



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE
Bidens pilosa, *Erhetia latifolia*, *Melochia tomentosa* y
Zizyphus amole.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

JESSICA SHADAY BADAGER MUÑOZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. JULIETA OROZCO MARTÍNEZ



ESTADO DE MÉXICO, OCTUBRE 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi mamá porque sin ella jamás lo hubiera logrado ha sido y es el pilar más importante en mi vida y sin duda la mejor mamá que pude tener, gracias por el tiempo y esfuerzo, los consejos y regaños, gracias por motivarme cuando no puedo más, por enseñarme a no rendirme y a cuidarme por mí misma. Te amo más que a todo en el mundo.

A mi papá, por todo lo que he recibido de él desde que tengo 8 años, por arriesgarse a ser mi papá, por ser constante, por todos los consejos, el amor y la paciencia, por aceptarme y amarme. Gracias papá te amo.

A mis hermanos, cada uno en diferente forma son lo mejor que pudo pasarme, gracias por enseñarme a compartir, a amar y a aceptar las diferencias que existen entre las personas en el mundo y por hacer de mi vida una aventura, sin ustedes nada sería igual., Abdi, Alan y Josep los amo infinita e incondicionalmente.

A mi familia, sobre todo a mi abuela y mi madrina, por lo que en la vida he aprendido y recibido de ustedes, las amo con todo el corazón.

A Jaqui por estar conmigo en este camino lleno de aventuras y desventuras, por los abrazos, la paciencia y todo lo que he recibido de ti, es una dicha tenerte en mi vida te amo.

A mis roomis, por ser mi familia estos 4 años y compartir el espacio y la vida, gracias por los abrazos, los vasos de agua y las tazas de café son personas muy importantes para mí, Nefte, Adriana, Triana, Lupita, Karla y Camila soy afortunada de coincidir en esta vida.

A la maestra Julieta por ser mi tutora, amiga y consejera, gracias por el tiempo, el amor y sobre todo por la paciencia, te quiero mucho.

A Viri por acompañarme este tiempo en los experimentos, quedarse encerrada en el laboratorio conmigo y compartir tiempo y anécdotas, gracias por todo, te quiero.

Queda prohibido

Pablo Neruda

Queda prohibido llorar sin aprender,
levantarte un día sin saber qué hacer,
tener miedo a tus recuerdos.

Queda prohibido no sonreír a los problemas,
no luchar por lo que quieres,
abandonarlo todo por miedo,
no convertir en realidad tus sueños.

Queda prohibido no demostrar tu amor,
hacer que alguien pague tus dudas y mal
humor.

Queda prohibido dejar a tus amigos,
no intentar comprender lo que vivieron juntos,
llamarles sólo cuando los necesitas.

Queda prohibido no ser tú ante la gente,
fingir ante las personas que no te importan,
hacerte el gracioso con tal de que te recuerden,
olvidar a toda la gente que te quiere.

Queda prohibido no hacer las cosas por ti
mismo, no creer en Dios y hacer tu destino,
tener miedo a la vida y a sus compromisos,
no vivir cada día como si fuera un último
suspiro.

Queda prohibido echar a alguien de menos sin
alegrarte,
olvidar sus ojos, su risa, todo
porque sus caminos han dejado de abrazarse,
olvidar su pasado y pagarlo con su presente.

Queda prohibido no intentar comprender a las
personas,
pensar que sus vidas valen más que la tuya,
no saber que cada uno tiene su camino y su
dicha.

Queda prohibido no crear tu historia,
dejar de dar las gracias a Dios por tu vida,
no comprender que lo que la vida te da,
también te lo quita.

Queda prohibido no buscar tu felicidad,
no vivir tu vida con una actitud positiva,
no pensar en que podemos ser mejores,
no sentir que sin ti este mundo no sería igual.

Aprenderás

W. Shakespeare

Después de algún tiempo aprenderás la diferencia entre dar la mano y socorrer un alma, y aprenderás que amar no significa apoyarse, y que compañía no siempre significa seguridad.

Comenzarás a aprender que los besos no son contratos, ni regalos, promesas, comenzarás a aceptar tus derrotas con la cabeza erguida y la mirada al frente, con la gracia de un niño y no con la tristeza de un adulto y aprenderás a construir hoy todos tus caminos, porque el terreno de mañana es incierto para los proyectos y el futuro tiene la costumbre de caer en el vacío.

Después de un tiempo aprenderás que el sol quema si te expones demasiado aceptarás incluso que las personas buenas podrían herirte alguna vez y necesitarás perdonarlas... aprenderás que hablar puede aliviar los dolores del alma... descubrirás que lleva años construir confianza y apenas unos segundos destruirla y que tú también podrás hacer cosas de las que te arrepentirás el resto de tu vida.

Aprenderás que las nuevas amistades continúan creciendo a pesar de la distancia, y que no importa que es lo que tienes, sino a quien tienes en la vida, y que los buenos amigos son la familia que nos permitimos elegir.

Aprenderás que no tenemos que cambiar de amigos, si estamos dispuestos a aceptar que los amigos cambian. Te darás cuenta que puedes pasar buenos momentos con tu mejor amigo haciendo cualquier cosa o simplemente nada, solo por el placer de disfrutar de su compañía.

Descubrirás que muchas veces tomas a la ligera a las personas que más te importan y por eso siempre debemos decir a esas personas que las amamos, porque nunca estaremos seguros de cuándo será la última vez que las veamos.

Aprenderás que las circunstancias y el ambiente que nos rodea tiene la influencia sobre nosotros, pero nosotros somos los únicos responsables de lo que hacemos.

Comenzarás a aprender que no nos debemos comparar con los demás, salvo cuando queremos imitarlos para mejorar.

Descubrirás que se lleva mucho tiempo para llegar a ser la persona que quieres ser, y que el tiempo es corto. Aprenderás que no importa a donde llegaste, sino a donde te diriges y si no lo sabes cualquier lugar sirve...

Aprenderás que si no controlas tus actos ellos te controlarán y que ser flexible no significa ser débil o no tener personalidad, porque no importa cuán delicada y frágil sea una situación: siempre existen dos lados.

Aprenderás que héroes son las personas que hicieron lo que era necesario, enfrentando las consecuencias.

Aprenderás que la paciencia requiere mucha práctica. Descubrirás que algunas veces, la persona que esperas que te patee cuando te caes, tal vez sea una de las pocas que te ayuden a levantarte.

Madurar tiene más que ver con lo que has aprendido de las experiencias, que con los años vividos.

Aprenderás que hay mucho más de tus padres en ti de lo que supones.

Aprenderás que nunca se debe decir a un niño que sus sueños son tonterías, porque pocas cosas son tan humillantes y sería una tragedia si lo creyese porque estarás quitando la esperanza.

Aprenderás que cuando sientes rabia, tienes derecho a tenerla, pero eso no te da derecho a ser cruel. Descubrirás que solo porque alguien no te ama de la forma que quieres, no significa que no te ame con todo lo que puede, porque hay personas que nos aman, pero que no saben cómo demostrarlo.

No siempre es suficiente ser perdonado por alguien, algunas veces tendrás que aprender a perdonarte a ti mismo.

Aprenderás que con la misma severidad con la que juzgas, también serás juzgado y en algún momento condenado. Aprenderás que no importa en cuantos pedazos tu corazón se partió, el mundo no se detiene para que lo arregles.

Aprenderás que el tiempo no es algo que pueda volver hacia atrás, por lo tanto, debes cultivar tu propio jardín y decorar tu alma, en vez de esperar que alguien te traiga flores.

Entonces y solo entonces sabrás realmente lo que puedes soportar; que eres fuerte y que podrás ir mucho más lejos de lo que pensabas cuando creías que no se podía más.

¡Es que realmente la vida vale cuando tienes el valor de enfrentarla!

No te rindas
Mario Benedetti

*No te rindas, aun estas a tiempo
de alcanzar y comenzar de nuevo,
aceptar tus sombras, enterrar tus miedos,
liberar el lastre, retomar el vuelo.*

*No te rindas que la vida es eso,
continuar el viaje,
perseguir tus sueños,
destrabar el tiempo,
correr los escombros y destapar el cielo.*

*No te rindas, por favor no cedas,
aunque el frio queme,
aunque el miedo muerda,
aunque el sol se esconda y se calle el viento,
aún hay fuego en tu alma,
aún hay vida en tus sueños,
porque la vida es tuya y tuyo también el
deseo, porque lo has querido y porque te
quiero.*

*Porque existe el vino y el amor, es cierto,
porque no hay heridas que no cure el tiempo,
abrir las puertas quitar los cerrojos,
abandonar las murallas que te protegieron.*

*Vivir la vida y aceptar el reto,
recuperar la risa, ensayar el canto,
bajar la guardia y extender las manos,
desplegar las alas e intentar de nuevo,
celebrar la vida y retomar los cielos,*

*No te rindas por favor no cedas,
aunque el frio queme,
aunque el miedo muerda,
aunque el sol se ponga y se calle el viento,
aún hay fuego en tu alma,
aún hay vida en tus sueños,
porque cada día es un comienzo,
porque esta es la hora y el mejor momento,
porque no estás sola,
porque yo te quiero.*

Vida

Charles Chaplin

Ya perdoné errores casi imperdonables, traté de sustituir personas insustituibles y olvidar personas inolvidables.

Ya hice cosas por impulso, ya me decepcioné con personas cuando nunca pensé decepcionarme, mas también decepcioné a alguien.

Ya abracé para proteger, ya me reí cuando no podía, ya hice amigos eternos, ya amé y fui amado, pero también fui rechazado. Ya fui amado y no supe amar.

Ya grité y salté de tanta felicidad, ya viví de amor e hice juramentos eternos, pero también “rompí la cara” muchas veces.

Ya lloré escuchando música y viendo fotos, ya llamé solo para escuchar una voz, ya me enamoré por una sonrisa, ya pensé que iba a morir de tanta nostalgia, y tuve miedo de perder a alguien especial (y terminé perdiéndolo) ¡pero sobreviví! ¡Y todavía vivo!

No paso por la vida... y tú tampoco deberías pasar... ¡Vive!

Bueno es ir a la lucha con determinación, abrazar la vida y vivir con pasión, perder con clase y vencer con osadía, porque el mundo pertenece a quien se atreve y la vida es mucho para ser insignificante.

Cuando vayan mal las cosas
como a veces suelen ir
cuando ofrezca tu camino
solo cuestas que subir.

Cuando haya poco haber
pero mucho que pagar
y precisés sonreír
aun teniendo que llorar.

Cuando ya el dolor te agote
y no puedas más seguir
descansar acaso debes
pero nunca desistir.

Dedicatoria

Quiero dedicarme este trabajo a mí misma, por todo lo que yo sé que ha existido en el camino, porque cada día tuve que esforzarme de formas diferentes por continuar, por tener voluntad y perseverancia, por ser capaz de vencer adversidades, miedos y cosas que no fueron siempre agradables.

Quiero dedicársela a la niña que vive en mi y que creció confiando en que lo lograríamos, lo logramos Jessi, después de muchos errores y una eternidad hoy lo hemos conseguido y sabemos que esto es un pequeño paso hacia la persona que queremos ser.

Quiero agradecerte por despertar esas mañanas en las que nada parecía tener sentido y continuar, por no rendirte, por burlarte de todos los que te dijeron que no podrías, porque quizá ellos no lo saben, pero en los momentos difíciles, sus palabras sonaban fuerte en mi cabeza y fueron siempre una buena inspiración.

Gracias por luchar por nuestros sueños Chaday, por cerrarle la boca al mundo, por impresionarte y superarte a ti misma una y otra vez.

Gracias por todos los errores que has cometido, por todas las lágrimas que has llorado, por todas las derrotas que hemos superado, gracias por convertir a Shaday en la persona que es y por qué hoy no quiero ser nadie más.

Te dedico este trabajo a ti, por si un día despiertas sintiendo que no se va a poder, que es muy difícil, porque quiero que cuando lo leas sepas, que hasta hoy has obtenido todo lo que has querido con tu esfuerzo y bases sólidas de honestidad, amor y compromiso, ojalá seas siempre la persona íntegra que eres hoy, pese al mundo, sigue siendo tu.



"Fueron semillas mis errores."-Jodorowsky

El presente trabajo se realizó en los laboratorios de Bioactividad de Productos Naturales y Fitoquímica de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

ÍNDICE

Índice de tablas	iii
Índice de figuras	iii
Resumen	1
Área de estudio	4
Descripción botánica y antecedentes de las especies evaluadas	5
<i>Bidens pilosa</i>	5
A) Clasificación:	5
B) Nombre común:	5
C) Descripción	5
D) Distribución.....	6
E) Etnobotánica	6
F) Antecedentes	7
<i>Ehretia latifolia</i>	8
A) Clasificación:	8
B) Nombre común:	8
C) Descripción:.....	8
D) Distribución:	9
E) Etnobotánica:.....	9
F) Antecedentes:	9
<i>Melochia tomentosa</i>	10
A) Clasificación:	10
B) Nombre común:	10

C) Descripción:.....	10
D) Distribución:	11
E) Etnobotánica:.....	11
F) Antecedentes:	11
<i>Zizyphus amole</i>	12
A) Clasificación	12
B) Nombre común:	12
C) Descripción:.....	12
D) Distribución:	12
E) Etnobotánica:.....	13
F) Antecedentes:	13
Justificación	14
Objetivo general	14
Objetivos particulares.....	14
Métodos	15
I. Colecta de material vegetal	15
II. Obtención de los extractos.....	15
III. Evaluación de la actividad antibacteriana.....	15
IV. Evaluación cualitativa	17
V. Evaluación cuantitativa.....	17
VI. Efecto de los extractos sobre la curva de crecimiento bacteriano	17
Resultados	18
Discusión	25
A) Colecta del material vegetal y obtención de extractos.	25
B) Evaluación de la actividad antibacteriana.....	26
C) Efecto de los extractos sobre la curva de crecimiento bacteriano.....	27
Conclusión.....	30
Apéndice 1	31

Apéndice 2	33
Ápendice 3	35
Bibliografía.....	36

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación de gram de las cepas bacterianas.....	16
Tabla 2. Datos de colecta.....	18
Tabla 3. Rendimiento de los extractos	19
4. Halos de inhibición y CMI de los extractos de las especies evaluadas sobre cepas	21

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán.....	3
Figura 2. Ubicación de Santiago Quiotepec.....	4
Figura 3. Inflorescencia de <i>Bidens pilosa</i>.....	5
Figura 4. Distribución de <i>Bidens pilosa</i> en la República Mexicana.....	7
Figura 5. Ejemplar de <i>Ehretia latifolia</i>.	8
Figura 6. Distribución de <i>Ehretia latifolia</i> en la República Mexicana	9
Figura 7. Flor y hoja de <i>Melochia tomentosa</i>.....	10
Figura 8. Distribución de <i>Melochia tomentosa</i> en la República Mexicana.....	11
Figura 9. Árbol de <i>Ziziohus amole</i>.	12

Figura 10. Distribución de <i>Ziziphus amole</i> en la República Mexicana.	13
Figura 11. Muestra el efecto del extracto Metanólico de <i>Ziziphus amole</i> en diferentes concentraciones sobre la curva de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 en 24 horas.....	22
Figura 12. Muestra el efecto del extracto metanólico de <i>Ziziphus amole</i> en diferentes concentraciones sobre la curva de crecimiento de <i>Salmonella enterica</i> durante 24 horas.....	22
Figura 13. Muestra el efecto del extracto de acetato de etilo de <i>Bidens pilosa</i> en diferentes concentraciones sobre la curva de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 en 24 horas.	23
Figura 14. Muestra el efecto del extracto metanólico de <i>Melochia tomentosa</i> sobre la curva de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> fes-c expuesta al extracto durante 24 horas.....	23
Figura 15. Muestra el efecto del extracto metanólico de <i>Erhetia latifolia</i> sobre la curva de crecimiento de <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13881 expuesta al extracto durante 24 horas.....	24
Figura 16. Muestra el efecto del extracto metanólico de <i>Erhetia latifolia</i> sobre la curva de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213 expuesta al extracto durante 24 horas.....	24

RESUMEN

El uso de plantas medicinales se ha incrementado en todo el mundo debido a la eficiencia de éstas difundida a nivel empírico, su disponibilidad y por ende a la aceptación de su uso de manera cotidiana. Aproximadamente el 80% de la población general, especialmente en los países en desarrollo, usa plantas medicinales en la atención primaria de la salud. Como consecuencia del grave problema derivado de la resistencia a diversos antibióticos, así como los efectos secundarios de los antimicrobianos sintéticos, la atención se ha dirigido hacia los antimicrobianos naturales.

En el presente trabajo se realizó la evaluación de la actividad antibacteriana de *Bidens pilosa*, *Erhetia latifolia*, *Melochia tomentosa* & *Zizyphus amole* sobre cepas bacterianas de importancia clínica, obteniendo resultados positivos con efecto bacteriostático o bactericida en diferentes de las cepas probadas. Se utilizó la técnica de difusión en agar o de Kirby-Baüer, la microtécnica de dilución en caldo y efecto de los extractos sobre el crecimiento bacteriano.

De acuerdo con las pruebas realizadas en el presente trabajo las especies *Bidens pilosa*, *Erhetia latifolia*, *Melochia tomentosa* y *Zizyphus amole*, tienen actividad antibacteriana.

Las cepas con mayor sensibilidad son de *S. aureus* cepa (FES-C) presenta sensibilidad a 4 extractos correspondientes a 3 de las 4 especies estudiadas; y la cepa ATCC 29213 presenta sensibilidad a 4 extractos que corresponden a dos de las especies estudiadas.

Se presentó mayor actividad de los extractos en cepas Gram positivas.

INTRODUCCIÓN

El uso de plantas medicinales se ha incrementado en todo el mundo debido a su eficiencia, disponibilidad y por la aceptación de su uso de manera cotidiana. Aproximadamente el 80% de la población, especialmente en los países en desarrollo, usa plantas medicinales en la atención primaria de la salud (Alonso-Castro et al., 2017). Además, como consecuencia del grave problema derivado de la resistencia a diversos antibióticos, así como los efectos secundarios de los antimicrobianos sintéticos, la atención se ha dirigido hacia los antimicrobianos naturales (Namiki,1990).

Las enfermedades infecciosas siguen siendo, a principios del siglo XXI, una de las causas más importantes de muerte en la humanidad (Lozano et al, 2010). Las mutaciones y el intercambio horizontal de genes son propiedades universales de las bacterias y han ocurrido durante millones de años como parte de la evolución. La frecuencia de mutaciones que originan resistencia a antibióticos varía según el antibiótico y la bacteria (Oliver et al., 2000).

Los antibióticos no solo matan a las bacterias sensibles y seleccionan a las resistentes, también influyen directamente los mecanismos de variación genética (mutación, recombinación, transposición, intercambio de genes). Promueven intercambios de genes entre bacterias incrementando e induciendo la transferencia de genes de resistencia o fomentando la expresión de genes necesarios para la transferencia (Baquero,2009).

Actualmente, el 25% de los principios activos derivados de las plantas, se consideran como drogas importantes en uso en varios países. La mayoría de estos compuestos químicos se derivan de plantas medicinales las cuales principalmente fueron descubiertas a través de investigaciones etnobotánicas, dichos compuestos tienen un uso similar al que se le da a las plantas de forma tradicional (Newman y Cragg, 2007; Gurib-Fakim, 2006).

México es un país megadiverso, que combina una de las floras más ricas del mundo con una alta diversidad cultural; como resultado, es uno de los puntos críticos de diversidad biocultural de la Tierra (Lira et al., 2016). Se estima que la biota medicinal mexicana contiene aproximadamente de 3,000 a 5,000 especies de plantas con potencial terapéutico, y solo han sido estudiadas a fondo aproximadamente 1,000 especies (Barragán-Solis, 2006; Esquivel-Gutiérrez, 2012).

Entre las regiones fitogeográficas, una de las de mayor importancia florística en México es el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Figura 1), ya que dadas sus características geográficas y climáticas alberga una diversidad vegetal elevada y altamente característica (Dávila et al., 2002). El Valle de Tehuacán-Cuicatlán es una porción relativamente pequeña de México con solo 10,000 km² de extensión; es posible encontrar una gran heterogeneidad de ecosistemas, representada por casi 36 tipos de vegetación que han sido llamados y descritos como "asociaciones de plantas" (Valiente-Banú et al. 2009). La región alberga una alta biodiversidad que comprende más de 3,000 especies de plantas (Arizmendi et al., 2010).



FIGURA 1. Ubicación del valle de Tehuacán-Cuicatlán.

ÁREA DE COLECTA

Dentro del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, se encuentra la comunidad de Santiago Quiotepec, la cual está localizada al noroeste del estado de Oaxaca dentro del municipio de Cuicatlán, con una superficie de 36.8 km², entre las coordenadas extremas UTM X max: 71°50'00", Y max: 19°81'90" y X min: 71°23'00", Y min: 19°79'20" (Figura 2), a una altitud de 545 msnm (García, 1981). Se caracteriza por un clima semiárido muy seco con una precipitación anual de sólo 500 mm, con una temperatura promedio que supera los 25°C, las lluvias se concentran entre junio y septiembre principalmente (García, 1981). El tipo de suelo predominante es el feozem háplico, característico de zonas semiáridas con una capa superficial oscura que presenta materia orgánica (Pérez-Negrón, 2002).

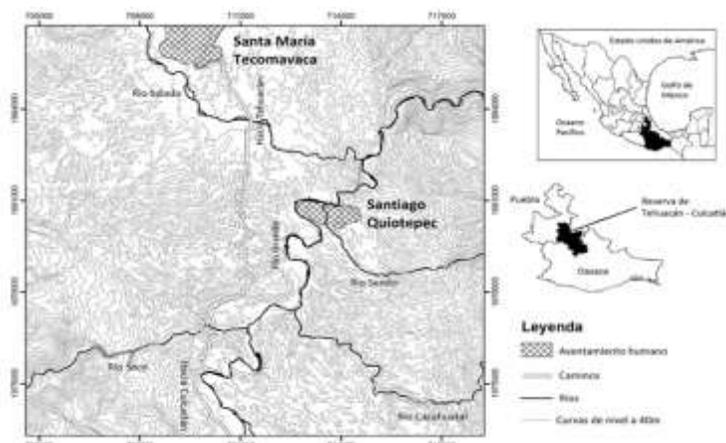


FIGURA 2. Ubicación de Santiago Quiotepec.

Se realizó un inventario de las plantas medicinales utilizadas en Santiago Quiotepec, en el año 2017, haciendo especial énfasis en aquellas especies utilizadas para tratar enfermedades de posible origen infeccioso, del cual fueron elegidas cuatro especies para realizar la presente investigación.

Las especies elegidas fueron *Bidens pilosa*, *Ehretia latifolia*, *Melochia tomentosa* y *Ziziphus amole*.

Descripción botánica y antecedentes de las especies evaluadas

Bidens pilosa

A) CLASIFICACIÓN:

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Asterales*

Género: *Bidens*

Especie: *Bidens pilosa*



FIGURA 3. Inflorescencia de *Bidens pilosa*

B) NOMBRES COMUNES:

Achuale blanco, aceitillo, mulito, rosilla, saetilla, té de milpa, mozotillo, mozote negro, aceitilla, cadillo, amor seco, picón, saetilla (Marzocca, 1976; Martínez, 1979; Pitty y Muñoz, 1993).

C) DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Planta anual, comúnmente ramificada desde la base, con o sin pelos, con hasta 1.8 m de alto, tallo cuadrangular, ramificado, con pocos pelos o sin ellos. Hojas con peciolo de hasta 8 cm de largo, lámina de hasta 13.5 cm de largo y 11 cm de ancho, partida en 3 a 5 folíolos simples, ovados a lanceolados, agudos a acuminados en el ápice, toscamente aserrados, con pelos esparcidos en ambas caras.

Inflorescencia: con varias cabezuelas agrupadas en cimas corimbosas en las porciones terminales de las ramas. Cabezuela con involucre anchamente campanulado a subhemisférico, brácteas exteriores 7 a 10, lineares a linear-espátulada de 3 a 5 cm de largo, verdes, ciliadas, las interiores 8 a 10, lanceoladas de 3 a 5 mm de largo, cafés pero con los márgenes hialinos, sin tricomas,

receptáculo plano a convexo, páleas lineares, flores liguladas ausentes pero llegan a observarse en la periferia del disco de 1 a 5 pequeñas flores tubulosas fértiles de corola blanca; flores del disco 35 a 75 de corola amarilla, de 3 a 4 mm de largo, con pocos pelos o sin ellos en el tubo, anteras oscuras. Aquenios de 5 a 18 mm de largo, los interiores lineares y más largos, los exteriores más o menos comprimidos dorso-ventralmente más cortos, negruzcos a cafés, vilano por lo común de 3 aristas amarillas, de 1 a 3 mm de largo (Marzocca, 1976; McVaugh, 1984; Rzedowski y Rzedowski, 2001; Vibrans, 1995).

D) DISTRIBUCIÓN:

Esta especie se distribuye en los estados de Aguascalientes, Baja California Norte, Baja California Sur, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luís Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas (Villaseñor y Espinosa, 1998) (Figura 4).

E) ETNOBOTANICA:

En México algunos de los usos que recibe son: el uso de tallo como antidiabético, las hojas por vía oral como antiemético, antipirético, hemostático y tranquilizante; aplicadas localmente sirven para el dolor de riñones, para curar heridas y detener el susto; la planta entera como antiinflamatorio, la raíz por vía oral se da para el dolor de cabeza, y los baños con la planta para calmar la irritación de la piel (Makabir,1990). En la comunidad de Santiago Quiotepec se usa como antiinflamatorio y se aplica a las mujeres después del parto. Su forma de uso puede ser en infusión, agua de tiempo o baño (Orozco, 2020).

F) ANTECEDENTES:

De acuerdo con Chagnon, 1984; Pérez, 1984 y Boily, 1986, Se observó actividad antibacteriana a partir de extractos acuosos, etanólicos, metanólicos, clorofórmicos y en acetato de etilo.



FIGURA 4. Distribución de *Bidens pilosa* en la República Mexicana.

Ehretia latifolia

A) CLASIFICACIÓN:

Reino: *Plantae*

División: *Tracheophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Boraginales*

Familia: *Boraginaceae*

Género: *Ehretia*

Especie: *Ehretia latifolia*



FIGURA 5. Ejemplar de *Ehretia latifolia*.

B) NOMBRES COMUNES:

Capulincillo, capulín, capulín blanco, confetillo, manzanita, palo de tuza, palo prieto, santa Inés, topoya, trompillo (Capital Natural de México, 2009).

C) DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

E. latifolia es un árbol que puede alcanzar de 5 a 10 m de altura en cultivo y hasta 25 m en sus lugares de origen. Copa densa, muy ramificada, de color verde oscuro; tronco ramificado desde poca altura, con la corteza pardo - oscura hasta casi negruzca, áspera y rugosa, fisurada verticalmente. Ramillas jóvenes lenticeladas, glabras o ásperas al tacto. Hojas alternas de ovadas a lanceoladas o elípticas, de 4-15 x 3- 7 cm, el margen aserrado y el ápice de agudo a ligeramente acuminado. Son de textura cartácea y generalmente ásperas por el haz; flores sésiles o cortamente pediceladas, fruto drupáceo, ovoide, de hasta 2 cm de longitud y 1.5 cm de diámetro, glabro, blanquecino, oscureciéndose al madurar; una semilla negruzca (SAGARPA, 2015).

D) DISTRIBUCIÓN:

En México se distribuye en los estados de Oaxaca, Puebla, Michoacán, Chiapas, Jalisco, Veracruz, Guanajuato, Guerrero, Morelos, Colima, Campeche, Estado de México, Querétaro (CONABIO, 2021) (Figura 6).

E) ETNOBOTANICA:

En la comunidad de Santiago Quiotepec se usa para enfermedades del riñón, cáncer, como antiinflamatorio, para heridas y quemaduras, para después del parto, en piquetes de insectos, para enfermedades gastrointestinales. Las formas de uso son en infusión y como agua de tiempo (Orozco, 2020).

F) ANTECEDENTES:

Ehretia latifolia presenta actividad antibacteriana con valores altos de Concentración mínima inhibitoria (CMI), lo que se traduce como la resistencia de los microorganismos al extracto aplicado (Orozco, 2020).



FIGURA 6. Distribución de *Ehretia latifolia* en la República Mexicana.

Melochia tomentosa

A) CLASIFICACIÓN:

Reino: *Plantae*

División: *Tracheophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Malvales*

Familia: *Sterculiaceae*

Género: *Melochia*

Especie: *Melochia Tomentosa*



FIGURA 7. Flor y hoja de *Melochia tomentosa*.

B) NOMBRES COMUNES:

Malva de los cerros y malva rosa (Martínez,1979), bretónica morada (CONABIO, 2021).

C) DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Arbusto o raramente hierba erecta de hasta 4 m de alto; Tallo con pelos estrellados y lenticelas visibles, con hojas alternas, ovadas a angostamente ovadas, de hasta 6.5 cm de largo y hasta 4 cm de ancho, con el ápice más o menos agudo, con dientes (a veces redondeados) en el margen, la base redondeada a acorazonada, cubiertas de abundantes pelos estrellados. Los pecíolos de hasta 3 cm de largo, con flores agrupadas en las axilas de las hojas, sostenidas por un pedúnculo generalmente más largo que el pecíolo de la hoja correspondiente; a veces también ubicadas en las puntas de los tallos; el cáliz de 5 sépalos unidos hacia la base, más o menos de la mitad del largo de los pétalos; la corola de 5 pétalos de color púrpura, de hasta 1.3 cm de largo; 5 estambres, más cortos que la corola, con sus filamentos

unidos hacia la base. Los frutos son de forma piramidal con 5 alas (redondeadas a ligeramente agudas), cubiertos por abundantes pelos estrellados, en la madurez se abren para liberar las semillas (CONABIO, 2021).

D) DISTRIBUCIÓN:

Se ha registrado en Baja California Sur, Campeche, Chihuahua, Colima, Durango, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Quintana Roo, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas (McVaugh, 2001; Villaseñor y Espinosa, 1998) (Figura 8).

E) ETNOBOTANICA:

Es utilizada en Santiago Quiotepec como infusión o agua de tiempo en el tratamiento de problemas gastrointestinales (Orozco,2020)

F) ANTECEDENTES:

No hay reportes sobre actividad antimicrobiana, pero se ha comprobado que la parte aérea y las raíces poseen actividad tumorigénica en rata (O´Gara et al., 1974), siendo responsables de dicha actividad varios tipos de alcaloides (Kapadia et al., 1978; 1980; Kapadia y Shukla, 1993).



FIGURA 8. Distribución de *Melochia tomentosa* en la República Mexicana.

Zizyphus amole

A) CLASIFICACIÓN:

Reino: *Plantae*

División: *Tracheophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Rosales*

Familia: *Rhamnaceae*

Género: *Zizyphus*

Especie: *Zizyphus amole*



FIGURA 9. Árbol de *Zizyphus amole*.

B) NOMBRES COMUNES:

Cholulo (Martínez, 1979, Gómez, 1983), Coróngoro (Romero-Castillo et al, 2013).

C) DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Z. amole es un árbol espinoso de aproximadamente 10 m de altura, de hojas ovoides cordadas o redondeadas en la base y con tres nervaduras de 3 a 5 cm, flores en grupos axilares pubescentes, fruto globoso, de color rojo de 1 cm, nativo de México, (Martínez, 1979, Gómez, 1983)

D) DISTRIBUCIÓN:

En México se distribuye en los estados de Oaxaca, Guerrero, Michoacán, Jalisco, Nayarit, Sinaloa, Puebla, Morelos, Sonora, Tamaulipas, Veracruz, Colima, Chiapas y Estado de México (Registro MEXU,2021) (Figura 10).

E) ETNOBOTANICA:

Se emplea en la medicina tradicional como antiinflamatorio, cicatrizante, analgésico, antidiarreico, en diabetes, asma y hemorroides (Romero- Castillo et al., 2013). En Santiago Quiotepec se usa en forma de emplasto para tratar la comezón en la piel (Orozco,2020).

F) ANTECEDENTES:

De acuerdo con Romero-Castillo et al., en 2013 los extractos de *Z. amole* revelaron la presencia de terpenos, glucósidos, flavonoides y saponinas, los resultados obtenidos en dicho estudio validan el uso de *Z. amole* como planta medicinal para el tratamiento de la inflamación y trastornos relacionados.



FIGURA 10. Distribución de *Ziziphus amole* en la República Mexicana.

JUSTIFICACIÓN

Z. amole y *B. pilosa* son utilizadas de forma tradicional para el tratamiento de la diarrea, por su parte *E. latifolia* y *M. tomentosa* no han sido estudiadas, por lo tanto, se desconocen las propiedades químicas y si éstas tienen efectos antimicrobianos, por lo que se pretende validar el uso de estas especies desde un contexto científico.

HIPÓTESIS:

Los extractos de *B. pilosa*, *E. latifolia*, *M. tomentosa* y *Z. amole* tendrán actividad antibacteriana sobre cepas bacterianas de importancia clínica.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antibacteriana de *B. pilosa*, *E. latifolia*, *M. tomentosa* y *Z. amole* sobre cepas bacterianas de importancia clínica.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Obtener el rendimiento de los extractos hexánico, acetato de etilo y metanólico de *B. pilosa*, *E. latifolia*, *M. tomentosa* y *Z. amole*.
2. Determinar cualitativa y cuantitativamente la actividad antibacteriana de *B. pilosa*, *E. latifolia*, *M. tomentosa* y *Z. amole*.
3. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), bactericida mínima (CBM) de los extractos de *B. pilosa*, *E. latifolia*, *M. tomentosa* y *Z. amole*.
4. Determinar el efecto de los extractos que hayan mostrado actividad antibacteriana sobre la curva de crecimiento bacteriano.

MÉTODOS

I. COLECTA DE MATERIAL VEGETAL

Los ejemplares de *B. pilosa*, *E. latifolia*, *M. tomentosa* y *Z. amole* fueron colectadas en la reserva de Tehuacán Cuicatlán de mayo a julio del 2017.

II. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Los extractos de *B. pilosa*, *E. latifolia*, *M. tomentosa* y *Z. amole*, se obtuvieron por el método de maceración.

Se pesó el fruto de *Z. amole* y las partes aéreas de *B. pilosa*, *E. latifolia*, *M. tomentosa*, previamente secas, se colocaron en trozos en un matraz Erlenmeyer al cual se agregaron solventes en orden de polaridad creciente (hexano, acetato de etilo y metanol) dejando cada solvente durante un periodo aproximado de 4 días. Una vez obtenidos los extractos, se filtraron y posteriormente se concentraron en un rotavapor. Los extractos se colocaron en recipientes de vidrio para completar la evaporación total del solvente. El rendimiento de los extractos se determinó por diferencia de peso con relación al peso seco de la planta (Domínguez, 1979).

III. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

La evaluación de la actividad antibacteriana se determinó cualitativa y cuantitativamente sobre nueve Cepas Gram positivas y ocho Gram negativas (Tabla 1).

TABLA 1. Clasificación de Gram de las Cepas bacterianas.

Cepa	Especie	Clasificación tinción de Gram
S.a (cc)	<i>Staphylococcus aureus</i>	GRAM POSITIVA
S.a (FES-C)	<i>Staphylococcus aureus</i>	
S.a (23MR)	<i>Staphylococcus aureus</i>	
S.a (ATCC 29213)	<i>Staphylococcus aureus</i>	
S.a (CUSI)	<i>Staphylococcus aureus</i>	
S.e. (ATCC 12228)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
S.e. (FES-C)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
M.l	<i>Micrococcus luteus</i>	
E.f	<i>Enterococcus faecalis</i>	
E.c (CUSI)	<i>Escherichia coli</i>	
E.c (82MR)	<i>Escherichia coli</i>	
K.o	<i>Klebsiella oxytoca</i>	
K.p	<i>Kebsiella pneumoniae</i>	
S.en	<i>Salmonella entérica</i>	
S.t	<i>Salmonella typhi</i>	
P.a	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	
S.m	<i>Serratia marcenscens</i>	

IV. Evaluación cualitativa

La evaluación cualitativa antibacteriana, se realizó con el método de difusión en agar o Kirby-Bauer (Apéndice 1), utilizando sensidiscos impregnados con 2 mg de extracto a evaluar; como control positivo se utilizaron sensidiscos con 25 µg de cloranfenicol y como control negativo sensidiscos impregnados con 10 µl del solvente empleado para diluir el extracto a evaluar (Cole, 1994; Vanden y Vlietinck, 1991; Beer y Sherwood, 1945). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

V. Evaluación cuantitativa

Las cepas que presentaron actividad positiva en la evaluación cualitativa fueron utilizadas para la evaluación cuantitativa, la cual fue determinada a partir de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la Concentración Bactericida Mínima (CBM) usando la microtécnica de dilución en caldo (Apéndice 2), utilizando concentraciones de: 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000 y 3000 µg/ml, un grupo testigo y 3 repeticiones. Las cajas fueron inoculadas con 100 µl de un cultivo bacteriano a una concentración de 1×10^5 UFC/ml en la escala estándar de McFarland durante 24 h (Koneman et al., 1996).

VI. Efecto de los extractos sobre la curva de crecimiento bacteriano

La curva de crecimiento bacteriano (Apéndice 3), fue determinada en las cepas, que mostraron mayor sensibilidad en la evaluación cuantitativa de la actividad antibacteriana monitoreando su crecimiento en 7 tiempos durante 24 horas, al ser expuestas a diferentes concentraciones del extracto, así como un grupo testigo (Kubo et al., 1993 citado en Ávila, 1996).

RESULTADOS

Colecta de material vegetal

La parte aérea de *E. latifolia* fue colectada en San Juan Los Cues, Oaxaca. El fruto de *Z. amole* fue colectado en San Rafael, Puebla, La parte aérea de *B. pilosa* fue colectada en Teotitlan Oaxaca. La parte aérea de *M. tomentosa* fue recolectada en Quiotepec, Oaxaca. En la tabla 2 se muestran los datos de colecta y los gramos colectados.

TABLA 2. Datos de colecta

Nombre científico	<i>Ziziphus amole</i>	<i>Bidens pilosa</i>	<i>Ehretia latifolia</i>	<i>Melochia tomentosa</i>
Nombre común	Coróngoro	Mozoquelita	Capulín blanco	Malva de los cerros
Familia	Rhamnaceae	Asteraceae	Boraginaceae	Malvaceae
Gramos colectados	86.96 g	29.64 g	138 g	94.5
Fecha de colecta	30/06/2017	1/07/2017	27/05/2017	7/07/2017

Rendimiento de los extractos

El rendimiento de los extractos hexánico, de acetato de etilo y metanólico de cada especie se muestran en la tabla 3, en donde se observa que el extracto metanólico tuvo un mayor rendimiento en comparación con la fase no polar (extracto hexánico), lo cual indica que las cuatro especies presentan una mayor cantidad de compuestos de alta polaridad.

TABLA 3. Rendimiento de los extractos

Familia	Especie	Parte colectada	Peso seco (g)	Hexánico		Acetato de etilo		Metanólico	
				g	%	g	%	g	%
Asteraceae	<i>Bidens pilosa</i>	Parte aérea	29.64	1.49	5.03	0.71	2.40	2.89	9.75
Boraginaceae	<i>Erhetia latifolia</i>	Parte aérea	138	1.49	1.08	1.09	0.79	4.51	3.27
Malvaceae	<i>Melochia tomentosa</i>	Parte aérea	94.5	0.51	0.54	0.87	0.92	6.20	6.56
Rhamnaceae	<i>Zizyphus amole</i>	Fruto	86.96	0.44	0.51	0.32	0.37	15.46	17.78

VII. Evaluación de la actividad antibacteriana

Los extractos fueron probados en cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas, todas las cepas bacterianas fueron sensibles al control positivo; cloranfenicol y el control negativo no inhibió el crecimiento bacteriano (Tabla 5)

Actividad antibacteriana del extracto de acetato de etilo de *Bidens pilosa*

El extracto de acetato de etilo de *Bidens pilosa* mostro actividad antibacteriana sobre 6 cepas Gram positivas y una cepa Gram negativa. *S. aureus*⁽⁴⁾ mostró la mayor sensibilidad con un halo de inhibición de 15 mm con una CMI de 75 mg/ml

Actividad antibacteriana de los extractos metanólicos de *E. latifolia*, *M. tomentosa* y *Z. amole*

El extracto metanólico de *E. latifolia* mostro actividad antibacteriana sobre dos cepas Gram positivas y una Gram negativa con un halo de inhibición en todos los casos de 6 mm. El extracto metanólico de *M. tomentosa* mostro actividad antibacteriana sobre 4 cepas Gram positivas y 2 Gram negativas, la cepa más sensible *Micrococcus luteus* con un halo de inhibición de 16 ± 1 mm con una CMI de 1mg/ml. El extracto Metanólico de *Z. amole* mostro actividad antibacteriana sobre tres cepas Gram positivas y cuatro Gram negativas. Los resultados anteriores pueden observarse con más claridad en la tabla 4.

4. Halos de inhibición y CMI de los extractos de las especies evaluadas sobre cepas

ESPECIE	EXTRACTO	S.a ⁽¹⁾	S.a ⁽²⁾	S.a ⁽³⁾	S.a ⁽⁴⁾	S.a ⁽⁵⁾	S.e ⁽⁶⁾	S.e ⁽⁷⁾	M.l	E.f	E.c ⁽⁸⁾	E.c ⁽⁸⁾	K.o	K.p	S.en	S.t	P.a	S.m
<i>Bidens pilosa</i>	AC	na	10.0±0.0	6.0±0.0	15.0±0.0	10.0±0.0	8.0±0.0	10.0±0.0	Na	Na	Na	8.0±0.0	na	na	na	na	na	na
	CMI		1.0	1.5	0.75	0.5	0.75	1.5				1.5						
<i>Ehretia latifolia</i>	H	na	Na	Na	Na	na	na	6.0±0.0	na	na	na	na						
	CMI													>3.0				
	AC	na	Na	Na	Na	na	6.0±0.0	na	na	na	na	na						
	CMI												>3.0					
<i>Melochia tomentosa</i>	M	na	6.0±0.0	na	na	na	na	na	Na	6.0±0.0	Na	na	na	6.0±0.0	na	na	na	na
	CMI		>3.0							>3.0				>3.0				
	H	na	Na	Na	Na	na	6.0±0.0	na	na	na	na	na						
	CMI												3.0					
<i>Ziziphus amole</i>	AC	na	Na	Na	Na	na	6.0±0.0	na	na	na	na	na						
	CMI												>3.0					
	M	14.6±0.6	11.6±0.6	13.6±0.6	na	na	13.0±1.0	12.0±1.7	16.0±1.0	9.6±1.1	Na	na	na	na	na	na	na	na
	CMI	>3.0	1.5	>3.0			>3.0	>3.0	1.0	>3.0								
<i>Ziziphus amole</i>	H	na	15.0±0.0	na	16.0±0.1	8.3±0.1	na	na	Na	Na	Na	na	na	na	6.0±0.0	na	6.0±0.0	na
	CMI		>3.0		>3.0	>3.0									>3.0		>3.0	
	AC	na	na	na	15.0±0.0	na	na	na	Na	Na	Na	na	na	na	na	na	na	na
	CMI				>3.0													
<i>Ziziphus amole</i>	M	na	na	6.0±0.0	6.0±0.0	na	na	na	6.0±0.0	Na	Na	6.0±0.0	na	na	6.0±0.0	na	6.0±0.0	6.0±0.0
	CMI			>3.0	>3.0				>3.0			>3.0			>3.0		>3.0	>3.0

Halos de inhibición en mm H: Héxanico, AC: Acetato de etilo, M:Metanólico, CMI: Concentración Mínima inhibitoria (mg/mL), na: no activo, S.a: Staphylococcus aureus, S.e: Staphylococcus epidermidis, M.l: Micrococcus luteus, E.f: Enterococcus faecalis, E.c: Escherichia coli, K.o: Klebsiella oxytoca, K.p: Klebsiella pneumoniae, S. en: Salmonella entérica, S.t: Salmonella typhi, P.a: Pseudomona aeruginosa, S.m: Serratia marcescens; ⁽¹⁾:cc, ⁽²⁾:FES-C, ⁽³⁾:23MR, ⁽⁴⁾:ATCC 23213, ⁽⁵⁾: CUSI, ⁽⁶⁾: ATCC 12228, ⁽⁷⁾: FES-C, ⁽⁸⁾:82MR (Los superíndices corresponden a las cepas descritas anteriormente, este superíndice es una referencia que aparecerá en adelante en el presente trabajo).

Efecto de los extractos sobre la curva de crecimiento bacteriano

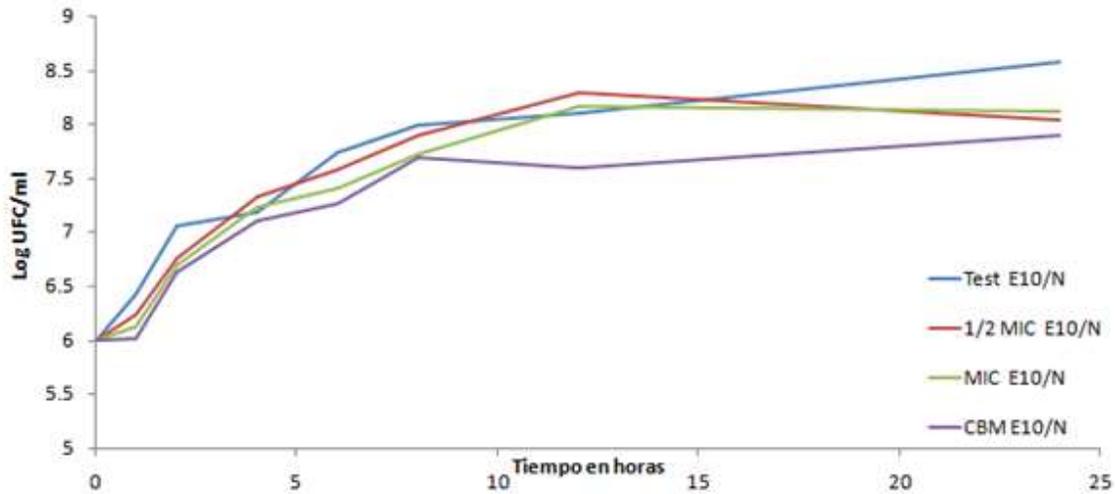


FIGURA 11. Muestra el efecto del extracto Metanólico de *Ziziphus amole* en diferentes concentraciones sobre la curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 en 24 horas

En la figura 11 puede observarse que la CBM detiene el crecimiento aproximadamente 8 horas después de la aplicación del extracto al inoculo por lo que podemos decir que tiene un efecto bacteriostático.

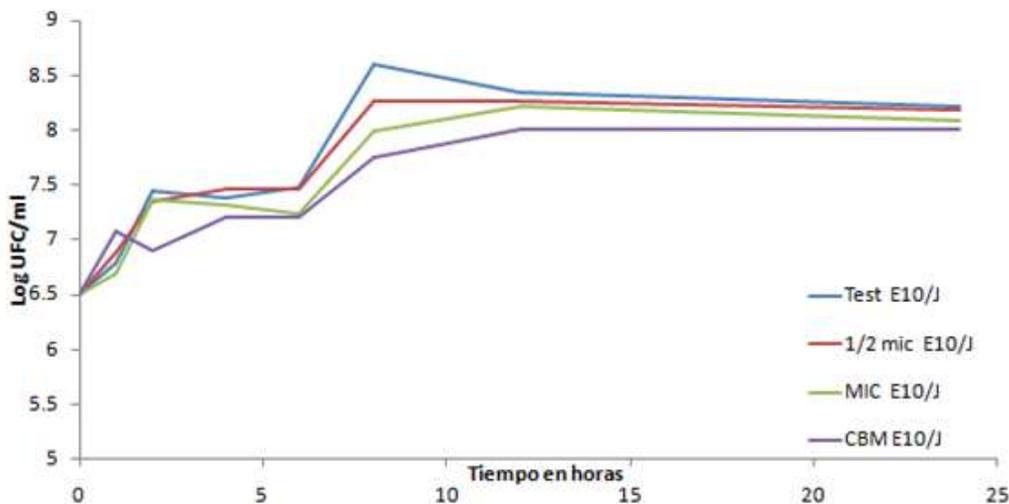


FIGURA 12. Muestra el efecto del extracto metanólico de *Ziziphus amole* en diferentes concentraciones sobre la curva de crecimiento de *Salmonella enterica* durante 24 horas.

En la figura 12 puede observarse que la CBM detiene el crecimiento aproximadamente 12 horas después de la aplicación del extracto al inoculo por lo que podemos decir que tiene un efecto bacteriostático.

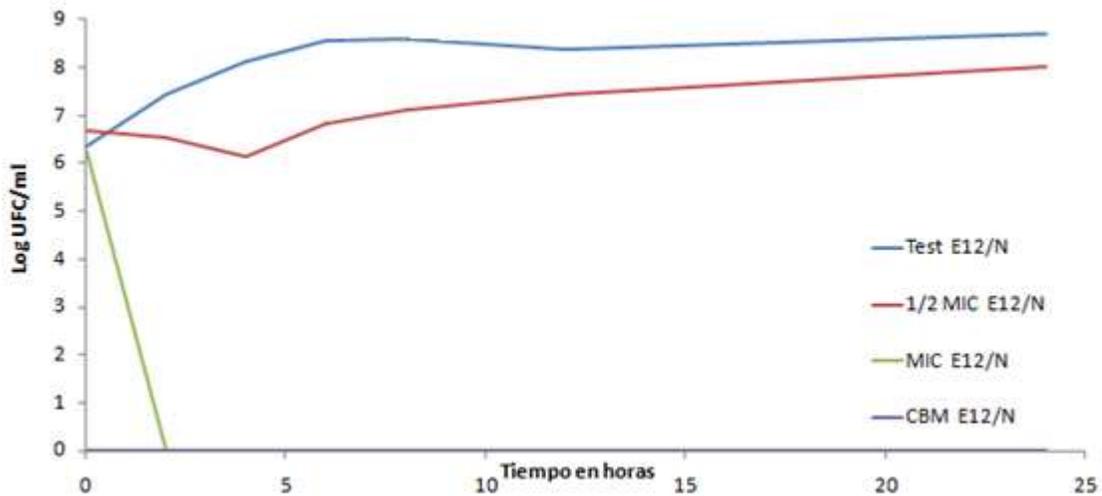


FIGURA 13. Muestra el efecto del extracto de acetato de etilo de *Bidens pilosa* en diferentes concentraciones sobre la curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* atcc 29213 en 24 horas.

En la figura 13 puede observarse que la MIC resulta letal aproximadamente a las dos horas de contacto con la cepa. Se observa también que desde el primer impacto la CMB inhibe el crecimiento y además destruye las colonias por lo que presenta un efecto bactericida. Recomendamos análisis de toxicidad para poder considerar su aplicación.

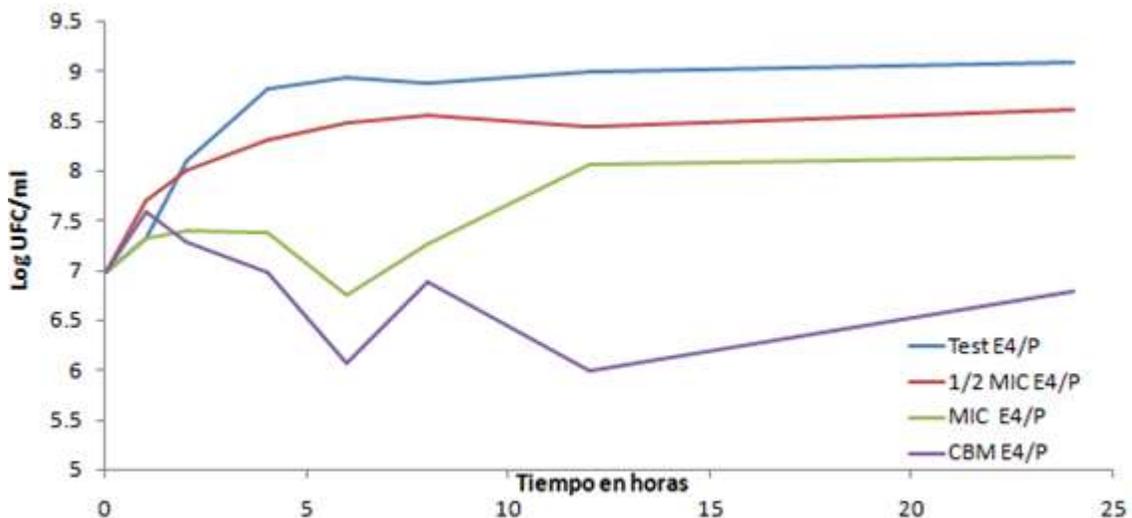


FIGURA 14. Muestra el efecto del extracto metanólico de *Melochia tomentosa* sobre la curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* fes-c expuesta al extracto durante 24 horas.

En la figura 14 se observa la MIC y la CBM por debajo de la línea de test y la 1/2 MIC, esto indica que en estas concentraciones el crecimiento bacteriano es menor, teniendo un efecto bacteriostático.

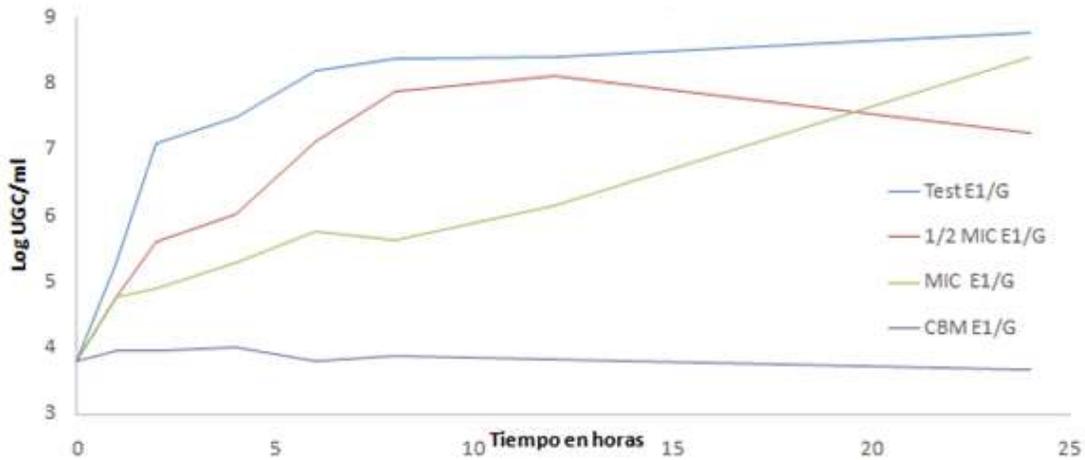


FIGURA 15. Muestra el efecto del extracto metanólico de *Erhetia latifolia* sobre la curva de crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* atcc 13881 expuesta al extracto durante 24 horas.

En la figura 15 se observa que la CBM tiene un efecto bacteriostático desde el primer impacto, se observa también que la MIC tiene un crecimiento aletargado en comparación con el test.

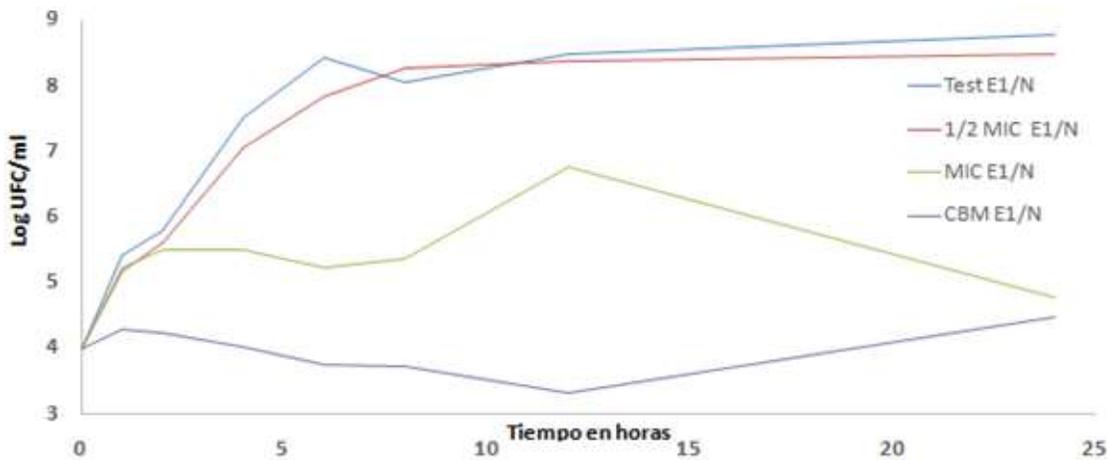


FIGURA 16. Muestra el efecto del extracto metanólico de *Erhetia latifolia* sobre la curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* atcc 29213 expuesta al extracto durante 24 horas.

En la figura 16 se pueden observar la MIC y la CBM por debajo de la línea de test y la 1/2 MIC. El efecto de la CBM es bacteriostático hasta las 12 h.

DISCUSIÓN

Las especies elegidas para este trabajo son usadas de forma tradicional en la comunidad de Santiago Quiotepec para diferentes padecimientos y aplicando el tratamiento de distinta forma según la especie. Realizar trabajos que validen su uso desde un contexto científico es un primer paso para hacer de ellas un medicamento, *B. pilosa*, *E. latifolia*, *M. tomentosa* y *Z. amole* presentaron efectos antibacterianos en diferentes cepas de interés clínico, las cuales presentan resistencia a los actuales antibióticos y por lo que resulta vital encontrar antibióticos alternativos a los que se conocen hoy día.

A) COLECTA DEL MATERIAL VEGETAL y OBTENCIÓN DE EXTRACTOS.

El material vegetal fue colectado entre los meses de mayo y Julio del 2017, en esta zona las lluvias se concentran entre junio y septiembre por lo que solo *Erhetia latifolia* se colectó antes de las precipitaciones anuales, se colectó el fruto de *Ziziphus amole* y del resto de los ejemplares obtuvo la parte aérea, todo esto con las descripciones de los usos etnobotánicas de la zona de colecta, es importante conocer las condiciones ambientales a las que están sujetos los organismos, pues de ellas depende la producción de metabolitos secundarios.

Los Metabolitos Secundarios (MS) son compuestos de bajo peso molecular que no solamente tienen una gran importancia ecológica porque participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, como es el establecimiento de la simbiosis con otros organismos y en la atracción de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos, sino que también, una síntesis activa de MS se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas tales como: a) el consumo por herbívoros (artrópodos y vertebrados), b) el ataque por microorganismos: virus, bacterias y hongos, c) la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas y d) la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico (Sepúlveda et al., 2003). Por su composición química los MS son clasificados en dos grupos principales: nitrogenados y no nitrogenados. Los MS que contienen nitrógeno incluyen a los alcaloides, aminoácidos no proteicos, aminas, glucósidos cianogénicos y

glucosinolatos. Los MS no nitrogenados se dividen en terpenoides, poliacetilenos, policétidos y fenilpropanoides (Wink, 1999).

Como pudimos observar en los resultados el extracto con mayor rendimiento fue el metanólico, lo que nos indica una mayor concentración de compuestos polares. Los compuestos solubles en agua se almacenan en vacuolas, en tanto que los solubles en lípidos son secuestrados a estructuras especializadas tales como ductos de resinas, laticíferos, pelos glandulares, tricomas o en la cutícula (Wink, 1999) lo que tiene sentido pues este trabajo se realizó con la parte aérea y el fruto de los ejemplares.

B) EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

El uso que reciben las plantas estudiadas de forma tradicional está asociado con problemas intestinales de origen infeccioso, al estudiar los efectos de los extractos en las cepas bacterianas, se obtuvieron resultados favorables en cepas Gram positivas y en Gram negativas. Entre las bacterias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* es un importante agente etiológico de infecciones hospitalarias y comunitarias. Este patógeno es responsable de altas tasas de morbilidad y mortalidad en pacientes hospitalizados y genera costos elevados en las instituciones de salud de todo el mundo (Arias CA, Murray BE, 2009). La cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, presentó mayor sensibilidad al extracto de acetato de etilo de *Bidens pilosa*, esto resulta sumamente importante pues actualmente *S. aureus* presenta resistencia en prácticamente todas sus cepas a los diferentes antibióticos que están disponibles en el mercado.

Este trabajo es un inicio para conocer los posibles efectos de estas cuatro especies como eficaces tratamientos con uso en diferentes patologías, cabe destacar que no existen estudios previos que contengan antecedentes de las especies trabajadas con usos tradicionales iguales a los aquí estudiados.

C) EFECTO DE LOS EXTRACTOS SOBRE LA CURVA DE CRECIMIENTO BACTERIANO.

Los agentes antimicrobianos se pueden clasificar como bacteriostáticos o bactericidas. Los agentes bacteriostáticos suelen ser inhibidores de la síntesis de proteínas y actúan uniéndose a los ribosomas. Si disminuye la concentración del agente el antimicrobiano se libera de los ribosomas y se reanuda el crecimiento.

Los agentes bactericidas se unen fuertemente a sus células diana provocando la muerte celular (Madigan et al., 2009).

En el presente trabajo se probó el efecto de los extractos de las 4 diferentes especies estudiadas en una cepa de *Staphylococcus aureus*, se eligió esta especie porque como ya se mencionó, ha generado resistencia a múltiples antibióticos convirtiéndose en un patógeno de alto interés. La resistencia a la penicilina surgió en este microorganismo en 1940 debido a la adquisición de una betalactamasa codificada en plásmidos que se diseminaron rápidamente. En la actualidad, aproximadamente 90 % de los aislamientos clínicos de *S. aureus* es resistente a este antibiótico (Chambers HF, Deleo FR, 2009).

La resistencia a la meticilina (*S. aureus* resistente a la meticilina, SARM), reportada inicialmente en 1961 y mediada por la adquisición del gen *mec A* de origen cromosómico, también se diseminó rápidamente en los hospitales del mundo y hoy ha alcanzado proporciones epidémicas en algunos países, lo que ha tenido un impacto importante en los sistemas de salud (Arias et al, 2008). Es por esta razón que la vancomicina, un gluco-péptido que inhibe la síntesis de la pared celular por medio de la unión a la terminación D-Ala-D-Ala del peptidoglucano, ha sido el antibiótico de primera línea en el tratamiento de infecciones graves causadas por SARM durante más de cuatro décadas (van Hal SJ, Fowler VG., 2013)

La figura 11 muestra el efecto del extracto metanólico de *Ziziphus amole* en diferentes concentraciones sobre la curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 en 24 horas. En la gráfica puede observarse que la CBM detiene el

crecimiento aproximadamente 8 horas después de la aplicación del extracto al inoculo por lo que podemos decir que tiene un efecto bacteriostático, pero la población bacteriana no desaparece, solo deja de crecer, lo que da pauta a que en una situación de infección (in vivo) el sistema inmunológico sea capaz de defenderse.

La figura 12 muestra el efecto del extracto metanólico de *Ziziphus amole* en diferentes concentraciones sobre la curva de crecimiento de *Salmonella entérica*, durante 24 horas, podemos observar que el extracto tiene un efecto bacteriostático de forma similar a la figura anterior, lo interesante de estas figuras es que en el primer caso hablamos de una bacteria Gram positiva y en este caso es una Gram negativa, otro punto que destacar en esta figura es que el uso tradicional que se le da a *Z. amole* es para el tratamiento de dolores estomacales y diarrea, síntomas que *Salmonella entérica* ocasiona durante una infección. La intoxicación alimentaria ocasionada por bacterias del género *Salmonella* es una de las zoonosis de mayor prevalencia en países desarrollados y una de las principales causas de enfermedades gastrointestinales en el hombre (Sánchez M, 2013). En los últimos años, diversos estudios han reportado un aumento de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella spp* aisladas de alimentos de origen animal (Rivera LG, Motta PA, Cerón MF, Chimonja FA. 2012). La creciente resistencia antimicrobiana de *Salmonella spp* ha sido atribuida al uso extenso de antibióticos, tanto en la terapéutica humana como animal (Junod T, López-Martin J, Gädicke P.2013). Por lo que este tipo de trabajos resultan de suma importancia, sobre todo cuando se obtienen resultados como el que se observa en la figura, sería muy interesante estudiar el mecanismo de acción del extracto de *Ziziphus amole* y de esta manera definir para que otros microorganismos podría utilizarse como un bacteriostático.

En la figura 13 se muestra el efecto del extracto de acetato de etilo de *Bidens pilosa* en diferentes concentraciones sobre la curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 en 24 horas. En la gráfica puede observarse que la MIC resulta letal aproximadamente a las dos horas de contacto y la CMB inhibe el crecimiento

desde el primer impacto y además destruye las colonias por lo que presenta un efecto bactericida. Recomendamos análisis de toxicidad para poder considerar su aplicación. Es posible que la bacteria no haya estado expuesta al mecanismo de acción de este extracto o en su defecto alguno de sus compuestos y por ello no haya generado defensa alguna ante él.

En la figura 14 se observa el efecto del extracto Metanólico de *Melochia tomentosa* sobre la curva de crecimiento de *Staphilococcus aureus* FES-C expuesta al extracto durante 24 horas. En la gráfica se pueden observar la MIC y la CBM por debajo de la línea de test y la 1/2 MIC.

En esta gráfica se puede observar que existen 2 picos en la CBM a las 6 y 12 horas y que el primero (6 horas) coincide con la MIC, se observa que existe un efecto bacteriostato tanto en la MIC como en la CBM. Por lo que podríamos decir que pertenece al grupo de antibióticos tiempo-dependientes (ej. β -lactámicos, glucopéptidos y macrólidos); su concentración debe superar la MIC durante el 40%-60% del intervalo de administración. Concentraciones muy altas no aumentan la actividad antibacteriana; en el caso de los β -lactámicos, es el tiempo en que permanece el antibiótico por encima de la MIC el parámetro más útil para predecir la eficacia del tratamiento (Andrés Alvo, et al.,2016).

La Figura 15 muestra el efecto del extracto metanólico de *Erhetia latifolia* sobre la curva de crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13881 expuesta al extracto durante 24 horas. En la gráfica se pueden observar que la MIC crece por debajo de la media MIC y el test y aproximadamente a las 8 horas empieza con un crecimiento constante, al igual que con la gráfica anterior podríamos estar hablando de un bacteriostático tiempo-dependiente.

La figura 16 muestra el efecto del extracto metanólico de *Ehretia latifolia* sobre la curva de crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 expuesta al extracto durante 24 horas. En la gráfica se pueden observar la MIC y la CBM por debajo de la línea de test y la 1/2 MIC. El efecto de la CBM es bacteriostato hasta las 12 h.

En este caso al ser un antibiótico bacteriostato y que presenta un patrón de comportamiento con base en el tiempo, es tiempo dependiente.

CONCLUSIONES

- Las especies *Bidens pilosa*, *Erhetia latifolia*, *Melochia tomentosa* y *Zizyphus amole*, tienen actividad antibacteriana.
- El extracto de acetato de etilo de *Bidens pilosa* presenta actividad bactericida en *S. aureus* ATCC 29213
- El extracto metanólico de *E. latifolia* tiene un efecto bacteriostato en la cepa de *K. pneumoniae* ATCC 13881.
- Las cepas con mayor sensibilidad son de *S. aureus* cepa (FES-C) presenta sensibilidad a 4 extractos correspondientes a 3 de las 4 especies estudiadas; y la cepa ATCC 29213 presenta sensibilidad a 4 extractos que corresponden a dos de las especies estudiadas.
- Se presentó mayor actividad de los extractos en cepas Gram positivas.

APÉNDICE 1

MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR O DE KIRBY-BAÜER

(Cole,1994; Vanden Berghe y Vlietinck,1991; Beery Sherwood,1945).

Utilizando esta técnica, se evalúan cualitativamente la actividad antibacteriana de los compuestos de un extracto o un compuesto puro, los cuales difunden a través del agar. Si hay compuestos activos, el crecimiento de la bacteria se detiene y se forman halos alrededor del disco.

Se utiliza como medio de cultivo estándar el agar Müller-Hinton. Es importante que el medio alcance en la placa un espesor uniforme de 4 mm. Si es más fino, los compuestos tienden a difundir más en dirección lateral aumentando el tamaño de las zonas de inhibición; un agar de más de 4 mm de espesor produce una mayor disolución del compuesto hacia abajo, con tendencia a estrechar artificialmente las zonas de inhibición.

Con un asa de siembra se tocan las superficies convexas de 4 o 5 colonias. Se sumerge el asa en 10 mL de caldo Muller-Hinton (Bioxon 260), se enjuaga bien en el líquido para descargar todo el material y luego se retira el asa, el tubo de cultivo se incuba a 37°C durante aproximadamente 24 horas, o hasta que la turbidez del medio sea equivalente al estándar N°0.5 de Mac Farland. Esto equivale a una concentración de aproximadamente 1.5×10^8 UFC/ml. El estándar 0.5 de Mac Farland se prepara añadiendo 0.5 mL de sulfato de bario a 99.5 ml de H₂SO₄ 0.36N. La comparación de la turbidez entre el estándar y el caldo con el organismo en estudio se puede efectuar con un espectrofotómetro a 640 nm.

Una vez logrado esto, se sumerge un hisopo de poliéster, estéril y seco en la suspensión de bacteria, antes de retirarlos se elimina el exceso de líquido haciendo rotar el hisopo contra la pared interna del tubo. Con este hisopo se inocula la superficie de una placa con agar de Müller-Hinton. Previamente, se deja que la placa alcance temperatura ambiente. Finalmente, se siembra mediante estría en por lo menos tres direcciones, dando vueltas a la placa en ángulos de aproximadamente 60° luego de cada estría.

Se utilizan sensidiscos de 5mm de diámetro hechos de papel Whatman N°5. Se utilizan 2mg de los extractos disueltos en 10 mL del disolvente correspondiente a cada extracto. Al llevar a cabo la prueba de susceptibilidad, los discos impregnados con las sustancias a evaluar se colocarán en la superficie del agar utilizando una pinza estéril y deben colocarse por lo menos a 22 mm uno de otro y a 14 mm del borde de la placa para evitar que las zonas de inhibición se superpongan o se extiendan hasta el margen de la placa. Los sensidiscos se deben presionar suavemente con la punta de la pinza, cuidando de no moverlos una vez colocados en su lugar. Sobre cada sensidisco se coloca la concentración de cada extracto a evaluar.

Para el control negativo se preparan sensidiscos a los que se les agrega 10 mL del disolvente empleado para disolver el problema. Se evalúa la sensibilidad de las cepas experimentales con sensidiscos impregnados con 25 mg de cloramfenicol. Los sensidiscos se preparan 24 horas antes del bioensayo.

Una vez preparadas convenientemente las placas para la prueba de susceptibilidad, se colocan en una incubadora a 36°C, sin mayor tensión de CO₂. Es preciso evitar presión de CO₂ debido a que se puede formar ácido carbónico en la superficie humedecida del agar, provocando un descenso de pH. El desarrollo de algunos microorganismos es debido al pH ácido, lo cual tiende a estrechar falsamente la zona de inhibición. Así mismo, la actividad de diversos antibióticos puede aumentar o disminuir con la caída del pH, produciéndose diferencias en las velocidades de difusión y alteraciones de las zonas de inhibición.

En el caso de existir zonas de inhibición se reporta el extracto como activo. Las zonas de inhibición se miden con una regla de calibración en milímetros. En todos los casos, esta prueba se hace por triplicado y se reportan los valores promedio.

APÉNDICE 2

MICROTÉCNICA DE DILUCIÓN EN CALDO

(Koneman,1985)

Con este método se evalúa cuantitativamente la actividad antibacteriana de los extractos o compuesto puro, estos se incorporan al agar a diferentes concentraciones. Se determina la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración bactericida mínima (CBM).

La susceptibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos se determina en una serie de microtubos moldeados en una placa plástica con 96 concavidades (placa de ELISA). La placa se prepara colocando 50 μ L de caldo Müller-Hinton (Bioxon 260) con la concentración del extracto probado en las concavidades apropiadas (0.25, 0.50, 0.75, 1.0, 1.5 y 2.0 mg).

Se prepara una suspensión bacteriana inoculando una asada de la colonia en estudio en 10 mL de caldo Mueller-Hinton (Bioxon 260) y se incubó a 35°C durante 24 horas (produciendo una concentración bacteriana de aproximadamente 10^8 organismos) y se diluyeron en caldo Muller-Hinton para obtener una concentración aproximada de 10^5 organismos/mL. En cada una de las 96 concavidades se colocaron 50 μ L de esta suspensión diluida.

Como control negativo se colocan 50 μ L de caldo Müller-Hinton con 10 μ L del solvente empleado para disolver el problema. El grupo testigo se prepara colocando 50 μ L de caldo Müller-Hinton en las concavidades y 50 μ L de la suspensión bacteriana (10^5 UFC/mL)

Una vez cargada la placa con la suspensión bacteriana, se cubre con una tapa para evitar el desecamiento durante la incubación. Todas las placas se incuban a 35°C durante 24 horas.

Después del tiempo de incubación se añade a cada concavidad 50 μ L de una solución al 0.08% de sal de tetrazolio oxidada (DTT). La placa se incuba 30 min.

El uso de sales de tetrazolio provee de métodos alternos sin directos para medir la actividad respiratoria, en este caso en bacterias. La reducción de una sal de tetrazolio causa la formación de un precipitado insoluble de coloración rojiza conocido como formazán. Por lo que, en las concavidades donde se desarrolle organismos, el colorante es reducido a color rojo visible, produciendo un botón rojo en el fondo de la concavidad. Donde no hay desarrollo, la solución permanece clara.

La concentración a la cual existe una disminución drástica del crecimiento representa la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y la concentración que produce una inhibición completa del desarrollo representa la Concentración Bactericida Mínima (CBM). En todos los casos, esta prueba se hace por triplicado.

ÁPENDICE 3

EFFECTO DE LOS EXTRACTOS SOBRE EL CRECIMIENTO BACTERIANO

(Kubo, et al.,1993, citado en Ávila,1996)

Este método se emplea para determinar el efecto que tiene el extracto sobre el crecimiento bacteriano, basándose en las CMI y CBM obtenidas. Y así determinar los impactos necesarios para que se produzca la muerte bacteriana.

Se utiliza como medio de cultivo estándar el agar Müller-Hinton. El medio se coloca en cajas septadas. Es importante

que el medio alcance en la placa un espesor uniforme de 4 mm.

Se prepara el inóculo con aproximadamente 1×10^8 bacterias/mL en un tubo de ensayo con 10mL de caldo Müller-Hinton (esta concentración bacteriana se obtiene en un periodo de 24 horas de incubación).

Con ayuda de una micropipeta, se inoculan 0.1mL de la suspensión de bacterias en los tubos que contienen los extractos a evaluar. La concentración final es de aproximadamente de 1×10^5 bacterias/ mL de caldo en cada tubo. Se incubará en una estufa a 35°C sin presión de CO₂.

Los extractos o compuestos a evaluar, se prepara en tubos con 10mL de caldo Müller-Hinton con las concentraciones de CMI y su múltiplo medio; esto es, la mitad del CMI ($\frac{1}{2}$ CMI) y CBM. Se muestrea cada hora durante los primeros 4 tiempos: T0-0, T1-1, T2-2, T3-3, T4-4 (tiempo-horas trascurridas), después 2 muestreos cada dos horas, un muestreo a las 12 hrs y finalmente a las 24 hrs. En cada tiempo se realizan diluciones en tubos con solución salina para determinar las unidades formadoras de colonias en cada tubo. Como testigo se prepara un tubo sin extracto. Las cajas se incuban durante 24 hrs. a 35°C. Se cuentan las colonias de cada concentración y dilución. Se grafica el Log del número de sobrevivientes contra el tiempo para determinar el número de impactos necesarios para que se produzca la inactivación bacteriana, se prolonga la zona lineal de la curva de supervivencia hasta su inserción con el eje de las ordenadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Alonso-Castro, Angel Josabad, Fabiola Domínguez, Alan Joel Ruiz-Padilla, Nimsi Campos-Xolalpa, Juan Ramón Zapata-Morales, Candy Carranza-Alvarez, and Juan Jose Maldonado-Miranda (2017) Medicinal Plants from North and Central America and the Caribbean Considered Toxic for Humans: The Other Side of the Coin. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2017, Article ID 9439868, 28 pages disponible en:
<https://doi.org/10.1155/2017/9439868>
- Andrés Alvo V1, Valentina Téllez G2, Cecilia Sedano M3, Alberto Fica C4. Conceptos básicos para el uso racional de antibióticos en otorrinolaringología. Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello vol.76 no.1 Santiago abr. 2016
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-48162016000100019>
- Arias CA, Murray BE. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century--a clinical super-challenge. N Engl J Med. 2009 Jan 29; 360(5):439-43.
- Arias CA, Rincon S, Chowdhury S, Martínez E, Coronell W, Reyes J, Nallapareddy SR, Murray BE. MRSA USA300 clone and VREF--a U.S.-Colombian connection. N Engl J Med. 2008 Nov 13; 359(20):2177-9.
- Arizmendi MC, Valiente-Banuet A. Guía de las aves del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. México: UNAM/Fundación Cuicatlán; 2010.
- Barragán-Solis, A. La práctica de la autoatención por fitoterapia en un grupo de familias mexicanas archivos en medicina familiar. Medigraphic. 2006;8(3):155–162
- Borges, A.; Abreu, A. C.; Dias, C.; Saavedra, M. J.; Borges, F. & Simões, M. New perspectives on the use of phytochemicals as an emergent strategy to control bacterial infections including biofilms. Molecules, 21(7): E877, 2016
- Casas A, Valiente-Banuet A, Viveros JL, Dávila P, Lira R, Caballero J, Cortés L, Rodríguez I. Plant resources of the Tehuacán Valley, México. Econ Bot. 2001;55(1):129–66.

- Chagnon M. General pharmacologic inventory of medicinal plants of Rwanda. *J Ethnopharmacol* 1984;12(3):239-51.
<https://www.biodiversidad.gob.mx/pais/capitalNatMex.html>
- Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*. 2009 Sep; 7(9):629-41.
- *Clin Microbiol Infect*, 15 (2009), pp. 5-10
- Dávila, P., Arizmendi, M del C., Valiente-Baunet, A., Villaseñor, J. L, Casas, A., Lira, R. 2002. Biological diversity in the Tehuacan-Cuicatlán Valley, México. *Biodiversity and Conservation*. 11:421-442.
- Esquivel-Gutiérrez ER, Noriega-Cisneros R, Bello-González MA, Saavedra-Molina A, Salgado Garciglia R. Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. *Biologicas*. 2012;14(1):45-52.
- E. Guerin, G. Cambray, N. Sanchez-Alberola, S. Campoy, I. Erill, S. da Re, et al. The SOS response controls integron recombination. *Science*, 324 (2009), pp. 1034.
- F. Baquero. Environmental stress and evolvability in microbial systems.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03061>.
- García, E., 1981. Modificaciones al Sistema de clasificación climática de Köppen. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*, 380 (2012), pp. 2095-2128.
- Gurib-Fakim, A. 2006. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. 27: 1- 93
- Ivins BE, Welkos SL, Knudson GB, Leblanc DJ. Mutagénesis del transposón Tn 916 en *Bacillus anthracis*. *Infect Immun* 1988; 56 :176 - 81.
- Junod T, López-Martin J, Gädicke P. Estudio de susceptibilidad antimicrobiana de *Salmonella enterica* en muestras de origen animal y alimentario. *Rev Med Chile*. 2013;141(3):298-304. doi: 10.4067/ S0034-98872013000300003.

- Kapadia, G. J., Shukla, Y. N., Chowdhury, B. K., Basak, S. P. 1977. Phenylpentylisatins: a novel class of alkaloids from *Melochia tomentosa*. J. C. S. Chem. Comm. 535-536.
- Kapadia, G. J., Shukla, N., Basak, S. P. 1978. Melovinone, an open chain analogue of melochinone from *Melochia tomentosa*. Phytochemistry. 17:1444-1445.
- Kapadia, G. J., Dhukla, N., Basak, S. P. 1980. The melosatins - a novel class of alkaloids from *Melochia tomentosa*. Tetrahedron. 36:2441-2447.
- Kapadia, G. J., Shukla, Y. N. 1993. Melosatin D: a new isatin alkaloid from *Melochia tomentosa* Roots. Planta Medica. 59:568-569.
- Lira R, Casas A, Blancas J. Ethnobotany for sustainable ecosystem management: a regional perspective in the Tehuacán Valley. In: Lira R, Casas A, Blancas J, editors. Ethnobotany of Mexico. Interactions of people and plants in Mesoamerica. New York, NY: Springer Science Business Media; 2016. p. 179–206 https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6669-7_8.
- Makabir Gupta P. Especies vegetales promisorias de países del Convenio Andrés Bello. Bogotá: Editorial Convenio Andrés Bello, 1990:567-8.
- M.A. Cooper, D. Shlaes. Fix the antibiotics pipeline. Nature, 472 (2011)
- Martínez, M., 1979. Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.
- Marzocca, A. 1976. Manual de malezas. 3a ed. Editorial: hemisferio sur. Buenos Aires, Argentina
- M. May. Drug development: Time for team work. Nature, 509 (2014)
- Namiki, M., 1990. Antioxidants antimutagens in food. Crit. Rev. Food Sci. 29, 273–300.
- Newman, D.J., Cragg G. M. 2007. Natural Products as sources of new drugs over the last 25 years. Journal of natural products. 70:461-477.
- Ocegueda, S., Moreno, E. y Koleff, P. (2005) Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. CONABIO. Biodiversitas, 62, 12-15.
- O'Gara, R. W., Lee, C. W., Morton, J. F., Kapadia, G. J., Dunham, L. J. 1974. Sarcoma induced in rats by extracts of plants and by fractionated extracts of

- Krameriaixina. Journal of the National Cancer Institute. 52(2): 445-448. Okusa, P. N., Penge, O., Devleeschouwer, M., Duez, P. 2007.
- Oliver, R. Canton, P. Campo, F. Baquero, J. Blazquez. High frequency of hyper mutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. Science, 288 (2000), pp. 1251-1254
 - Orozco, J. (2020). Estudio etnobotánico, actividad antimicrobiana y fitoquímica de plantas medicinales utilizadas en Santiago Quiotepec, Oaxaca (Doctora). UNAM.
 - P. Courvalin. Predictable and unpredictable evolution of antibiotic resistance. JIntern Med, 264 (2008), pp. 4-16
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2008.01940.x>
 - Pérez-Negrón, E. S. 2002. Etnobotánica y aspectos ecológicos de las plantas útiles de Santiago Quiotepec, Cuicatlán, Oaxaca. Tesis para optar por el título de Biólogo. Instituto de Ecología, UNAM.
 - Pérez RM. A study of the hypoglucemic effects of some Mexican plants. J Ethnopharmacol 1984;12(3):253-62.
 - Pérez RM. A study of the hypoglucemic effects of some Mexican plants. J Ethnopharmacol 1986;16(1):1-13.
 - Pitty, A. y R. Muñoz. 1993. Guía práctica para el manejo de malezas. Editorial el Zamorano. Escuela Agrícola Panamericana. Honduras.
 - Rivera LG, Motta PA, Cerón MF, Chimonja FA. Resistencia de la Salmonella a los antimicrobianos convencionales para su tratamiento. Rev CES MedVetZootec. 2012; 7 (1): 116-29.
 - R. Lozano, M. Naghavi, K. Foreman, S. Lim, K. Shibuya, V. Aboyans, et al.
 - Romero-Castillo PA, MC Pérez Amador Barron, P Guevara Fefer, V Muñoz Ocotero, A Reyes Dorantes, F Aguirre Garcia, A Amaya Chavez. Actividad anti-inflamatoria de *Ziziphus amole*. Revista internacional de botánica experimental. ISSN 0031 9457 (2013) 82: 75-80.
 - Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski, 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

- Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski. 2008. Compositae. Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. Fascículo 157. Instituto de Ecología-Centro Regional del Bajío. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Sánchez M. Determinación de la prevalencia de enterobacterias del género *Salmonella* spp. en huevos frescos de gallina de empresas avícolas de la provincia de Tungurahua [tesis para bachiller]. Ecuador: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Central del Ecuador; 2013.
- Trieu-CuotP, Derlot E, Courvalin P. Transferencia conjugativa mejorada de ADN plasmídico de *Escherichiacoli* a *Staphylococcosaureus* y *Listeria monocytogenes*. FEMS MicrobiolLett1993; 109: 19 - 24.
- Van Hal SJ, Fowler VG., Jr Is it time to place vancomycin in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcosaureus* infections? Clin Infect Dis. 2013; 56:1779–88. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/cit178>.
- Valiente-Banuet A, Solís L, Dávila P, Arizmendi MC, Silva C, Ortega-Ramírez J, Treviño J, Rangel-Landa S, Casas A. Guía de la vegetación del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. México: UNAM/CONABIO; 2009.
- Vibrans, H., 1995. *Bidens pilosa* L. y *Bidensodorata* Cav. (Asteraceae: Heliantheae) en la vegetación urbana de la Ciudad de México. Acta Botánica Mexicana 31: 85-89.
- Wood for N, Livermore DM. Infections caused by Gram-positive bacteria: A review of the global challenge. J Infect. 2009;59(Supl 1): S4–S16. [http://dx.doi.org/10.1016/S0163-4453\(09\)60003-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0163-4453(09)60003-7).