *estreptococos*, *Staphylococcus aureus*, contra enterobacterias y contra *Pseudomona aeruginosa*, *Listeria monnocytozenes* y *Corynebacterium jeikeium*. El efecto in vitro aunado al efecto bactericida y al efecto postantibiótico ha sido demostrado en diferentes estudios tanto en modelo animal como en el humano. (43)

1.7. La *Pseudomona aeruginosa* en el Ecuador.

En Ecuador, de acuerdo a la Red Nacional de Vigilancia de Resistencia Bacteriana, la *Pseudomona aeruginosa* es uno de los patógenos de mayor importancia médica y responsable del 10-15% de todas las infecciones nosocomiales. Casi todas las infecciones causadas por esta bacteria son tratable y potencialmente curable. (57)

1.8. Conclusiones del capítulo.

- Las plantas medicinales han ganado mucho terreno ante la medicina general, la gran variedad con usos terapéuticos que se expenden en mercados de la Costa, Sierra y Amazonia son en su mayoría nativas y comprenden el 60% del total de plantas útiles reportadas en el Ecuador.
- El seguimiento médico es de suma importancia en el historial clínico del paciente, ya que el uso que se le otorga a la medicina natural puede encontrar mejorías en ciertas patologías.
- En el año 2014 en Ecuador el ministerio de salud pública regularizó el ejercicio de la medicina alternativa, la misma que debe ser desempeñada por profesionales de la salud debidamente con título de la salud certificado y registrado por el ente regularizador de educación superior.
- *Pseudomona aeruginosa* es un patógeno nosocomial que si no se trata en su debido tiempo puede ser mortal en el ser humano ya que es resistente para algunos medicamentos.

CAPÍTULO II.

2. Marco metodológico y planteamiento de la propuesta.

2.1. Caracterización del sector.

2.1.1. Área de estudio.

El presente estudio se llevó a cabo en 3 provincias del Ecuador, los lugares se mencionan a continuación:

- **Provincia de Manabí, cantón Paján, Recinto Santa Bárbara.**
Lugar de recolección de las hojas de *Annona muricata* y el cuestionario etnofarmacológico.
- **Provincia de Chimborazo, Riobamba.**
Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, laboratorio de la escuela de Ciencias Naturales. Extracción de los extractos alcohólico, etéreo y Tamizaje fitoquímico.
- **Provincia del Guayas, cantón Durán.**
km 4,5 de la vía Durán – Tambo, Laboratorio Lazo, donde se realizó el análisis microbiológico.

2.2. Descripción de la metodología de la investigación.

La actividad antimicrobiana frente a un microorganismo se evaluará en tres fases, el estudio etnofarmacológico, la obtención de los extractos y el análisis microbiológico, dentro de estos últimos se determinará la concentración mínima inhibitoria, que consiste en establecer la menor concentración de un antibiótico capaz de inhibir visiblemente el crecimiento de un microorganismo.

2.2.1. Tipo de estudio

Cuantitativa: por la medición y análisis a los resultados obtenidos en el análisis se obtendrá la concentración del efecto antibacteriano.

Cualitativo: recolección de datos a través de las encuestas mediante la medición de la frecuencia y porcentaje a por medio de la aplicación de métodos estadísticos.

Experimental: Se determinará la relación entre las variables y los resultados obtenidos a través de procedimientos realizados.

Prospectivo: Se registrará los resultados obtenidos a partir de la fecha de análisis.

2.3. Tipo de investigación.

2.3.1. Investigación bibliográfica.

En el presente trabajo se utilizara la investigación bibliográfica, ya que permite realizar y analizar los contextos obtenidos de libros, tesis, artículos científicos, revistas, folletos y otras fuentes para así obtener ideas claras de lo que se está investigando.

2.3.2. Investigación de campo.

La investigación también es de campo, ya que se realizará una encuesta sobre el tema investigativo, es decir, sobre el conocimiento medicinal de las hojas de guanábana o sus componentes y en que situaciones la han utilizados.

2.3.3. Investigación experimental.

Mediante estudios realizados en laboratorio de análisis se realizara las pruebas para los extractos aplicando las técnicas y el crecimiento bacteriano para la obtención de los resultados.

2.4. Metodología, técnica e instrumentos.

2.4.1. Metodología.

En el presente trabajo se realizará un diseño de investigación de laboratorio y de campo, el primer paso es la identificación y recolección de la muestra de las hojas de *Annona muricata*, aplicando un criterio de inclusión y de exclusión para la obtención de los extractos, luego las hojas seleccionadas serán llevadas al Laboratorio de Ciencias Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (EPOCH), a cargo del botánico Jorge Caranquí, donde se hará la identificación de los metabolitos secundarios.

La evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractos etéreos y alcohólico se realizará en laboratorio Lazo, ubicado en el cantón Durán, de la provincia de Guayas. La actividad antibacteriana se evaluará por el método de difusión en agar (técnica Kirby - Bauer), donde la cepa en estudio para evaluar la posible actividad antibacteriana in vitro es la *Pseudomona aeruginosa*.

2.4.2. Técnicas.

Se realizará una observación de campo para proceder con una encuesta a la sociedad, sobre el uso de las hojas de *Annona muricata* y de su fruta como planta medicinal. La presente encuesta estará conformada por dos partes, la primera parte es la del consentimiento informado, la segunda parte es la evaluación.

Modelo del consentimiento informado y de encuesta a realizar.

UNIVERSIDAD REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES “UNIANDES”  FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS MAESTRÍA EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA CONSENTIMIENTO INFORMADO Fecha: _____ Estimado (a): Se le extiende una invitación para participar de un proyecto de investigación previo a la obtención del Título de Magíster en Farmacia Clínica y Hospitalaria de la “UNIANDES”, titulado “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO ALCOHÓLICO Y EXTRACTO ETÉREO DE <i>Annona muricata</i> FRENTE A <i>Pseudomona aeruginosa</i>”. El mismo que se encuentra dirigido por el QF. Mayra Stefanía Merchán Peñafiel, Maestrante. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, debe firmar esta forma de consentimiento. Deberá responder todas las preguntas de la encuesta, su participación es voluntaria y la información es confidencial. _____ ENCUESTADO (A). Encuesta evaluatoria de uso de las Hojas de Guanábana, <i>Annona muricata</i>, con fines medicinales.
--

UNIVERSIDAD REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES “UNIANDES”



**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
MAESTRÍA EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO ACADÉMICO DE MAGISTER
EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA**

ENCUESTA

**TEMA: “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO ALCOHÓLICO Y
EXTRACTO ETÉREO DE *Annona muricata* FRENTE A *Pseudomona aeruginosa*”**

OBJETIVO:

- Identificar el uso medicinal que le da la población a las hojas de Guanábana.

INFORMACIÓN:

Provincia: _____

Cantón: _____

Fecha: _____

Parroquia: _____

Lugar : _____

INSTRUCCIONES:

- Elija una X sus respuestas.
- Aportar información real permitirá tomar las acciones correctivas necesarias.
- Considere que al ser una encuesta anónima, esta resguarda su opinión y le brinda confidencialidad.
- Gratifico el tiempo dedicado a esta encuesta y su valiosa contribución.

DATOS GENERALES:

Sexo: Masculino ____ Femenino ____

Edad: _____ (en años)

Nivel de instrucción (último nivel alcanzado):

Secundaria ____

Tercer Nivel ____

Cuarto Nivel ____

Título: _____

Cuestionario Etnofarmacológico

UNIVERSIDAD REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES “UNIANDES”



**UNIVERSIDAD REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES “UNIANDES”
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

**MAESTRÍA EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO ACADÉMICO DE MAGISTER
EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA**

CUESTIONARIO:

¿Ha utilizado plantas para fines medicinales?

¿Cuáles? _____

1. ¿Conoce Ud. La planta de Guanábana?

() Sí () No

2. ¿La ha usado con fines medicinales?

() Sí () No

3. ¿Qué parte de la planta ha utilizado?

a) Hojas ____ b) Flores ____ c) Fruto ____ d) Semilla ____

4. ¿Quién se la indicó o le sugirió su uso?

a) Médico ____ b) Curandero ____ c) Familiares ____ d) Vecinos o amigos ____

5-¿En qué forma la ha utilizado? (Modo de uso)

a) ____ Infusión b) ____ Cocimiento c) ____ Planta cruda d) ____ Otra forma

¿Cuál? _____

6.- ¿Para qué uso medicinal ha utilizado la planta de *Annona muricata*?

a) ____ Dolor de cabeza b) ____ Dolor de Estómago c) ____ Dolor de Oído d) ____ Inflamación

7.- ¿Qué resultados obtuvo con su empleo?

a) ____ Mejoró b) ____ No mejoró c) ____ Empeoró

8.- ¿Durante qué tiempo la utilizó? (Duración del tratamiento)

a) ____ Un día b) ____ Menos de una semana c) ____ Más de una semana d) ____ Un mes

9.- En qué personas las ha usado:

En niños: ____ En adultos: ____ En ancianos: ____

Esta encuesta se realizará paralelamente a la continuación del desarrollo de la investigación, además se empleará un check list numerando los implementos y materiales necesarios en el laboratorio para el proyecto.

2.4.3. Instrumentos y reactivos.

2.4.3.1. Material de laboratorio.

- ✓ Mechero
- ✓ Matraz aforado
- ✓ Tubos de ensayos
- ✓ Mortero + pistilo
- ✓ Probeta de 100 ml
- ✓ Crisol
- ✓ Gradillas
- ✓ Balones aforados 10, 25, 100 ml
- ✓ Vasos de precipitación 50, 100, 250 ml
- ✓ Capsula de porcelana
- ✓ Embudos

2.4.3.2. Equipos.

- ✓ Estufa
- ✓ Rotavapor
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Cámara fotográfica
- ✓ Computadora

2.4.3.3. Reactivos.

- ✓ Ácido clorhídrico
- ✓ Cloruro de sodio
- ✓ Reactivo de Mayer
- ✓ Reactivo de Wagner
- ✓ Hidróxido de sodio
- ✓ Hidróxido de potasio
- ✓ Ácido sulfúrico concentrado

- ✓ Anhidro acético
- ✓ Carbonato de Sodio
- ✓ Reactivo de Fehling
- ✓ Tricloruro Férrico al 5%
- ✓ Acetato de Sodio
- ✓ Ácido clorhídrico concentrado
- ✓ Magnesio Metálico
- ✓ Reactivo de Dragendorff
- ✓ Colorante de Sudan

2.5. Elaboración de los Instrumentos de evaluación.

2.5.1. Selección de Material Vegetal

La investigación etnobotánica y etnofarmacológica de las especies vegetales para su posible utilización fitoterapéutica, exige un delicado protocolo de trabajo que incluye toda la escala de pruebas y ensayos, que van desde la selección de una determinada planta de acuerdo a una serie de criterios, hasta la realización de una exhaustiva gama de ensayos farmacológicos, químicos, fitoquímicos, toxicológicos y clínicos, que permitan la utilización de la planta como medicamento.

2.5.1.1. Recolección de la muestra de hoja de guanábana.

La recolección se realizó minuciosamente permitiendo obtener cantidades necesarias, correctas y adecuadas para obtener la presencia y contenido mayoritario de los principios activos para la presente investigación, evitando que se contamine o se mezcle con otras especies en la zona.

Las hojas se recolectaron entre sábado 13 y domingo 14 de enero del año 2018 en el recinto Santa Bárbara, parroquia Campozano del catón Paján, de la provincia de Manabí, aquí se eligieron las hojas jóvenes y sanas para evitar algún tipo de contaminación, estas plantas de guanábanas son de propiedad de familia Peñafiel-Pérez.

Después de la recolección de las hojas, estas fueron llevadas hasta el laboratorio de ciencias naturales de la ESPOCH.



Ilustración 4. Ubicación del recinto Santa Bárbara, cantón Paján
Fuente: GAD del cantón Paján.

- **Criterios de inclusión.**

Selección de las hojas de *Annona muricata* adultas y sanas.

- **Criterios de exclusión.**

Quedaran al margen de utilización las hojas de *Annona muricata* nacientes, adultas con manchas o estropeadas.



Ilustración 5. Hojas recolectadas de *Annona muricata*
Fuente: Mayra Merchán.

Después de la recolección de las hojas de *Annona muricata* se tomará en cuenta la población de la localidad para la encuesta etnofarmacológica.

Para la encuesta se tomara de muestra 150 personas, las cuales tienen un promedio de edad de 30 y 60 años.

La fórmula para encontrar la cantidad de personas a evaluar es la conocida como la del método del error standard o método matemático.

$$n = \frac{K^2 NPQ}{e^2(N - 1) + K^2 PQ}$$

Dónde:

N = Población

P = Probabilidad de éxito=0.5

Q = Probabilidad de fracaso=0.5

K = Coeficiente de Nivel de Confianza del 95% =2

E = 10% =0.1

Reemplazando valores en la ecuación tendremos:

$$n = \frac{(2)^2 150 (0.5)(0.5)}{(0.1)^2(150 - 1) + (2)^2(0.5)(0.5)}$$

$$n = \frac{150}{2,49}$$

$$n = 60,24$$

Redondeando el valor obtenido tenemos:

$$n = 60$$

La cantidad a evaluar es de 60 personas entre hombres y mujeres, a las cuales se les realizará 9 preguntas referentes al uso y conocimiento de la *Annona muricata*

2.6. Obtención de los extractos

2.6.1. Preparación del extracto alcohólico

Para la obtención de los extractos, primeramente se realizó la limpieza de la muestra para eliminar polvo e impurezas, el proceso fue el siguiente:

- Se aplicó agua destilada para quitar impurezas y polvo
- El secado, el secado se lo realizó durante 15 días en un lugar fresco y sin luz.
- Luego de este proceso se pesó 40 gramos de la muestra vegetal
- Posterior se trizaron las hojas
- Se puso a secar a estufa a 45°C por 72 horas.



Ilustración 6. Hojas de *Annona muricata* trizadas.



Ilustración 7. Secado de hojas en estufa
Fuente: Mayra Merchán.

Después de los 15 días de secados en un lugar fresco y sin luz, se tomó 100 gramos de hojas secas y se colocó en un molino para su molienda a razón de 30 gramos por molienda.

Para la extracción se tomó 10 gramos de planta seca y molida y se afors a 75 ml de alcohol etílico y éter dietílico respectivamente, luego se dejó macerar durante 24 horas.



Ilustración 8. Maceración de la muestra
Fuente: Mayra Merchán.

El esquema general para la obtención de los extractos desde la recolección de las hojas se detalla a continuación.

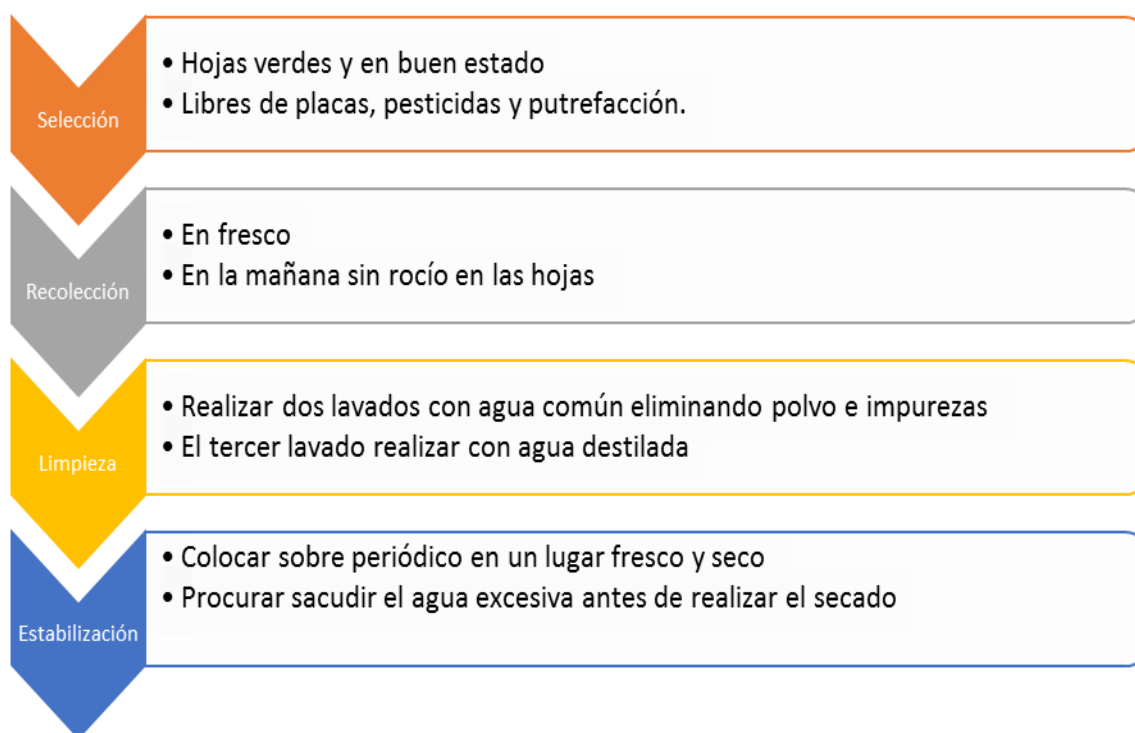


Ilustración 9. Proceso general de selección, recolección limpieza y estabilización de la muestra
Elaboración: Mayra Merchán.

Los extractos de hoja de guanábana obtenidos se los envaso en frasco color ámbar, limpios y desinfectados.

Una vez obtenidos los extractos se proceder a realizar las diluciones para obtener las concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%.

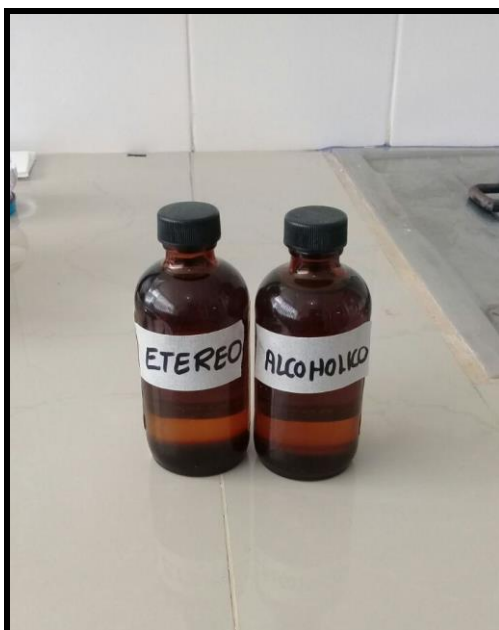


Ilustración 10. Muestras obtenidas de alcohol etílico y etéreo
Fuente: Mayra Merchán.

2.7. Preparación de las concentraciones.

El presente cálculo inicia desde el volumen obtenido de solución de extracto de *Annona muricata*, 100 ml. Para esto se aplicará la siguiente fórmula:

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

Despejando V_1 se tiene lo siguiente:

$$V1 = \frac{C2 * V2}{C1}$$

Donde:

C1 = equivale al 100% de la concentración inicial

C2 = concentración a la que queremos llegar, 25%, 50%, 75% y 100%

V1 = cantidad de ml de alcohol que debemos añadir para las concentraciones

V2 = Cantidad inicial en ml, (100 ml)

Se aplicara la siguiente ecuación para calcular los volúmenes de alcohol para las concentraciones requeridas.

$$V1 = \frac{C2 * V2}{C1}$$

2.8. Tamizaje Fitoquímico

2.8.1. Extracto alcohólico

Los extractos obtenidos de muestra vegetal objeto de la investigación se sometió a varias reacciones químicas para determinar, de forma cualitativa, los metabolitos secundarios que estaban presentes en las muestras se obtuvieron mediante los siguientes ensayos.

Tabla 9. Ensayos en el extracto alcohólico

Metabolito secundario	Método
Alcaloides	Ensayo de Dragendorff
	Ensayo de Mayer
	Ensayo de Wagner
Terpenoides	Ensayo de Lieberman-Burchard
Quininas	Ensayo de Borntrager
Cumarinas	Ensayo de Baljet
Catequinas	Ensayo de Catequinas
Resinas	Ensayo de Resinas
Saponinas	Ensayo de Espuma
Taninos	Ensayo de Cloruro Férrico
Azucres Reductores	Ensayo de Fehling
Flavonoides	Ensayo de Shinoda
Antocianidinas	Ensayo de Antocianidinas

Elaboracion: Mayra Merchán
Fuente: (BARAHONA CALLE C). (8)

Identificación de alcaloide

- **Ensayo de Dragendorff.**

La alícuota del extracto se evaporó en baño de agua y el residuo se debe redissolver en 1 ml de ácido clorhídrico al 1 % en agua.

Si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado (+++).

- **Ensayo de Mayer.**

Añadir una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer.

Observación de opalescencia (+), Turbidez definida (++), precipitado coposo (+++).

- **Ensayo de Wagner**

Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo.

Identificación de quininas

- **Ensayo de Borntrager**

Añadir 1 ml de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio ó amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo.

Fase acuosa alcalina (superior): Coloración rosada (++), coloración roja (+++).

Identificación de terpenoides

- **Ensayo de Liebermann-Burchard**

Adicionar 1 ml de anhídrido acético y se mezcla bien, agregar por la pared del tubo de ensayos 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar.

Un ensayo positivo al presentar una rápida de coloración:

- Rosado-azul muy rápido.
- Verde intenso-visible aunque rápido.
- Verde oscuro-negro-final de la reacción.

Identificación de Cumarinas

- **Ensayo de Baljet**

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo.

Identificación de Catequinas

- **Ensayo de catequinas**

Con un capilar tomar una gota del extracto y aplicar la solución sobre un disco de papel filtro. Sobre la mancha aplicar solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo.

Identificación de resinas

- **Ensayo de resinas**

Adicionar en 2 ml de la solución alcohólica, 10 ml de agua destilada.

La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

Identificación de Azúcares Reductores

- **Ensayo de Fehling**

Preparación del reactivo:

Solución A: Se pesan 35 g de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 ml.

Solución B: Se pesan 150 g de tartrato de sodio y potasio y 40 g de hidróxido de sodio y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 ml.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

Evaporar el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 a 2 ml de agua. Adicionar 2 ml del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla, el ensayo es positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.

Identificación de Saponinas

- **Ensayo de la espuma**

Se diluye la alícuota de 1 ml con 5 veces de su volumen en agua y se debe agitar la mezcla fuertemente por 5-10 minutos.

Este ensayo es considerado positivo si aparece espuma en la superficie del líquido, por más de 2 mm de altura, y por un tiempo de más de 2 minutos.

Identificación de Taninos

- **Ensayo del cloruro férrico**

A una alícuota de 1 ml del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua).

A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Coloración rojo-vino, compuestos fenólicos.
- Coloración verde intensa, presencia de taninos (pirocatecólicos).
- Coloración azul, presencia de taninos (pirogalotánicos).

Identificación de Flavonoides

- **Ensayo de Shinoda**

Agregar con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado a la alícuota del extracto alcohólico, y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción esperar por un lapso de 5 minutos, y añadir 1 ml de alcohol amílico, se mezclar las fases y dejar reposar hasta que se separen.

El ensayo positivo: cuando el alcohol amílico posee coloración amarilla, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos.

2.8.2. Preparación del extracto Etéreo.

En la tabla a continuación se muestra el esquema de ensayos utilizados.

Tabla 10. Ensayos en el extracto etéreo

Metabolito secundario	Método
	Ensayo de Dragendorff
Alcaloides	Ensayo de Mayer
	Ensayo de Wagner
Terpenoides	Ensayo de Lieberman-Burchard
Cumarinas	Ensayo de Baljet
Compuesto Grasos	Ensayo de Sudan III

Elaboracion: Mayra Merchán
Fuente: (BARAHONA CALLE C). (8)

Identificación de alcaloides

- **Ensayo de Dragendorff**

Colocar una alícuota en baño de agua, para evaporación del disolvente, el residuo redisolverse en 1 ml de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Se añade 3 gotas del reactivo de Dragendorff,

Resultados opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado (+++).

- **Ensayo de Mayer**

Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++), precipitado coposo (+++).

Observación: En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

- **Ensayo de Wagner**

Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma.

Identificación de cumarinas

- **Ensayo de Baljet**

En una alícuota se adiciona 1ml del reactivo de Baljet. Ensayo positivo coloración o precipitado rojo (++ y +++).

Identificación de Terpenoides

- **Ensayo de Liebermann-Burchard**

Adicional a la alícuota del extracto 1 ml de anhídrido acético y se mezcla bien.

Agregar por la pared del tubo de ensayos de 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar.

Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- 1- Rosado-azul muy rápido.
- 2- Verde intenso-visible aunque rápido.
- 3- Verde oscuro-negro-final de la reacción.

Identificación de compuestos grasos

- **Ensayo de Sudan**

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, a la alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añade 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente.

2.9. Análisis microbiológico.

2.9.1. Obtención de la cepa de *Pseudomona aeruginosa*.

La cepa de la bacteria *Pseudomona aeruginosa* será proporcionada por el Laboratorio Lazo, bajo la dirección de la Dra. Susana Lazo, en el cantón Durán de la provincia del Guayas, aquí se realizará la evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etéreos y alcohólico.

La actividad antibacteriana *in vitro* se determinará por el método de difusión en agar (técnica Kirby - Bauer).

2.9.2. Selección de la técnica Kirby – Bauer

El procedimiento Kirby–Bauer se utiliza para medir la sensibilidad de agente antibacteriano, y se basa en la difusión en un gel de agar de sustancias antimicrobianas que se impregnan en los discos de papel, para este método se utilizan discos de una sola concentración de agente antimicrobiano y las medidas de diámetros formados presentan una correlación con las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y se mide los halos de inhibición para determinar su concentración.

2.9.3. Selección de Agar

El medio de cultivo empleado para el presente estudio ha sido Mueller - Hinton, este ha sido seleccionado en función del microorganismo y de sus necesidades nutritivas y la técnica utilizada.

2.9.4. Preparación de Mueller – Hinton

El medio de cultivo debe diluirse en agua destilada, para diluir completamente el agar se debe calentar hasta ebullición agitándose de vez en cuando el preparado, luego de esto dejarse enfriar, El pH del medio debe encontrarse entre 7.2 y 7.4, verter 7 ml en las cajas monopetri estériles cuanto antes (ya que se puede solidificar), se debe evitar la formación de burbujas ya que estas dificultarían la posterior inoculación de las placas, y dejar solidificar, el medio debe esterilizarse para evitar el crecimiento de contaminantes, para esto se procede a preincubar a 35 °C por 24 horas.

Equipos a utilizar en el análisis microbiológico

- ✓ Estufa
- ✓ Mechero de Bunsen
- ✓ Refrigerador

Materiales

- ✓ Asa de inoculación
- ✓ Agitador de vidrio
- ✓ Matraz de 500 ml
- ✓ Estufa
- ✓ Cajas monopetri
- ✓ Pinzas estériles
- ✓ Papel filtro Whatman N° 42
- ✓ Calibrador Vernier

Bacteria en estudio.

- ✓ Cepa de *Pseudomona aeuroginosa* (ATCC 9027)

Reactivos

- ✓ Agar Mueller - Hinton

2.9.5. Procedimiento del Método Kirby-Bauer.

Incubación de la cepa en Agar Nutritivo

Las cepas aisladas se inocularon en agar nutritivo, se realizó una siembra por estrías, una siembra por triplicado y se incubó por 24 horas a 37°C y se conservó en refrigeración a 4 °C.

Siembra en Agar Mueller - Hinton

El ensayo se trabajó con la cepa bacteriana *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), donde se realizó la siembra sobre el agar Mueller- Hinton, de las bacterias que fueron cultivadas en el agar nutritivo, se tomó con 1 ml de una suspensión del microorganismo de 0.5 unidades McFarland.

Sobre el agar se colocaron los discos de papel filtro Whatman N° 45 impregnados de 100 microlitros de cada dilución de 25, 50, 75 y 100 % de los extractos etéreo y alcohólico.

Ambas pruebas se trabajaron por triplicado, se incubó a 35 ° C por 24 horas, al término de la incubación se leen los halos formados con un vernier en mm, se calcula el porcentaje del efecto inhibitorio respecto al control positivo que se realizó al aplicar la siguiente expresión.

$$\% \text{ Efecto inhibitorio} = \frac{\text{Media diámetro halo de inhibición del extracto}}{\text{Diámetro halo de inhibición control positivo}} \times 100$$

El análisis estadístico de los datos, se aplicó ANOVA unifactorial; el test de T Student, para muestra relacionadas y el test T, para muestras independientes.

2.10. Conclusiones del capítulo.

- La planta de guanábana fue seleccionada a través de una encuesta en la provincia de Manabí, cantón Paján, Recinto Santa Bárbara.
- Las hojas de *Annona muricata* fueron clasificadas y seleccionadas en base a criterios de inclusión y de exclusión, para realizar el estudio fitoquímico y la obtención de los extractos.
- A través de una encuesta se puede determinar el índice de uso y del nivel de uso significativo de la planta, además del grado de conocimiento en las personas sobre el uso medicinal de la *Annona muricata*, esta no denigra preferencias sociales o niveles de educación.
- La metodología planteada para realizar la marcha fitoquímica de las hojas de *Annona muricata* mediante los ensayos pertinentes determinará los metabolitos activos presentes.
- La actividad antibacteriana *in vitro* por el método de difusión en agar (técnica Kirby - Bauer), permite realizar una evaluación medible del comportamiento antimicrobiano de extractos vegetales.

CAPÍTULO III.

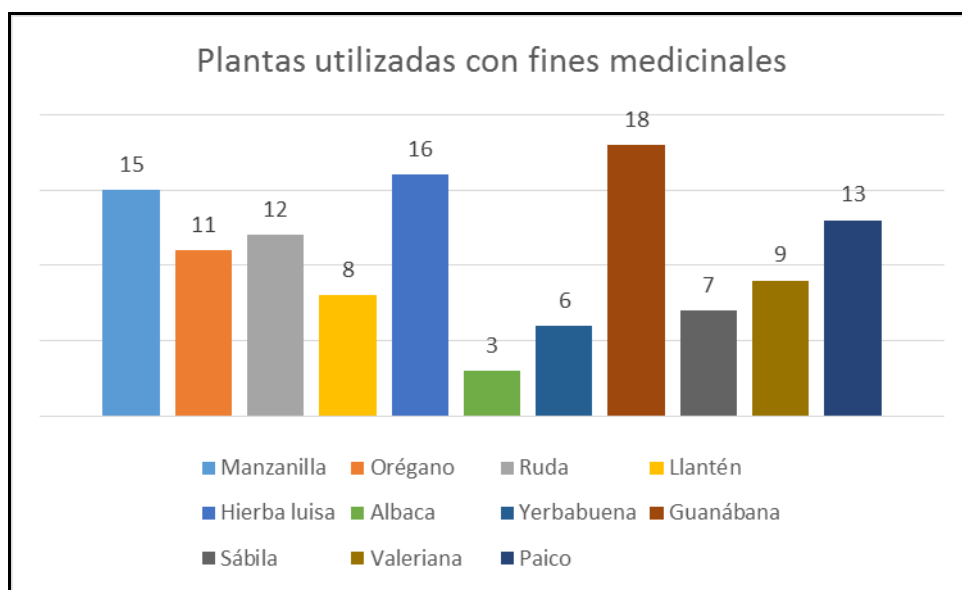
3. Análisis de resultados.

En el presente capítulo se presenta los resultados obtenidos mediante las encuestas y el tamizaje fitoquímico con los ensayos pertinentes, los cuales son el insumo para el análisis, a partir de estos podemos obtener las conclusiones del presente proyecto.

3.1. Resultados de encuestas realizadas, estudio etnofarmacológico.

Las encuestas sobre el conocimiento de los beneficios medicinales de la *Annona muricata* se la realizó en la Provincia de Manabí, Ciudad de Paján a 60 personas, las cuales mencionaron utilizar más de una planta para fines medicinales.

Ilustración 11. Cantidad de personas que han utilizado plantas medicinales



Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

En el cuadro mostrado, las plantas más utilizadas por las personas del sector fueron:

- ✓ Manzanilla
- ✓ Hierbaluisa
- ✓ Guanábana
- ✓ Paico

3.1.1. Nivel de uso significativo (UST)

Se utilizó la metodología propuesta por *Germosén-Robineau* (1995). Esta metodología, expresa que aquellos usos medicinales que son citados con una frecuencia superior o igual a 20% por los informantes, pueden considerarse significativos desde el punto de vista de su aceptación cultural y por lo tanto merece su evaluación y validación científica. (18)

$$UST = \frac{\text{Uso de especie(s)}}{nis} \times 100$$

Donde:

Uso de especies = número de citaciones para cada especie.

nis = número de informantes encuestados.

Remplazando los datos de las citaciones de guanábana en las encuestas en la ecuación tenemos:

$$UST = \frac{18 * 100}{60}$$

$$UST = 30\%$$

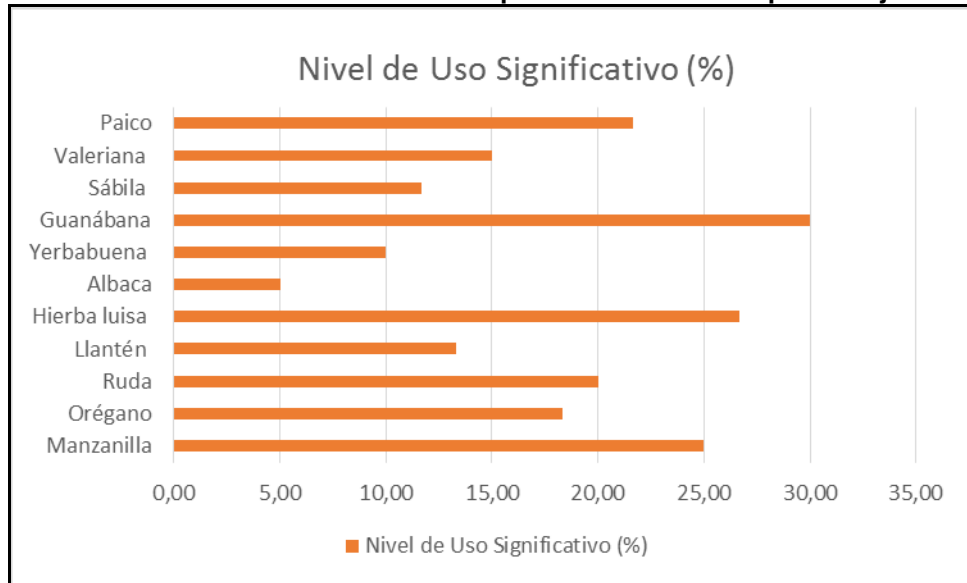
Este valor es mayor que el 25%, por lo que puede considerarse significativos desde el punto de vista de su aceptación cultural y por lo tanto merece su evaluación y validación científica.

Tabla 11. Nivel de uso significativo de las plantas con fines medicinales

Plantas utilizadas con fines medicinales	Cantidad de citaciones	Nivel de Uso Significativo (%)
<i>Manzanilla</i>	15	25,00
<i>Orégano</i>	11	18,33
<i>Ruda</i>	12	20,00
<i>Llantén</i>	8	13,33
<i>Hierba luisa</i>	16	26,67
<i>Albaca</i>	3	5,00
<i>Yerbabuena</i>	6	10,00
Guanábana	18	30,00
<i>Sábila</i>	7	11,67
<i>Valeriana</i>	9	15,00
<i>Paico</i>	13	21,67

Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

Ilustración 12. Nivel de uso de las plantas utilizadas en porcentajes



Fuente: Encuestas realizadas

Elaboración: Mayra Merchán.

3.1.2. Índice de valor de uso

El valor del uso según *Phillips y Gentry* (1993), expresa la importancia o valor cultural de una especie determinada para todo los informantes entrevistados. Para estimar este valor de uso general de cada especie para todos los informantes (IVUs), se utiliza la siguiente fórmula (18):

$$VUis = \frac{\sum Uis}{Nis}$$

Donde:

$\sum Uis$ = número de usos mencionados por cada informante (i), para cada especie(s)

Nis = número de informantes entrevistados

Datos:

$\sum Uis$ = 3 usos. (Fruto, Hojas y Semillas)

Nis = 60 personas

$$VUis = \frac{3}{60}$$

$$VUis = 0,05$$

Después de proceder a realizar los cálculos pertinentes, el valor cultural de la especie es de 0,05.

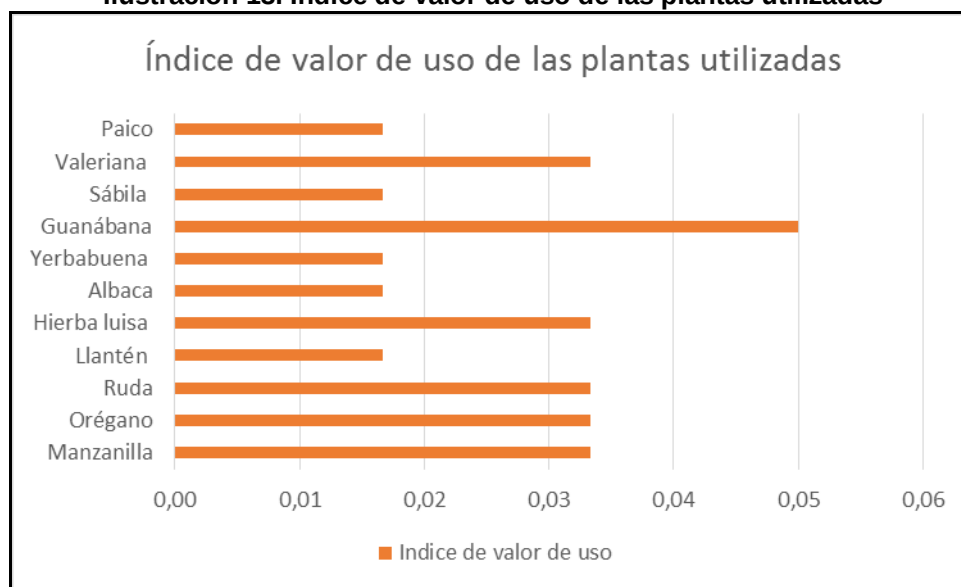
Tabla 12. Índice de valor de uso de las plantas con fines medicinales

<i>Plantas utilizadas con fines medicinales</i>	<i>Cantidad de uso</i>	<i>Índice de valor de uso</i>
Manzanilla	2	0,03
Orégano	2	0,03
Ruda	2	0,03
Llantén	1	0,02
Hierba luisa	2	0,03
Albaca	1	0,02
Yerbabuena	1	0,02
Guanábana	3	0,05
Sábila	1	0,02
Valeriana	2	0,03
Paico	1	0,02

Fuente: Encuestas realizadas

Elaboración: Mayra Merchán.

Ilustración 13. Índice de valor de uso de las plantas utilizadas



Fuente: Encuestas realizadas

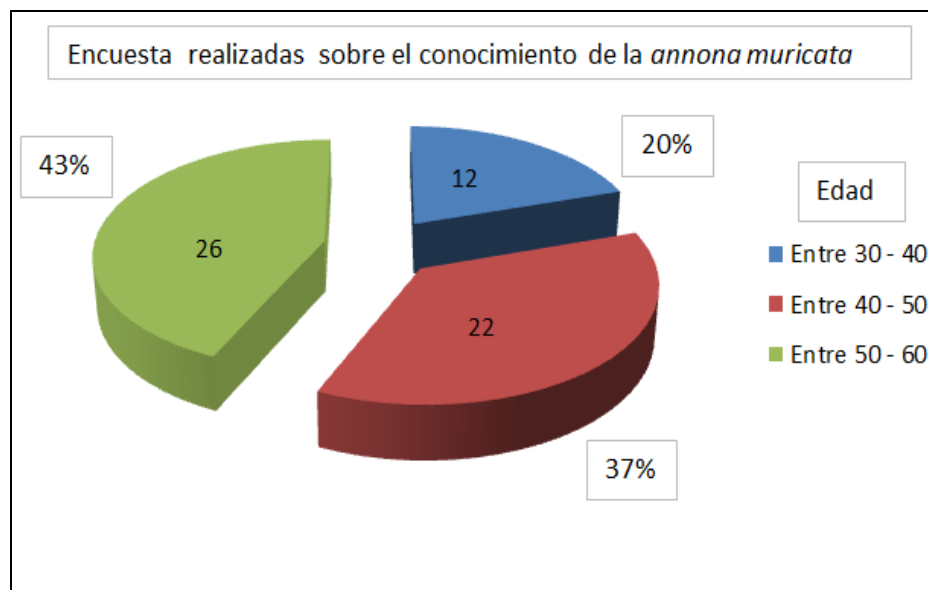
Elaboración: Mayra Merchán.

3.2. Porcentajes y edades de las personas encuestadas

Las edades de las personas encuestadas fueron de entre 30 y 60 años de edad, el total de encuestados fueron 60 personas, de los cuales 37 fueron mujeres y 23 hombres, el porcentaje de personas por edades fue el siguiente:

- Entre 30 – 40 años: 12 personas; 20%
- Entre 40 – 50 años: 22 personas; 37%
- Entre 50 – 60 años: 26 personas; 43%

Ilustración 14. Porcentajes y edades de las personas encuestadas.

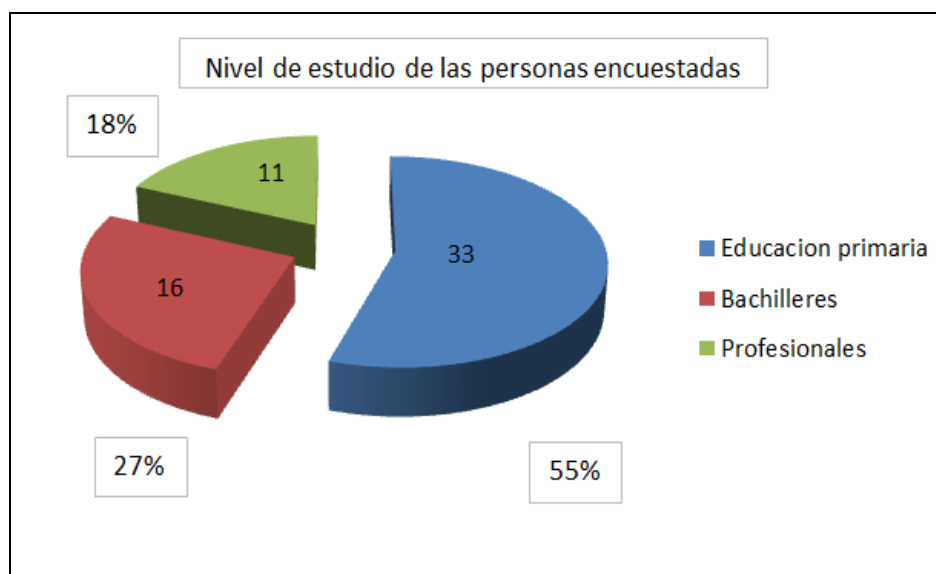


Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

3.3. Nivel de educación de los encuestados.

Las mayorías de las personas encuestadas, terminaron la educación primaria, es decir 33 personas que representan el 55 %, 16 personas son bachilleres y 11 profesionales.

Ilustración 15. Nivel de estudios de las personas encuestadas

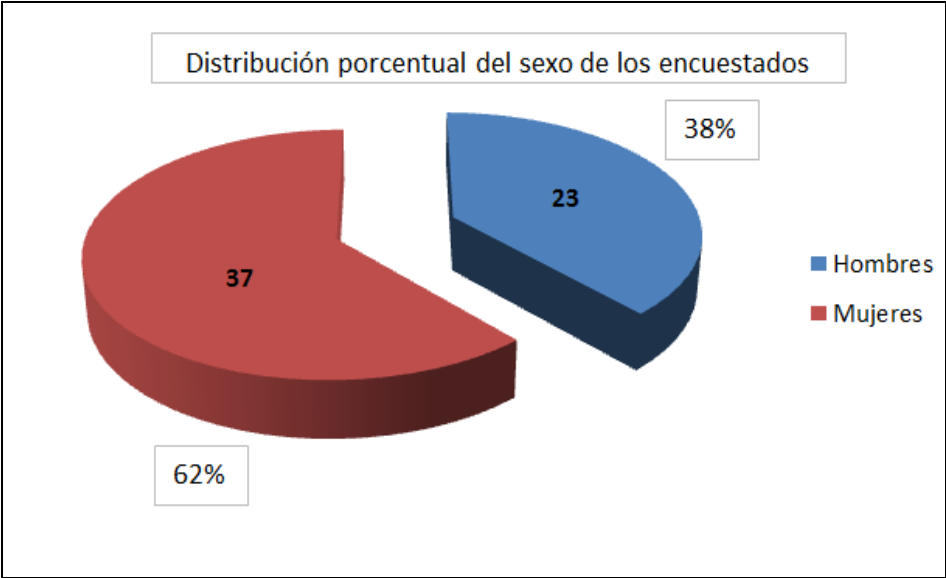


Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

3.4. Distribución porcentual del sexo de los encuestados.

El 62% fueron mujeres, mientras que el 38% fueron hombres.

Ilustración 16. Distribución porcentaje del sexo de los encuestados



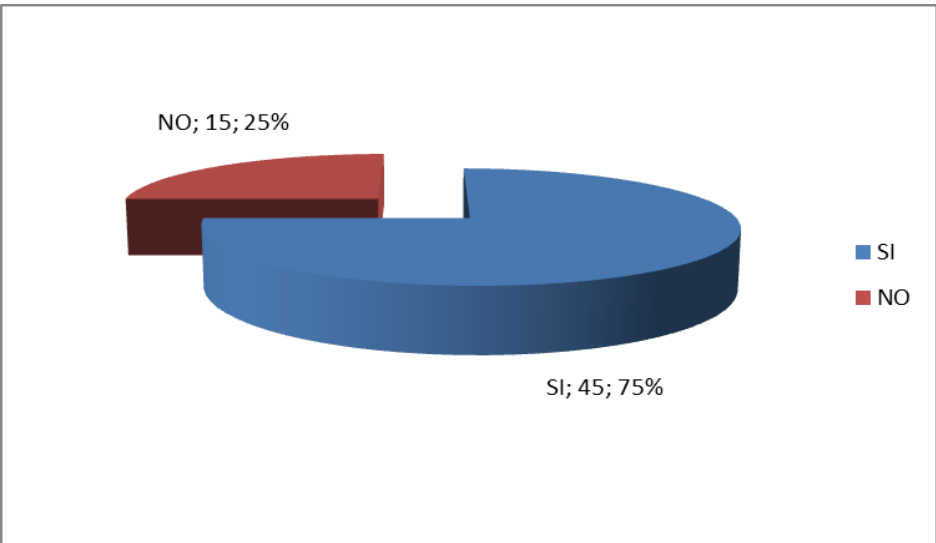
Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

3.5. Preguntas y resultados de las respuestas obtenidas en las encuestas.

1. ¿Conoce usted la planta de Guanábana?

SI	45
NO	15

Ilustración 17. Resultados de la pregunta 1

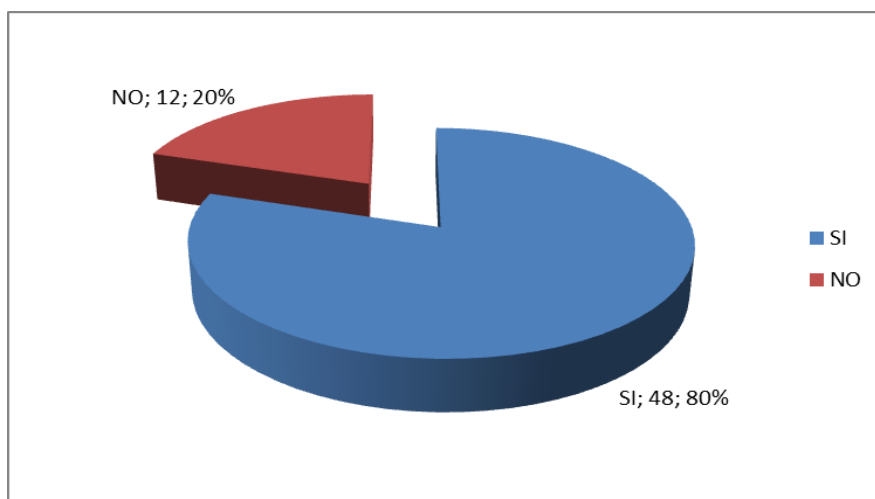


Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

2. ¿La ha usado con fines medicinales?

SI	48
NO	12

Ilustración 18. Resultados de la pregunta 2

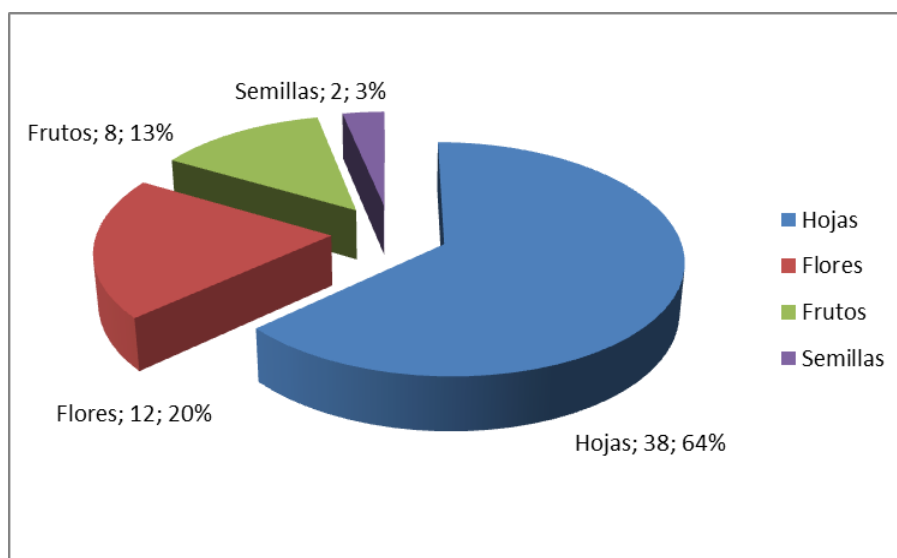


Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

2. ¿Qué parte de la planta ha utilizado?

Hojas	38
Flores	12
Frutos	8
Semillas	2

Ilustración 19. Resultados de la pregunta 3

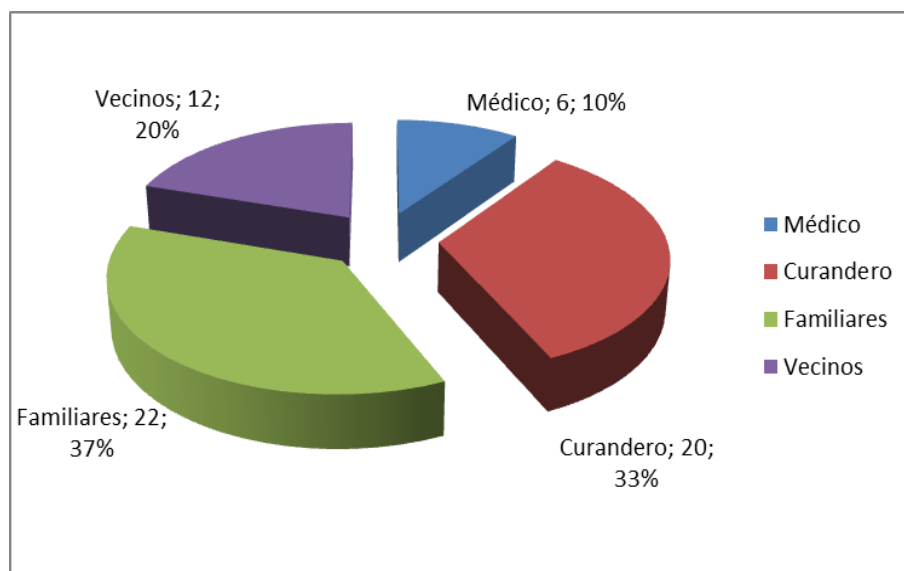


Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

3. ¿Quién se la indicó o le sugirió su uso?

Médico	6
Curandero	20
Familiares	22
Vecinos	12

Ilustración 20. Resultados de la pregunta 4

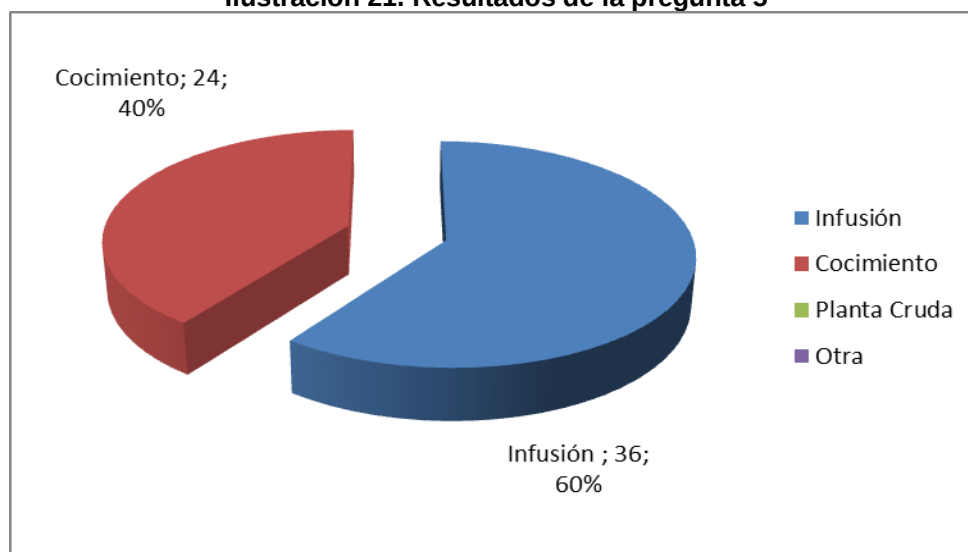


Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

5-¿En qué forma la ha utilizado? (Modo de uso)

Infusión	36
Cocimiento	24
Planta Cruda	0
Otra	0

Ilustración 21. Resultados de la pregunta 5

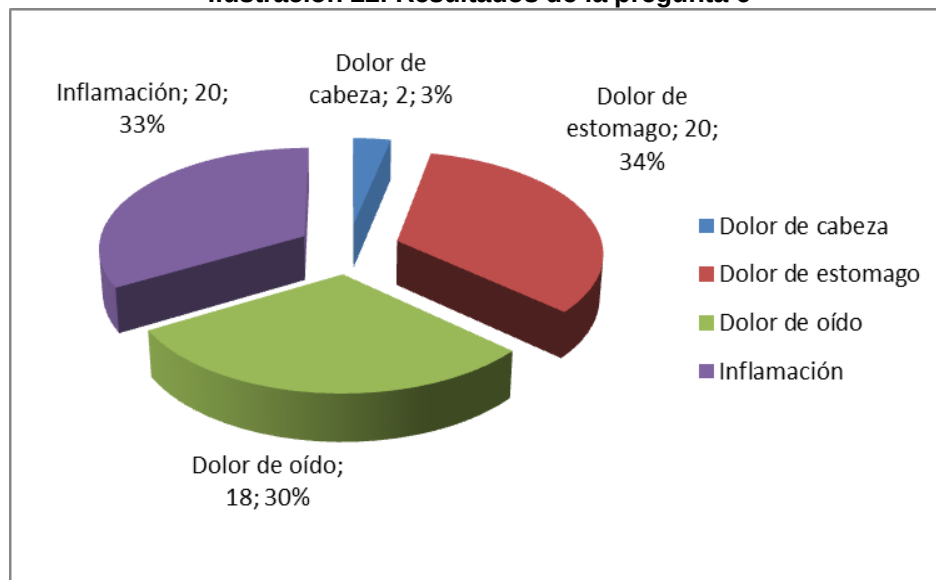


Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

6.- ¿Para qué uso medicinal ha utilizado la planta de *Annona muricata*?

Dolor de cabeza	2
Dolor de estomago	20
Dolor de oído	18
Inflamación	20

Ilustración 22. Resultados de la pregunta 6

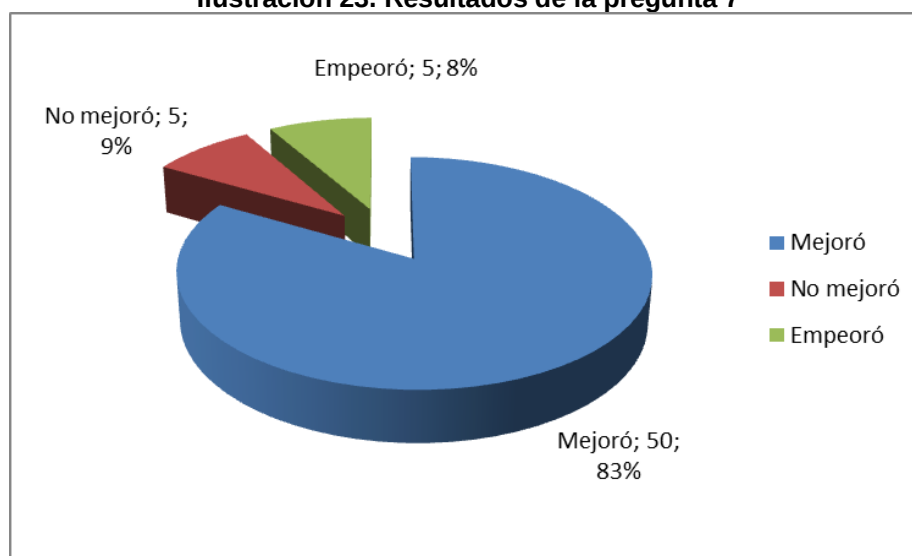


Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

7.- ¿Qué resultados obtuvo con su empleo?

Mejóro	50
No mejoró	5
Empeoró	5

Ilustración 23. Resultados de la pregunta 7

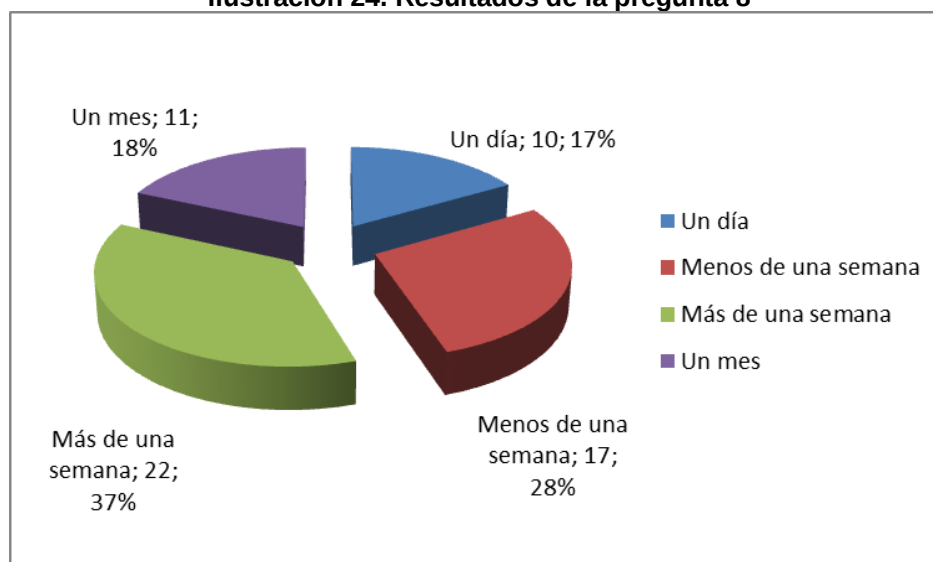


Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

8.- ¿Durante qué tiempo la utilizó? (Duración del tratamiento)

Un día	10
Menos de una semana	17
Más de una semana	22
Un mes	11

Ilustración 24. Resultados de la pregunta 8

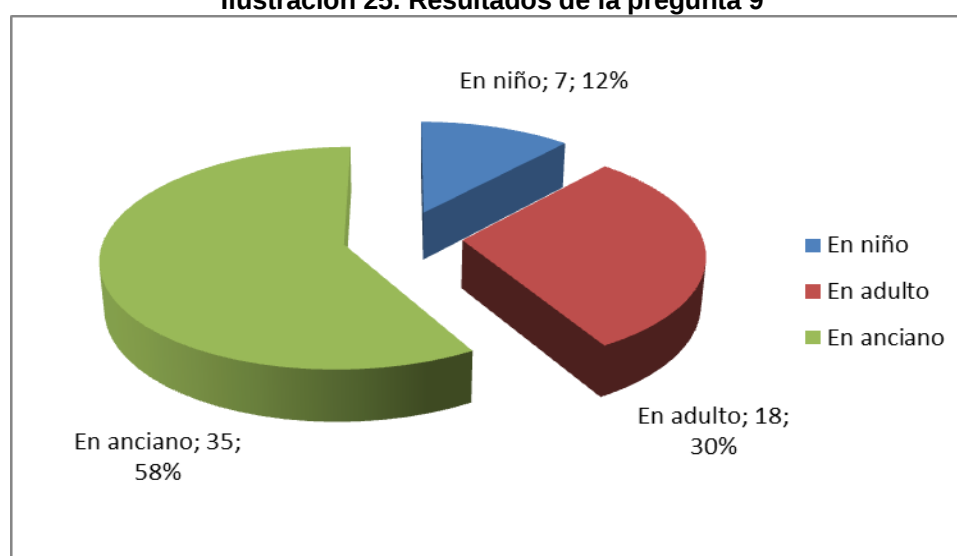


Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

9.- En qué personas las ha usado:

En niño	7
En adulto	18
En anciano	35

Ilustración 25. Resultados de la pregunta 9



Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

3.6. Resultados generales.

Después de revisar las encuestas realizadas, se generalizará las respuestas de mayor aceptabilidad, estas se presentan en la tabla N° 6, concluyendo lo siguiente:

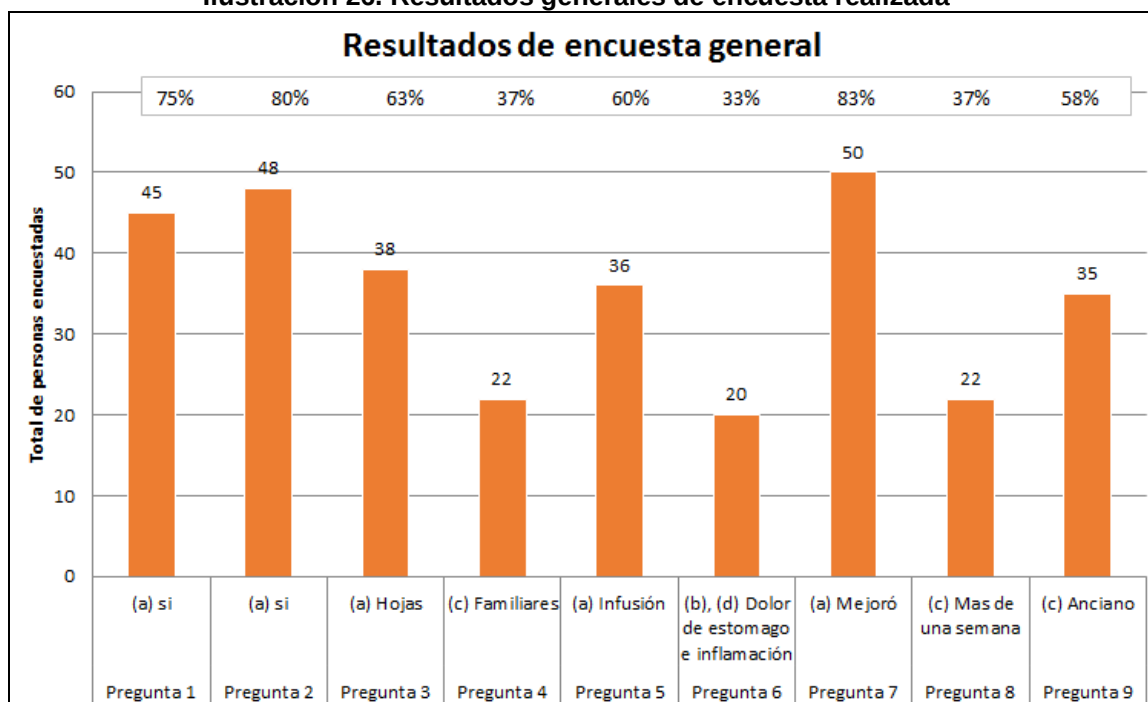
- El 80 % de las personas usan la planta como medicina natural.
- El 83% obtuvo resultados positivos después de usarla como remedio natural

Tabla 13. Resultados generales de la encuesta

Preguntas	Respuestas obtenidas (literales de aceptación)	Cantidad de personas
1	(a) si	45
2	(a) si	48
3	(a) Hojas	38
4	(c) Familiares	22
5	(a) Infusión	36
6	(b), (d) Dolor de estómago e inflamación	20
7	(a) Mejoró	50
8	(c) Más de una semana	22
9	(c) Anciano	35

Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

Ilustración 26. Resultados generales de encuesta realizada



Fuente: Encuestas realizadas
Elaboración: Mayra Merchán.

3.7. Resultados del tamizaje fitoquímico de la hoja de *Annona muricata*.

La interpretación de los resultados será de la siguiente manera, Cuando sale negativo (-) nos dice que la presencia de metabolitos es nula, baja evidencia (+), poca evidencia (++), evidencia alta (+++).

Tabla 14. Metodología de interpretación de resultados.

Interpretación de Resultados	Simbología
Negativo	(-)
Baja evidencia o intensidad de reacción para ese metabolito	(+)
Evidencia moderada de reacción	(++)
Alta evidencia o intensidad de reacción para ese metabolito	(+++)

Elaboración: Mayra Merchán.

3.8. Extractos alcohólicos.

Luego de realizar los ensayos pertinentes de laboratorio y de interpretar la simbología se determinaron los siguientes resultados de metabolitos, tanto en alta y nula presencia.

- No se evidencia metabolitos de:
 - ✓ Alcaloides
 - ✓ Cumarinas
 - ✓ Catequinas
 - ✓ Resinas.
- Se presenta una evidencia moderadas de:
 - ✓ Saponinas
 - ✓ Antocianidinas.
- Alta evidencia de:
 - ✓ Azucares Reductores,
 - ✓ Terpenoides
 - ✓ Flavonoides

Tabla 15. Resultados del tamizaje fitoquímico, extractos alcohólicos

Metabolito secundario	Método	Resultados obtenidos
Alcaloides	Ensayo de Dragendorff	+
	Ensayo de Mayer	-
	Ensayo de Wagner	-
Terpenoides	Ensayo de Lieberman-Burchard	++ (verde oscuro-negro)
Quininas	Ensayo de Borntrager	++
Cumarinas	Ensayo de Baljet	-
Catequinas	Ensayo de Catequinas	-
Resinas	Ensayo de Resinas	-
Saponinas	Ensayo de Espuma	++
Taninos	Ensayo de Cloruro Férrico	+
		(verde intenso)
Azúcares Reductores	Ensayo de Fehling	+++
Flavonoides	Ensayo de Shinoda	+++
Antocianidinas	Ensayo de Antocianidinas	++

Fuente: Resultados de pruebas elaboradas en los laboratorios de la EPOCH

Elaboración: Mayra Merchán.

3.9. Extractos etéreos.

De los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico realizado en el laboratorio podemos concluir lo siguiente:

- No hay evidencia de Alcaloides, Cumarinas ni Compuestos Grasos
- Se presenta una evidencia moderadas de Terpenoides.

Tabla 16. Resultados del tamizaje fitoquímico, extractos etéreos

Metabolito secundario	Método	Resultados obtenidos
Alcaloides	Ensayo de Dragendorff	-
	Ensayo de Mayer	-
	Ensayo de Wagner	-
Terpenoides	Ensayo de Lieberman-Burchard	++ (verde intenso)
Cumarinas	Ensayo de Baljet	-
Compuesto Grasos	Ensayo de Sudan III	-

Fuente: Resultados de pruebas elaboradas en los laboratorios de la EPOCH

Elaboración: Mayra Merchán.

3.10. Resultado general del tamizaje fitoquímico.

Tabla 17. Resultados del tamizaje fitoquímico, extractos alcohólico y etéreo

Metabolito secundario	Método	Alcohólico	Resultados Etéreo	Acuoso
Alcaloides	Ensayo de Dragendorff	+	-	++
	Ensayo de Mayer	-	-	+
	Ensayo de Wagner	-	-	+
Terpenoides	Ensayo de Lieberman-Burchard	++	++	
Compuesto Grasos	Ensayo de Sudan III		-	
Quininas	Ensayo de Borntrager	++		
Cumarinas	Ensayo de Baljet	-	-	
Catequinas	Ensayo de Catequinas	-		
Resinas	Ensayo de Resinas	-		
Saponinas	Ensayo de Espuma	++		+
Taninos	Ensayo de Cloruro Férrico	+		-
Azucres Reductores	Ensayo de Fehling	+++		
Flavonoides	Ensayo de Shinoda	+++		+
Antocianidinas	Ensayo de Antocianidinas	++		
Mucílagos	Ensayo de Mucílagos			-

Interpretación de resultados:

No hay metabolitos (-). Baja evidencia (+).

Poca evidencia (++). Evidencia alta (+++).

Fuente: Resultados de pruebas elaboradas en los laboratorios de la EPOCH

Elaboración: Mayra Merchán.

En la tabla se muestran los resultados generales del tamizaje fitoquímico, realizado con las extracciones alcohólicas y etéreas a partir de la hoja de guanábano, estos mostraron los siguientes resultados.

- Alta evidencia de Alcaloides, Terpenoides, Saponinas Flavonoides. Evidencia moderada de Quininas y Antocianidinas
- Baja evidencia de taninos.

3.11. Preparación de las concentraciones.

Aplicaremos la siguiente formula detallada en la metodología:

$$C1 * V1 = C2 * V2$$

Despejando V_1 tenemos lo siguiente:

$$V1 = \frac{C2 * V2}{C1}$$

Donde:

C1 = Equivale al 100% de la concentración inicial

C2 = Concentración a la que queremos llegar, 25%, 50%, 75%

V1 = Cantidad de ml de alcohol que debemos añadir para las concentraciones

V2 = Cantidad inicial en ml, (100 ml)

La ecuación para calcular el volumen requerido de alcohol para las concentraciones requeridas es la siguiente:

Concentración al 25%

$$V1 = \frac{25\% * 100ml}{100\%}$$

$$V1 = 25ml$$

Concentración al 50%

$$V1 = \frac{50\% * 100ml}{100\%}$$

$$V1 = 50ml$$

Concentración al 75%

$$V1 = \frac{75\% * 100ml}{100\%}$$

$$V1 = 75ml$$

Concentración al 100%

$$V1 = \frac{100\% * 100ml}{100\%}$$

$$V1 = 100ml$$

En cuanto a la determinación del efecto inhibidor del extracto alcohólico y extracto etéreo de *Anonna muricata* en concentraciones al 25%, 50%, 75 % y 100 % sobre el crecimiento in vitro de *Pseudomona aeruginosa*, se realizó el análisis estadísticos de los datos aplicando ANOVA unifactorial. Se utilizó como control positivo la Gentamicina y como control negativo el agua destilada.

Para determinar los intervalos en milímetros de los halos de inhibición de crecimiento de microorganismo, se tomó la escala de Duraffourd que demuestra la sensibilidad de la bacteria frente al extracto etílico y etéreo.

- Nula..... si es inferior a 6 mm
- Sensibilidad límitede 6 - 14 mm
- Sensibilidad mediade 14 - 20 mm
- Sumamente sensiblesuperior a 20 mm

Tabla 18. Promedio de halo de inhibición en el extracto alcohólico

Halos de inhibición (mm)			
Dilución %	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)
25	0	0	0
50	0	0	0
75	0	0	0
100	3	3	4
Control Blanco	0	0	0
Control Positivo	16	16	16

Tabla 19. Promedio de halo de inhibición en el extracto etéreo

Halos de inhibición (mm)			
Dilución %	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)
25	0	0	0
50	0	0	0
75	0	0	0
100	3	4	4
Control Blanco	0	0	0
Control Positivo	16	16	16

3.12. Análisis estadístico.

La evaluación estadística por medio del Análisis de varianza (ANOVA), determinó un valor de $p < 0,0001$ por lo que se rechaza la no existencia de actividad antimicrobiana de los extracto alcohólico y etéreo de la *Annona muricata*, es decir; se descarta la hipótesis nula.

Tabla 20. Análisis de varianza del extracto alcohólico

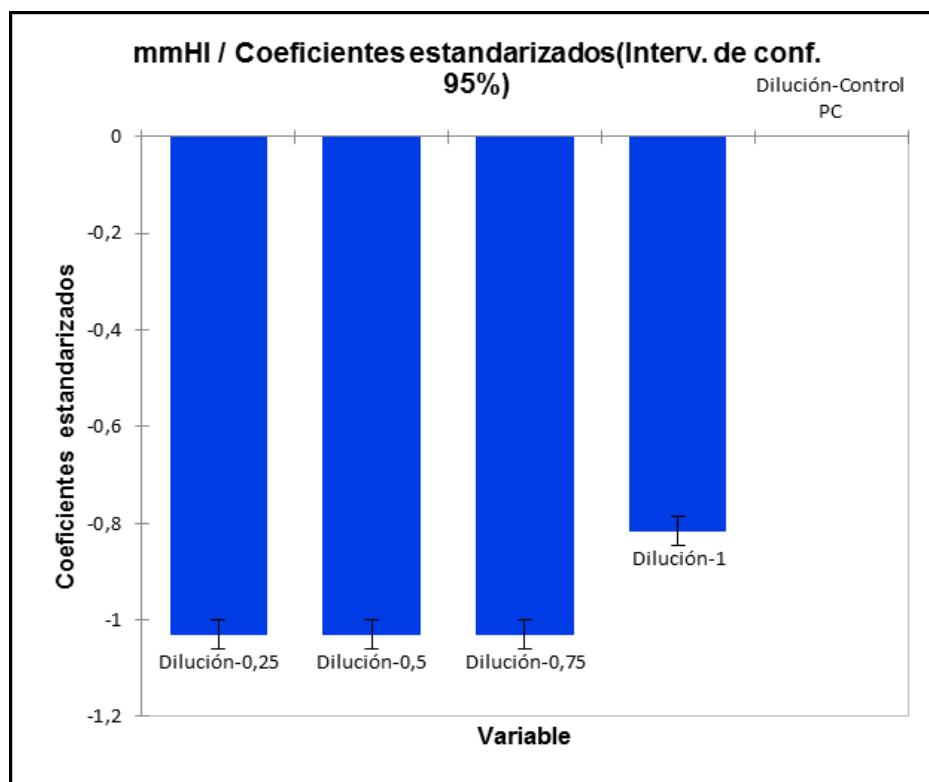
Análisis de varianza (mmHI):

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	4	577,067	144,267	2164,000	< 0,0001
Error	10	0,667	0,067		
Total corregido	14	577,067			

Calculado contra el modelo $Y = \text{Media}(Y)$

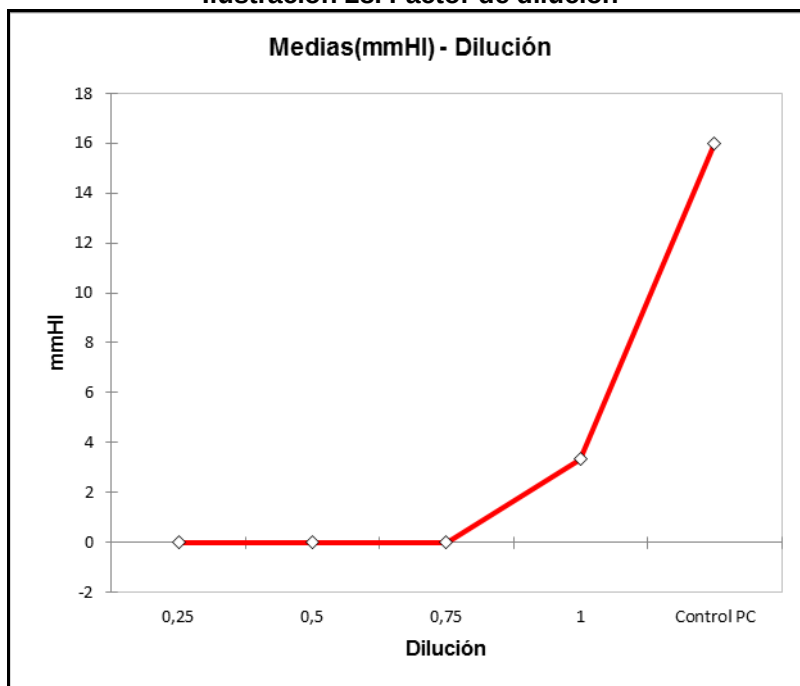
Fuente: Estadísticas ANOVA

Ilustración 27. Coeficientes estandarizados del extracto alcohólico



Fuente: Estadísticas ANOVA

Ilustración 28. Factor de dilución



Fuente: Estadísticas ANOVA

Extracto alcohólico	Halos de inhibición		
Dilución (%)	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)
25%	0	0	0
50%	0	0	0
75%	0	0	0
100%	3	3	4
Control Positivo	16	16	16



Tabla 21. Análisis de varianza del extracto etéreo

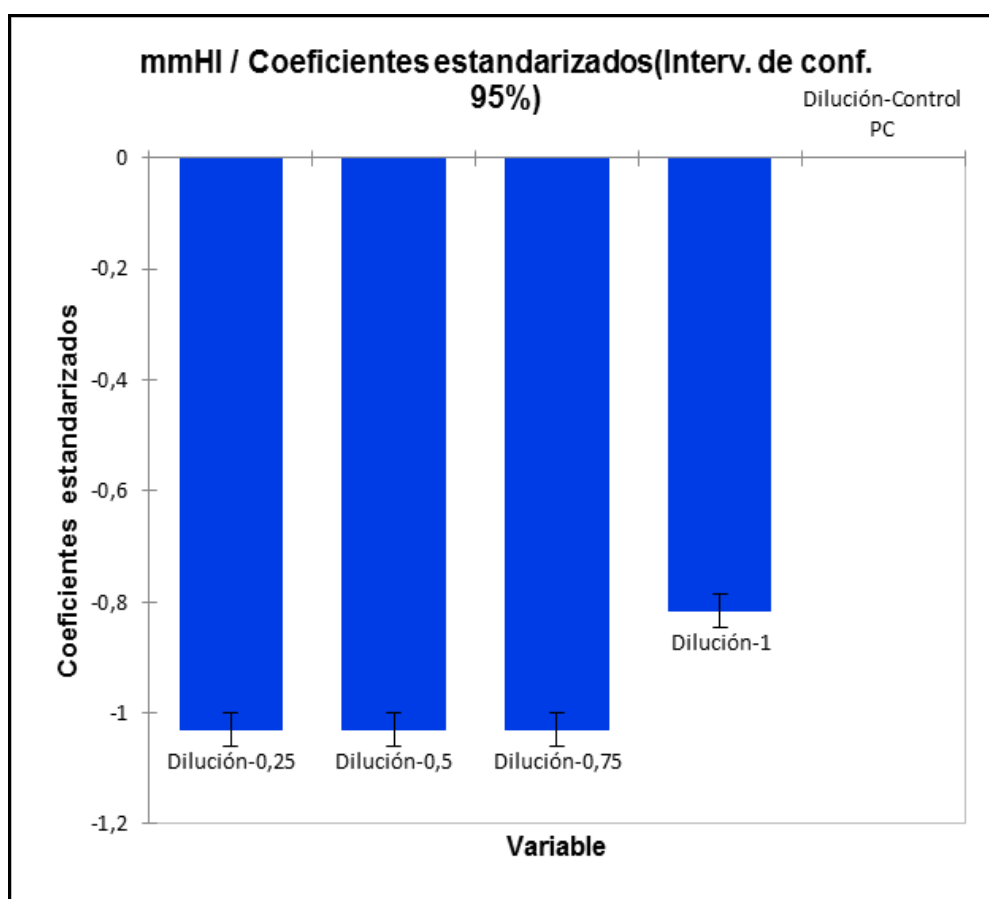
Análisis de varianza (mmHI):

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F	Pr > F
Modelo	4	577,067	144,264	2164,000	< 0,0001
Error	10	0,667	0,067		
Total corregido	14	577,733			

Calculado contra el modelo $Y = \text{Media}(Y)$

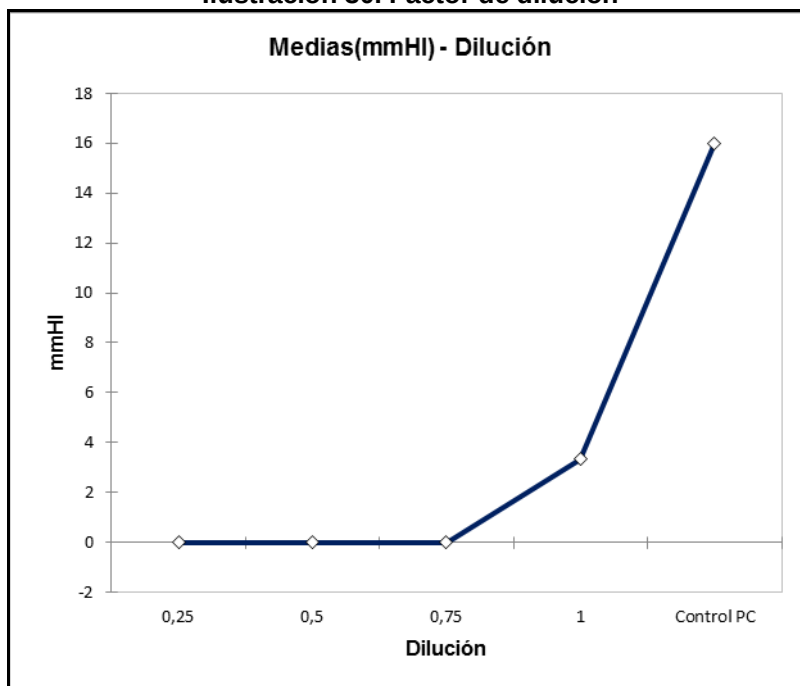
Fuente: Estadísticas ANOVA

Ilustración 29. Coeficientes estandarizados del extracto etéreo



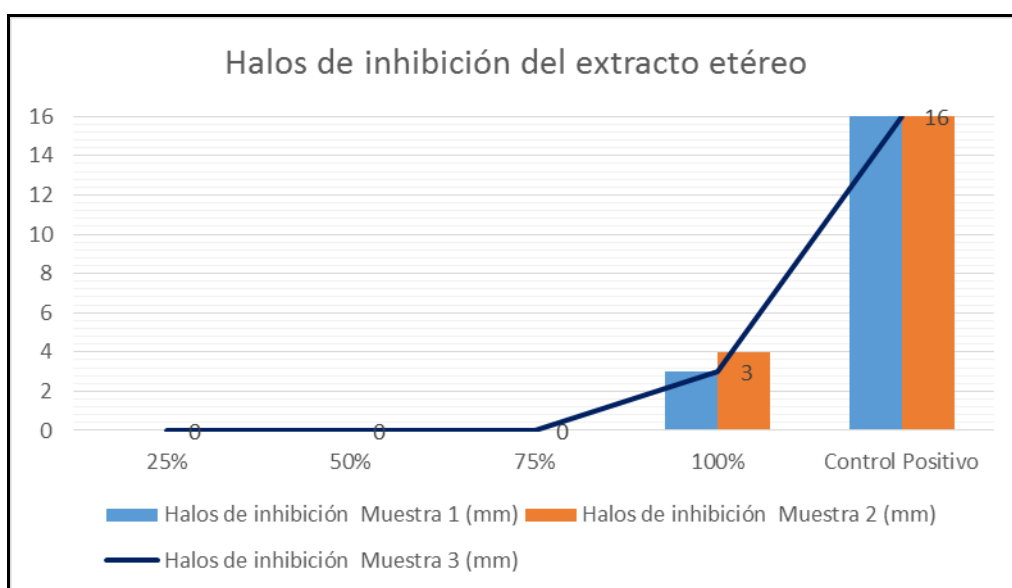
Fuente: Estadísticas ANOVA

Ilustración 30. Factor de dilución



Fuente: Estadísticas ANOVA

Extracto etéreo	Halos de inhibición		
Dilución (%)	Muestra 1 (mm)	Muestra 2 (mm)	Muestra 3 (mm)
25%	0	0	0
50%	0	0	0
75%	0	0	0
100%	3	4	3
Control Positivo	16	16	16



3.13. Conclusiones del capítulo.

- La marcha fitoquímica determinó en el extracto alcohólico flavonoides en alta intensidad de reacción y en el extracto etéreo terpenoides en una intensidad moderada de reacción.
- Los resultados del estudio etnofarmacológico determinaron que la *Annona muricata* tiene un nivel de uso significativo del 30% y un índice de valor de uso de 0,05 por lo que se puede considerar aceptable desde el punto de vista cultural.
- En la encuesta sobre el conocimiento medicinal de la *Annona muricata*, se observó que el 75% de las personas tienen noción sobre el uso terapéutico de la planta en estudio.
- En la actividad antimicrobiana con las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% de extracto alcohólico y etéreo sobre la *Pseudomona aeruginosa*, se obtuvieron halos de inhibición menores a 6 mm, indicando una actividad nula según la escala de Duraffourd.

CAPITULO IV

4.1. Conclusiones generales

- Al determinar el estudio bibliográfico de la planta de *Annona muricata* y la encuesta a la población que utiliza estas hojas con fines medicinales, se evidenció como uso principal la infusión, para inflamación e infecciones estomacales.
- En el estudio fitoquímico del extracto alcohólico se evidenció alto contenido de flavonoides y azúcares reductores, el estudio del extracto etéreo determinó terpenoides como metabolito secundario.
- En el análisis microbiológico realizado con la concentración del 100%, se produjo halos de inhibición menores a 6 mm, que en la escala de Duraffourd representa una actividad nula contra la cepa *Pseudomona aeruginosa*.
- En el análisis estadístico ANOVA determinó un valor de $p < 0,001$ por lo que se rechaza la no existencia de actividad antimicrobiana de los extracto alcohólico y etéreo de la *Annona muricata*.

4.2. Recomendaciones.

1. Evaluar la actividad antimicrobiana del extracto alcohólico y etéreo de la *Annona muricata* frente a otras cepas de bacterias.
2. Realizar combinaciones con plantas con propiedades antibacteriana frente a microorganismos de interés médico
3. Utilizar concentraciones mayores para determinar su efecto antibacteriano del extracto etéreo y alcohólico de las hojas de *Annona muricata*

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/" http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/ .
2. Nutriciencias. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://nutriciencia.altervista.org/who-monograph.html" <http://nutriciencia.altervista.org/who-monograph.html> .
3. Vidal Hernandez L, Vidal Martinez A, Castillo D. Propuesta de un plan de desarrollo integral del guanabano. Scielo. .
4. Igwilo K, Anawe P. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=77627" <http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?PaperID=77627> .
5. Mendez Cruz JL, Gutiérrez Hernández R, Lazalde Ramos B. USOS TERAPÉUTICOS DE LA GUANABANA (*Annona muricata*). En: 2012 p. 1.
6. Graviola Guanabana, Información y característica botánica. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "https://graviola-guanabana.jimdo.com/productos/graviola-amaz%C3%B3nica/informaci%C3%B3n-y-caracter%C3%ADstica-bot%C3%A1nica/" <https://graviola-guanabana.jimdo.com/productos/graviola-amaz%C3%B3nica/informaci%C3%B3n-y-caracter%C3%ADstica-bot%C3%A1nica/> .
7. INIAP. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. [Online]; 2018. Disponible en: HYPERLINK "http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mfruti/rguanabana" <http://tecnologia.iniap.gob.ec/index.php/explore-2/mfruti/rguanabana> .
8. BARAHONA CALLE C. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y VALOR NUTRACÉUTICO DE LAS HOJAS Y FRUTO DE LA GUANABANA..
9. Arroyo , Prashad M, Vásquez Y, Li E, Tomás G. Actividad citotóxica in Vitro de la mezcla de *Annona muricata* y *Krameria Lappacea* sobre células cancerosas de glándula mamaria, pulmón y sistema nervioso central. Scielo, Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. 2005.
10. Palacios Palacios M. FARMACOGNOSIA. [Online]; 2009. Disponible en: HYPERLINK "http://farmacognosia-farmacauladech.blogspot.com/" <http://farmacognosia-farmacauladech.blogspot.com/> .
11. Luján Roca DÁ. Pseudomonas aeruginosa: un adversario peligroso. Scielo. 2014.
12. INSHT INdSeHeet. Pseudomonas aeruginosa. Databio. .
13. Morón Rodríguez , Morón Pinedo , Nodarse Rodríguez M. Valoración de la evidencia científica para recomendar *Annona muricata* L. (guanábana) como tratamiento o prevención del cáncer. Scielo Cuba. 2010.
14. Samprieto A, Isla M, Quiroga E, Vattuone M. Importancia del estudio fitoquímico en la formación del profesional farmacéutico. Acta Farmacéutica Bonaerense. ; 16.

15. Velez-Terranova M, Campos Gaona R, Sanchez-Guerrero H. USO DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE LAS PLANTAS PARA REDUCIR LA METANOGENESIS RUMINAL. Redalyc. 2014.
16. Aguilar Robalino H, Cartagena Faytong I. Repositorio Espol. [Online].; 2010.. Disponible en: HYPERLINK "https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/13425/7/TESINA.pdf" <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/13425/7/TESINA.pdf> .
17. Flores Ruiz K, Albizu Fargas M. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://repositorio.una.edu.ni/1070/1/tnp01f634.pdf" <http://repositorio.una.edu.ni/1070/1/tnp01f634.pdf> .
18. Toscano Gonzáles J. USO TRADICIONAL DE PLANTAS MEDICINALES EN LA VERED SAN ISIDRO, MUNICIPIO DE SAN JOSÉ DE PARE-BOYACÁ: UN ESTUDIO PRELIMINAR USANDO TÉCNICAS CUANTITATIVAS. Scielo, Acta Biológica Colombiana. 2006; 11.
19. Perez Machín M, Sueiro Oyarzun M, Boffill Cárdenas MdlÁ, Morón Rodríguez F. Estudio etnobotánico de las plantas más utilizadas. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.
20. Ruíz Martínez L. *Pseudomonas aeruginosa*: aportacion al conocimiento de su estructura y al de los mecanismo que contribuyen a su resistencia a los antimicrobianos..
21. Gómez Álvarez C, Leal Castro A, Pérez de Gonzalez MdJ, Navarrete Jiménez. MECANISMOS DE RESISTENCIA EN PSEUDOMONAS AERUGINOSA: ENTENDIENDO A UN PELIGROSO ENEMIGO. Scielo. 2005.
22. Grupo GERMEN.
http://www.grupogermen.org/pdf/pseudomonas_aeruginosa_12_14.pdf.
[Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.grupogermen.org/pdf/pseudomonas_aeruginosa_12_14.pdf" http://www.grupogermen.org/pdf/pseudomonas_aeruginosa_12_14.pdf .
23. Lock O, Rojas R. revistas.pucp.edu.pe. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/viewFile/18656/18907" <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/viewFile/18656/18907> .
24. Correa Gordillo J, Sánchez Mejía M, Ortiz. Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromaticas. [Online]; 2012. Disponible en: HYPERLINK "http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85622734002" <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85622734002> .
25. Moos V. Cáncer, recursos e información. [Online].; 2014.. Disponible en: HYPERLINK "http://www.cancer.vg/es/annonamuricata-guanabana-graviola" <http://www.cancer.vg/es/annonamuricata-guanabana-graviola> .
26. Rodríguez É. Agencia Informativa CONACYT. [Online]; 2018. Disponible en: HYPERLINK "http://conacytprensa.mx/index.php/ciencia/salud/13522-fectos-secundarios-extracto-hoja-guanabana" <http://conacytprensa.mx/index.php/ciencia/salud/13522-fectos-secundarios-extracto-hoja-guanabana>

[extracto-hoja-guanabana](#) .

27. Quispe A, Zavala D, Rojas J, Posso M, Vaisberg A. Scielo Perú. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342006000400006"
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342006000400006 .
28. plantas-medicinal-farmacognosia. [Online]; 2018. Disponible en: HYPERLINK "https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/introduccion-a-la-farmacognosia/fitoquimica/"
<https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/introduccion-a-la-farmacognosia/fitoquimica/> .
29. Gonzalez Villa AA. OBTENCIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS ETANOLICOS..
30. Lebeque Pérez Y, Morris Quevedo H, Calás Viamonte N. Infecciones nosocomiales: incidencia de la Pseudomonas aeruginosa. Scielo. .
31. M. Bush L. Versión para público general. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "https://www.msmanuals.com/es-ec/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas/infecciones-por-pseudomonas"
<https://www.msmanuals.com/es-ec/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas/infecciones-por-pseudomonas> .
32. Alonso Martínez JM. Infecciones Nosocomiales: Pseudomona aeruginosa y su importancia, sus características y resistencia a antimicrobianos..
33. Díaz Díaz A, Baquero C, Jimenez Álvarez C. Revista CES medicina. [Online].; 2010.. Disponible en: HYPERLINK "http://www.redalyc.org/pdf/2611/261119491005.pdf"
<http://www.redalyc.org/pdf/2611/261119491005.pdf> .
34. Batlle Almodóvar M, Dickinson F, Pérez Monrás M, Tamargo Martínez I, Similis A. Scielo. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602005000300014"
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602005000300014 .
35. Cortez Gallardo V, Macedo Ceja J, Hernández Arroyo M, Arteaga Aureoles G, Espinosa Galvan D, Rodríguez Landa J. Revista Biomédica. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb041527.pdf"
<http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb041527.pdf> .
36. Benítez Cruz G. Microbotánica. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.micobotanicajaen.com/Revista/Articulos/GBenitezC/Farmacognosia01/Farmacognosia%20GB_1.pdf"
http://www.micobotanicajaen.com/Revista/Articulos/GBenitezC/Farmacognosia01/Farmacognosia%20GB_1.pdf .
37. Hernández Chávez A. Farmacología General, una guía para el estudio México: McGraw Hill; 2014.
38. Carrión Jara AV, García Gómez CR. Preparación de extractos vegetales:

determinación de eficiencia de metódica..

39. Palacios Palacios MI. Texto digital de Farmacognosia y Fitoquímica..
40. Méndez Á. La guía Química. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "https://quimica.laguia2000.com/general/destilacion" <https://quimica.laguia2000.com/general/destilacion> .
41. Játiva C. Texto basico de Farmacognosia de los vegetales y medicinas..
42. Sánchez Flores JS. Evaluación del Extracto etanólico de *eryngium heterophyllum* (hierba del sapo); para comprobar su actividad hipoglucemiante y antiinflamatoria..
43. Morfin Otero dR, Rodríguez Noriega E. La Gaceta de Infectología y Microbiología Clínica Latinoamericana. Publicación de OPS/OMS. 2012; 2(2).
44. Marston H, Dixon D, Knisely M, Palmore T, Fauci A. Intramed. [Online]; 2017. Disponible en: HYPERLINK "http://www.intramed.net/contenido.asp?contenidoID=89887" <http://www.intramed.net/contenido.asp?contenidoID=89887> .
45. Echevarria Zarate J. Revista Medica Herediana. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X1998000200002" http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X1998000200002 .
46. Tarco Álvarez NG. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Pseudomonas aeruginosa* AISLADA EN PACIENTES DE LA CLÍNICA D.A.M.E. EN EL PERIODO. TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAGÍSTER EN BIOQUÍMICA CLÍNICA.
47. Martínez Hernández JV. Estudios de Metiltransferasas involucradas en la resistencia a antibióticos en cepas de bacilos gram negativos no fermentadores de origen clínico. Tesis para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Biomedicina y Biotecnología Molecular.
48. Castillo Solano FD. Genes de Virulencia de *Pseudomonas aeruginosa* en Hospitales de la Ciudad de Loja. TESIS PRESENTADA PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR.
49. García F. Sistema de Información Científica Redalyc. [Online]. [Resistencia bacteriana a antibióticos]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43443301" <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43443301> .
50. OMS. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2017.. Disponible en: HYPERLINK "http://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed" <http://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> .
51. INIAP , CFN. Plantas medicinales de la sierra Ecuatoriana. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Las%20Plantas%20medicinales%20de%20la%20Sierra%20Ecuatoriana.%20Biodiversidad%20y%20" .

0Uso..pdf"

<http://www.iniap.gob.ec/nsite/images/documentos/Las%20Plantas%20medicinales%20de%20la%20Sierra%20Ecuatoriana.%20Biodiversidad%20y%20Uso..pdf> .

52. Peralta Armijos JY. EFECTO CITOTÓXICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE annona cherimola en una línea celular de cáncer de colon humano en medio de cultivo con ph neutro. Tesis.
53. García González M. artículos. [Online]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.cientec.or.cr/ciencias/articulos.html"
<http://www.cientec.or.cr/ciencias/articulos.html> .
54. Heisler E, Budó MdL, Schimith M, Badke M, Ceolin S, Heck R. Artículo científico. [Online].; 2015. [Artículo científico]. Disponible en: HYPERLINK "http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412015000300018"
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1695-61412015000300018 .
55. Gallegos Zurita M. Artículo Científico. [Online]. [Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador]. Disponible en: HYPERLINK "http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf"
<http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf> .
56. Jiménez León MM. Análisis cuantitativo del conocimiento tradicional sobre plantas utilizadas para el tratamineto de enfermedades antitumorales y antiinflamatorias en la parroquia La Victoria de Imbana, provincia de Zamora Chinchipe. UTPL, Área Biológica, Tesis previo al título en Ingeniería en Gestión Ambiental.
57. Alcoser I, Yauri MF, Ayala Sánchez S. Pseudomonas aeruginosa: ¿amiga o enemiga? Nuestra Ciencia, Curiosidades Científicas. 2011.

ANEXOS.

ANEXO 1. Certificación de muestra de Hojas de *Annona muricata*, emitido por Botánico de Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (EPOCH).



HERBARIO POLITECNICA CHIMBORAZO (CHEP)
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL CHIMBORAZO
Panamericana sur Km 1, fono: (03) 2 998-200 ext. 700123, jcaranqui@yahoo.com
Riobamba Ecuador

CERTIFICADO

13 de marzo del 2018

A quien interese:

Certifico que la Química Farmaceutica, Merchán Peñafiel Mayra Estefania con CI: 092730899-9, estudiante de Maestría, se le identificó según muestra la especie:

Annona muricata L.

La especie identificada es de origen introducido y/o cultivado. Es todo cuanto puedo decir en honor a la verdad y el interesado puede usar el presente certificado como crea conveniente

Atte.



Ing. Jorge Caranqui Msc.
BOTANICO
HERBARIO ESPOCH

FACULTAD DE
RECURSOS
NATURALES

ANEXO 2. Consentimiento Informado.

UNIVERSIDAD REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES



**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
MAESTRÍA EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA
CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Fecha: _____

Estimado (a): _____

Se le extiende una invitación para participar de un proyecto de investigación previo a la obtención del Título de Magíster en Farmacia Clínica y Hospitalaria de la “UNIANDES”, titulado “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO ALCOHÓLICO Y EXTRACTO ETÉREO DE *Annona muricata* FRENTE A *Pseudomona aeruginosa*”. El mismo que se encuentra dirigido por el QF. Mayra Stefanía Merchán Peñafiel, Maestrante.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, debe firmar esta forma de consentimiento. Deberá responder todas las preguntas de la encuesta, su participación es voluntaria y la información es confidencial.

ENCUESTADO (A).

Encuesta evaluatoria de uso de las Hojas de Guanabana, *Annona muricata*, con fines medicinales.

ANEXO 3. Encuesta



UNIVERSIDAD REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES “UNIANDES”

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

MAESTRÍA EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO ACADÉMICO DE MAGISTER
EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA**

ENCUESTA

**TEMA: “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO
ALCOHÓLICO Y EXTRACTO ETÉREO DE *Annona muricata* FRENTE A *Pseudomona
aeruginosa*”**

OBJETIVOS:

- Identificar el uso medicinal que le da la población a las hojas de Guanábana.

INFORMACIÓN:

Provincia: _____

Cantón: _____

Fecha: _____

Parroquia: _____

Lugar : _____

INSTRUCCIONES:

- Elija una X sus respuestas.
- Aportar información real permitirá tomar las acciones correctivas necesarias.
- Considere que al ser una encuesta anónima, esta resguarda su opinión y le brinda confidencialidad.
- Gratifico el tiempo dedicado a esta encuesta y su valiosa contribución.

DATOS GENERALES:

Sexo: Masculino ____ Femenino ____

Edad: _____ (en años)

Nivel de instrucción (último nivel alcanzado):

Secundaria _____

Tercer Nivel _____

Cuarto Nivel _____

Título: _____

ANEXO 4. Cuestionario Etnofarmacológico



UNIVERSIDAD REGIONAL AUTÓNOMA DE LOS ANDES “UNIANDES”

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

MAESTRÍA EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO ACADÉMICO DE

MAGISTER EN FARMACIA CLÍNICA Y HOSPITALARIA

CUESTIONARIO:

¿Ha utilizado planta para fines medicinales?

¿Cuáles? _____

1. ¿Conoce Ud. La planta de Guanábana?

() Sí

() No

2. ¿La ha usado con fines medicinales?

() Sí

() No

3. ¿Qué parte de la planta ha utilizado?

a) Hojas ____ b) Flores ____ c) Fruto ____ d) Semilla ____

4. ¿Quién se la indicó o le sugirió su uso?

a) Médico ____ b) Curandero ____ c) Familiares ____ d) Vecinos o amigos ____

5-¿En qué forma la ha utilizado? (Modo de uso)

a) ____ Infusión b) ____ Cocimiento c) ____ Planta cruda d) ____ Otra forma

¿Cuál? _____

6.- ¿Para qué uso medicinal ha utilizado la planta de *Annona muricata*?

a) ____ Dolor de cabeza b) ____ Dolor de Estómago c) ____ Dolor de Oído d) ____ Inflamación

7.- ¿Qué resultados obtuvo con su empleo?

a) ____ Mejoró b) ____ No mejoró c) ____ Empeoró

8.- ¿Durante qué tiempo la utilizó? (Duración del tratamiento)

a) ____ Un día b) ____ Menos de una semana c) ____ Más de una semana d) ____ Un mes

9.- En qué personas las ha usado:

En niños: ____ En adultos: ____ En ancianos: ____

Anexo 5. Resultados Microbiológicos



LABORATORIO LAZO

SU SÓCIO EN EL CONTROL DE CALIDAD

Vía a Durán Tambo Km. 4,5 * Lotización FERIA * Pl. Plaza Sai Baba * Local 36 * Telef.: 2628 268 - 2628 737

INFORME DE ENSAYO

ORDEN DE ENSAYO : AD477

CLIENTE : SRTA. MAYRA ESTEFANÍA MERCHÁN PEÑARIEL

DIRECCIÓN : Av. Modesto Páez Herrera - Bata

MUESTRA : EXTRACTO ALCOHÓLICO

MICROORGANISMO ENSAYADO : *Desferrioxamina* - ATCC 9027

CANTIDAD DE MUESTRA : 1 frasco de vidrio de 15 ml

TEMPERATURA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA : Ambiente

TOMA DE MUESTRA REALIZADA POR : Cliente

FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA : 04 de Mayo del 2018

FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 08 de Mayo del 2018

FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 08 de Mayo del 2018

PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD

#	Muestra	Diámetros de Halos en mm
2018 - AD5560	Extracto Alcohólico	No se forman halos de inhibición

Muestra de Trabajo: Directa.

Parámetro: Prueba de Susceptibilidad Antimicrobiana.

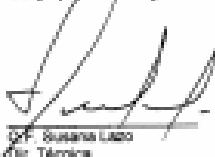
Método de Ensayo: Prueba de Susceptibilidad Antimicrobiana Bauer and Kirby.

Observaciones:

Los resultados corresponden a la muestra analizada.

Este informe no se puede reproducir, excepto totalmente, sin una autorización escrita de Laboratorio Lazo.

Guayaquil, 11 de Mayo del 2018


C.F. Susana Lazo
Dir. Técnica


Ing. Marcela Cagide
Jefe de Calidad

Página 1 de 1



Para asegurar la calidad de los resultados nuestro laboratorio participa anualmente en Programas de Intercomparación con IFM Quality Services, Australia.



LABORATORIO LAZO

SU SOCIO EN EL CONTROL DE CALIDAD

Vía Durán Tambo Km 4.5 * Lotización LAS FERRAS* P.J Plaza del Babe* Local 36 Teléf.: 2626 268 – 2626 737

INFORME DE ENSAYO

ORDEN DE ENSAYO	AB477
# MUESTRA	2018 - AB5550
CLIENTE	SRTA. MAYRA ESTEFANÍA MERCHÁN PEÑAFEL
DIRECCIÓN	Av. Modesto Peñaherrera - Iteña
MUESTRA	EXTRACTO ALCOHÓLICO
MICROORGANISMO ENSAYADO	<i>Serratia maritima</i> - ATCC 9327
CANTIDAD DE MUESTRA	1 frasco de vidrio de 15 ml
TEMPERATURA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA	Ambiente
TOMA DE MUESTRA REALIZADA POR	Cliente
FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA	04 de Mayo del 2018
FECHA DE INICIO DE ENSAYO	08 de Mayo del 2018
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO	09 de Mayo del 2018

MEMORIA FOTOGRÁFICA



Guayaquil, 14 de Mayo del 2018


G. F. Susana Lazo
Ch. Técnica


Ing. Mayra Cerezo
Jefe de Calidad

Página 1 de 1



Código: MCT01, edición 01, Agosto 2015

Para asegurar la calidad de los resultados, nuestro laboratorio participa activamente en Programas de Intercomparación con IFM Quality Services, Australia.



LABORATORIO LAZO

SU SOCIO EN EL CONTROL DE CALIDAD

Via a Durán Tambo Km. 4.5 * Lotización FERIA * EL Plaza Sal Raba * Local 36 * Telef.: 2628 268 - 2628 737

INFORME DE ENSAYO

ORDEN DE ENSAYO : AB420

CLIENTE : SRTA. MAYRA ESTEFANÍA MERCHÁN PEÑAFIEL

DIRECCIÓN : Av. Modesto Pellaheira - Ibarra

MUESTRA : EXTRACTO ETÉREO

MICROORGANISMO ENSAYADO : *Seudomonas aeruginosa* - ATCC 9637

CANTIDAD DE MUESTRA : 1 frasco de vidrio de 15 ml

TEMPERATURA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA : Ambiente

TOMA DE MUESTRA REALIZADA POR : Cliente

FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA : 09 de Mayo del 2018

FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 09 de Mayo del 2018

FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 09 de Mayo del 2018

PRUEBA DE SUSCEPTIBILIDAD

#	Muestra	Diámetros de Halos en mm
2018 - AB5473	Extracto Etéreo	No se forman halos de inhibición

Muestra de Trabajo: Directa.

Parámetro: Prueba de Susceptibilidad Antimicrobiana.

Método de Ensayo: Prueba de Susceptibilidad Antimicrobiana Bauer and Kirby.

Observaciones:

Los resultados corresponden a la muestra analizada.

Este informe no se puede reproducir, excepto totalmente, sin una autorización escrita de Laboratorio Lazo.

Guayaquil, 09 de Mayo del 2018

Dr. Susana Lazo
Dr. Técnica

Ing. Mayra Cevallos
Jefe de Calidad

Página 1 de 1



Para asegurar la calidad de los resultados nuestro laboratorio participa anualmente en Programas de Intercomparación con IFM Quality Services, Australia.

LABORATORIO LAZO S.A. - C.V. - RUC 1501000001



LABORATORIO LAZO

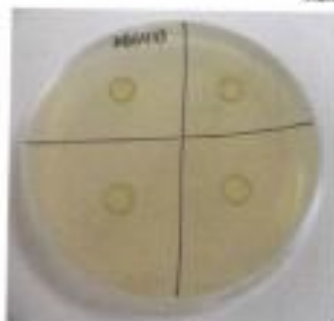
SU SOCIO EN EL CONTROL DE CALIDAD

Via Duran Tambo Km 4.5 * Lotización LAS FERIAS* P.I. Plaza Sai Baba* Local 36 Telef.: 2628 288 - 2628 737

INFORME DE ENSAYO

ORDEN DE ENSAYO	: AB420
# MUESTRA	: 2018 - AB5473
CLIENTE	: SRITA. MAYRA ESTEFANÍA MERCHÁN PEÑAFIEL
DIRECCIÓN	: Av. Modesto Peñaherrera - Bana
MUESTRA	: EXTRACTO ETÉREO
MICROORGANISMO ENSAYADO	: <i>Scedomonas ceruginea</i> - ATCC 9027
CANTIDAD DE MUESTRA	: 1 frasco de vidrio de 15 ml
TEMPERATURA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA	: Ambiente
TOMA DE MUESTRA REALIZADA POR	: Cliente
FECHA DE RECEPCIÓN DE LA MUESTRA	: 03 de Mayo del 2018
FECHA DE INICIO DE ENSAYO	: 06 de Mayo del 2018
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO	: 09 de Mayo del 2018

MEMORIA FOTOGRÁFICA



Guayaquil, 14 de Mayo del 2018


Q.F. Susana Lazo
Dir. Técnica


Ing. Marcela Cerrón
Jefe de Calidad

Página 1 de 1



Código M01701, edición 01, Agosto 2016

Para asegurar la calidad de los resultados, nuestro laboratorio participa anualmente en Programas de Intercalibración con IFM Quality Services, Australia.