



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ACTIVIDAD BACTERICIDA DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE DORADILLA
(*Selaginella lepidophylla*)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A

MARÍA GUADALUPE HERNÁNDEZ MEJÍA



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Jurado asignado:

Presidente:	QFB María Elsa Escudero García
Vocal:	M en C Luciano Hernández Gómez
Secretario:	M en C Martha Giles Gómez
1er. Suplente:	QFB Norma Angélica Camacho de la Rosa
2°. Suplente:	M en B Beatriz Ruiz Villafan

Sitio donde se desarrolló el tema:

Cepario y laboratorio del Departamento de Microbiología Experimental de la Facultad de Química, UNAM, Ciudad Universitaria.

Asesor del tema:

M en C Luciano Hernández Gómez

Supervisor técnico:

Antonieta Silva Chávez

Sustentante:

María Guadalupe Hernández Mejía

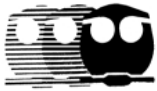


ÍNDICE GENERAL

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABLAS	ix
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
III. GENERALIDADES	4
A. Familia <i>Selaginellaceae</i>	4
B. Género <i>Selaginella</i>	4
1. Propiedades medicinales	5
2. Antecedentes fitoquímicos	6
2.1 Flavonoides	6
2.1.1 Distribución	7
2.1.2 Propiedades medicinales	7
2.1.3 Actividad antimicrobiana	9
C. <i>Selaginella lepidophylla</i>	10
1. Nombres comunes	10
2. Clasificación taxonómica	10
3. Características botánicas	11
4. Distribución	12
5. Propiedades medicinales	13
6. Antecedentes fitoquímicos	14
D. Los extractos	14
1. Maceración	15
E. Destilación en rotavapor	15
F. Microorganismos asociados a algunas enfermedades	17
1. Género <i>Streptococcus</i>	17
2. Género <i>Enterococcus</i>	17
3. Género <i>Staphylococcus</i>	18
4. Género <i>Bacillus</i>	19
5. Género <i>Pseudomonas</i>	20
6. Género <i>Escherichia</i>	21



IV. JUSTIFICACIÓN	22
V. OBJETIVOS	23
A. OBJETIVO GENERAL	23
B. OBJETIVOS PARTICULARES	23
VI. HIPÓTESIS	23
VII. METODOLOGÍA UTILIZADA	24
A. Material biológico	24
B. Viabilidad, pureza e identidad de las siete cepas tipo	24
C. Preparación del extracto etanólico de <i>Selaginella lepidophylla</i>	26
D. Prueba preliminar en gradiente de concentración del extracto etanólico de <i>Selaginella lepidophylla</i> para las cepas en estudio	27
1. Preparación de las placas	27
2. Preparación de la suspensión y prueba preliminar	28
E. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de <i>Selaginella lepidophylla</i> en placa para las cepas en estudio	29
1. Preparación de las diluciones empleadas	29
2. Preparación de las placas con las diluciones	30
VIII. RESULTADOS	32
A. Viabilidad, pureza e identidad de las siete cepas tipo	32
B. Obtención del extracto etanólico y prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración	42
C. Concentración mínima inhibitoria (CMI) para las cepas tipo ante el extracto etanólico de doradilla	50
IX. DISCUSIÓN	52
X. CONCLUSIONES	55
XI. PERSPECTIVAS	56
XII. BIBLIOGRAFÍA	57
XIII. GLOSARIO DE TÉRMINOS	64
XIV. ANEXO	71
A. Equipo y material de laboratorio	71
A-1. Material inerte	71
A-2. Medios de cultivo	71
B. Curva de Mc Farland	73



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Flavonoides. Estructura básica y tipos	6
Figura 2. <i>Selaginella lepidophylla</i>	11
Figura 3. Distribución geográfica de <i>Selaginella lepidophylla</i> en México ..	12
Figura 4. Equipo de rotavapor	16
Figura 5. Solución de maceración de <i>Selaginella lepidophylla</i>	26
Figura 6. Rotavapor Buchi R-124 y baño de agua Buchi B-480	27
Figura 7. Solidificación de agar BHI-Extracto etanólico en placas de Petri con inclinación	28
Figura 8. Inoculación por extensión superficial.....	29
Figura 9. Placa 1 de Concentración mínima inhibitoria para <i>S. pyogenes</i>	30
Figura 10. Placa 1 de Concentración mínima inhibitoria para <i>E. faecalis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> y <i>E. coli</i>	30
Figura 11. Placa 2 de Concentración mínima inhibitoria para todas las cepas empleadas	31
Figura 12. Placa 3 de Concentración mínima inhibitoria para todas las cepas empleadas	31
Figura 13. Pruebas bioquímicas de identificación para <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	33
Figura 14. Pruebas bioquímicas de identificación para <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	34
Figura 15. Pruebas bioquímicas de identificación para <i>S. aureus</i> ATCC 25923	35
Figura 16. Pruebas bioquímicas de identificación para <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	36
Figura 17. Pruebas de identificación para <i>B. subtilis</i> ATCC 6633	37
Figura 18. Pruebas bioquímicas de identificación para <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	39
Figura 19. Pruebas bioquímicas de identificación para <i>E. coli</i> ATCC 25922	41

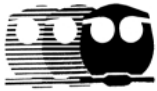
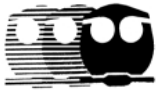


Figura 20. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	43
Figura 21. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	44
Figura 22. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para <i>B. subtilis</i> ATCC 6633	45
Figura 23. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para <i>S. aureus</i> ATCC 25923	46
Figura 24. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	47
Figura 25. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	48
Figura 26. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para <i>E. coli</i> ATCC 25922	49
Figura 27. Prueba de Concentración mínima inhibitoria para <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615 ante el extracto etanólico de doradilla	51



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades medicinales de biflavonoides aislados del género <i>Selaginella</i>	8
Tabla 2. Clasificación taxonómica actual de <i>Selaginella lepidophylla</i>	10
Tabla 3. Preparación de las diluciones empleadas para determinar la Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de <i>Selaginella lepidophylla</i> en placa	29
Tabla 4. Pruebas de identificación para <i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	33
Tabla 5. Pruebas de identificación para <i>E. faecalis</i> ATCC 29212	34
Tabla 6. Pruebas de identificación para <i>S. aureus</i> ATCC 25923	35
Tabla 7. Pruebas de identificación para <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	36
Tabla 8. Pruebas de identificación para <i>B. subtilis</i> ATCC 6633	37
Tabla 9. Pruebas de identificación para <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	38
Tabla 10. Pruebas de identificación para <i>E. coli</i> ATCC 25922	40
Tabla 11. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de <i>Selaginella lepidophylla</i> en placa para las cepas en estudio	42
Tabla 12. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de <i>Selaginella lepidophylla</i> en placa para las cepas en estudio	50



I. RESUMEN

La herbolaria es la medicina tradicional que se emplea para curar algunos males a través de plantas en forma de extractos, infusiones o bien aplicándolas localmente. Con el desarrollo de la ciencia y el empleo de nuevas drogas, los denominados remedios caseros han quedado en desuso. Sin embargo, la aparición de microorganismos con resistencia a los antibióticos origina la necesidad de contar con otras alternativas, como es el regreso al empleo de las plantas medicinales.

En el presente trabajo se obtuvo el extracto etanólico de la planta *Selaginella lepidophylla* (doradilla), probándose posteriormente su actividad bactericida frente a cepas tipo, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922, responsables de algunas enfermedades en vías respiratorias altas.

Si bien no se pudo obtener una Concentración mínima inhibitoria (CMI) para los microorganismos empleados, con excepción de *S. pyogenes* la cual fue 1:1, sí se pudo observar que todos los microorganismos en estudio fueron inhibidos con en el extracto concentrado, sin embargo en las posteriores diluciones realizadas (1:1, 1:2, 1:3, 1:4 y 1:5), *S. pyogenes* fue quien presentó mayor susceptibilidad ante el extracto, seguido de *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* y *E. coli*, mostrando así el extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* una apreciable efectividad sobre los mismos.

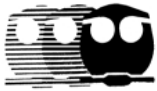


II. INTRODUCCIÓN

El uso de las plantas medicinales surgió desde tiempos prehistóricos, cuando el hombre comenzó a utilizar las plantas para su consumo, y por consiguiente conoció las plantas dañinas y las benéficas, desde entonces y hasta comienzos del siglo XIX, por ensayo y error, ha utilizado los elementos que existen en la naturaleza para curar sus enfermedades y mejorar su estado de ánimo. Esta práctica ha pasado de generación en generación, perfeccionándose con el paso del tiempo y en la actualidad se le ha denominado *medicina tradicional* (1).

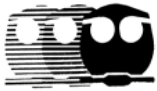
Las propiedades curativas de las plantas, el efecto sobre el organismo y su modo de aplicación ya eran conocidos desde el siglo XVIII, sin embargo, sus principios activos eran desconocidos. El desarrollo de las teorías evolutivas, la herencia genética y el uso del microscopio, dieron como resultado el nacimiento de diversas ciencias como la fitoquímica, además de la mejora de técnicas y metodologías como el análisis instrumental, lo que hizo posible el reconocimiento y el aislamiento de los principios activos de muchas plantas medicinales. La gran mayoría de estos principios activos suelen obtenerse sintéticamente en el laboratorio y posteriormente son utilizados en la preparación de medicamentos químicos; el consumo de estos medicamentos se incrementó desplazando cada vez más el uso directo de las plantas medicinales de las cuales proceden; y el hombre se fue alejando así de la medicina tradicional (1).

Los problemas de salud, la difícil obtención de los medicamentos alopáticos debido a la falta de los mismos y los altos costos que implican para los sectores económicos más vulnerables, han llevado de nuevo a la humanidad a la búsqueda de la medicina tradicional; es así como el conocimiento de las plantas medicinales ha vuelto a tener un auge acelerado y cada día se ubica en un destacado lugar como una de las medicinas alternativas del futuro que garantiza eficacia, seguridad y bajos costos, siempre y cuando sea usado en forma adecuada y por personal calificado (1).



La planta *Selaginella lepidophylla* (doradilla) es de interés en la medicina tradicional debido a los diversos usos medicinales que se le han dado, pues se ha reportado su empleo en el tratamiento de padecimientos como la tos, entre muchos otros.

Por lo anteriormente descrito, el presente trabajo pretende contribuir al conocimiento de la efectividad y actividad bactericida de los extractos etanólicos de doradilla ante cepas tipo, considerando aquellas que llegan a ser parte de algunas infecciones bacterianas en vías respiratorias altas.



III. GENERALIDADES

A. Familia *Selaginellaceae*

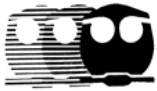
Selaginellaceae es una familia que pertenece al grupo de las plantas vasculares que no producen semillas, esta consta de un sólo género, *Selaginella*, y a su vez éste es el único representante del orden de las *Selaginellales*. Dicha familia se encuentra ampliamente distribuida en el mundo, principalmente en regiones tropicales (2, 3, 4).

La familia de las *Selaginellaceae* son plantas terrestres o rupícolas, poseen tallos ramificados. Disponen de raíces escasas y largas, generalmente en ramificaciones de los tallos. Tienen hojas simples que miden 0.5-10 mm de largo, son dimorfas y uninervadas. Presentan esporangios, uno por esporófila, cortamente pedicelados, heterospóricos, dispuestos en estróbilos terminales, cuadrangulares o cilíndricos (4).

B. Género *Selaginella*

El aspecto general de las especies de *Selaginella* es parecido al de las de *Lycopodium*, sin embargo éstas son más pequeñas. Este género comprende alrededor de 750 especies, para México se han descrito 83. Aunque están ampliamente distribuidas, la mayoría de ellas son tropicales; unas cuantas crecen en zonas templadas. Algunas especies están adaptadas para soportar ciertos períodos de sequía, de ahí que crezcan en lugares relativamente secos (2, 5, 6).

Las plantas pertenecientes a este género son terrestres, rupícolas o epífitas. Los tallos son delgados, algunas especies los tienen tendidos, en tanto que en otras son erguidos, en todos los casos son muy ramificados. El tallo se halla cubierto de hojitas escumiformes, por lo común dimorfas, anchas, uninervadas, dispuestas en cuatro series, helicoidales o con mayor frecuencia decusadas. Las raíces nacen con frecuencia de brotes laterales, desnudos de hojas, que se originan a pares en las bifurcaciones del tallo. Las hojas de

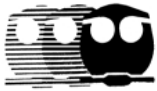


Selaginella se caracterizan por la presencia de una pequeña *lígula* de consistencia membranosa en la base del haz, que como órgano captador de agua, facilita la rápida absorción de las gotas de lluvia (4, 7). El tamaño de las plantas pertenecientes a este género es variable (8).

Las *Selaginellas* se caracterizan por su heterosporia y por tener protalos extraordinariamente reducidos (7). Los estróbilos se localizan en las extremidades de los tallos y tienen dos tipos de esporófilas: las superiores (llamadas microesporófilas) que llevan un pequeño esporangio (microsporangio) que da lugar a los gametofitos masculinos, y las inferiores (megasporófilas) que llevan un esporangio más grande (megasporangio), el cual produce esporas grandes (megasporas) que dan lugar a los gametofitos femeninos (3).

1. Propiedades medicinales

Selaginella es tradicionalmente usada para curar varias enfermedades dependiendo de la especie de que se trate, tales como cáncer o tumores uterinos, nasofaríngeos, de pulmón, etc. Ayuda a curar heridas, después del parto, trastornos menstruales, enfermedades del aparato reproductor femenino, expulsión de la placenta, tónico (para después del parto, aumentar la resistencia del cuerpo, antienvjecimiento, etc.), neumonía, infección respiratoria, pulmones inflamados, tos, inflamación de las amígdalas, asma, infección de la uretra, infección de la vejiga, cálculos renales, cirrosis, hepatitis, cistitis, fractura de huesos, reumatismo, dolor de cabeza, fiebre, enfermedades de la piel, eczema, depurativas, vértigo, dolor de muelas, dolor de espalda, purificar la sangre, coagulación de la sangre, amenorrea, hemorragia, diarrea, dolor de estómago, sedantes, úlceras gástricas, trastornos gastrointestinales, la tiña, enfermedades bacterianas, neutralizar el veneno causado por la mordedura de una serpiente, esguince, contusión, parálisis, fatiga, dispepsia, diabetes *mellitus*, diurético, entre otros padecimientos (9).



2. Antecedentes fitoquímicos

Las propiedades medicinales que posee el género *Selaginella* son aportadas por productos naturales o metabolitos secundarios tales como fenoles (flavonoides), alcaloides, terpenoides, así como aminoácidos no proteicos. Dentro del gran número de compuestos bioactivos del género, los biflavonoides (dímeros de flavonoides) son los de mayor importancia, habiéndose aislado hasta el momento un total de 13: amentoflavona, 2',8''-biapigenina, delicaflovona, ginkgetina, heveaflovona, hinoquiflovona, isocriptomerina, kayaflovona, ochnaflovona, podocarpusflovona A, robustaflovona, sumaflovona y taiwaniaflovona. En la tabla 1 se muestran algunas de las propiedades medicinales asociadas a ellos (9).

2.1 Flavonoides

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular producidos por casi todas las plantas vasculares (10), que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C₆-C₃-C₆), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6' (figura 1). Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C. En función de sus características estructurales se pueden clasificar en: flavanos, flavonoles, flavonas y antocianidinas (11); y constituyen la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas y frutas (12).

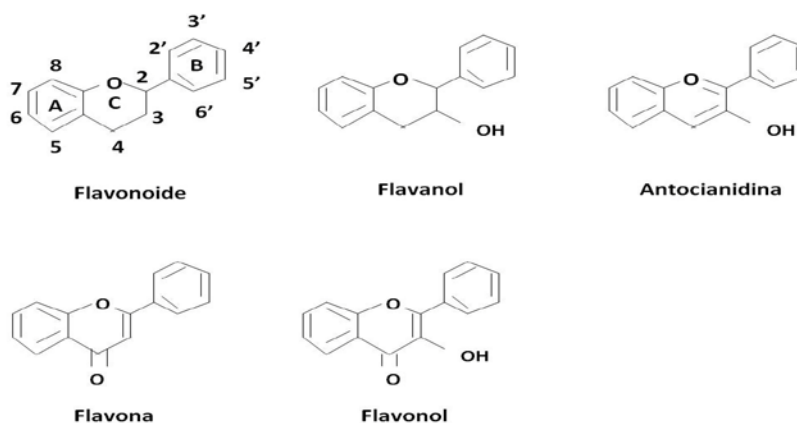
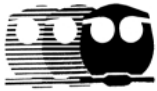


Figura 1. Flavonoides. Estructura básica y tipos (11).



2.1.1 Distribución

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana. Se encuentran en semillas, plantas, frutas, verduras y en bebidas como vino y cerveza. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos (11). Se encuentran en abundancia en las uvas, manzanas, cebollas, cerezas, repollos; además de ser parte del árbol *Ginkgo biloba* y la *Camellia sinensis* (té verde) (12).

Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas verdes (especialmente las angiospermas), y sólo algunos se han detectado en hongos y algas. Se han encontrado en las diferentes partes de las plantas, especialmente en las partes aéreas; se les encuentra en forma libre (también llamados agliconas flavonoides), la mayoría de las veces como glicósidos (ligados a moléculas de carbohidratos), como sulfatos y algunas veces como dímeros y polímeros. Muy pocas veces se encuentran varias clases de flavonoides en un mismo tejido vegetal (13).

Se han identificado más de 6 000 de estos metabolitos secundarios, cuyas propiedades biológicas dependen en gran medida de su estructura particular, es decir del tipo de sustituyentes, grupos funcionales, grado de oxidación, formas diméricas, polimórficas, formas glicosiladas o libres, entre otras (10).

2.1.2 Propiedades medicinales

Aunque diversos estudios indican que algunos flavonoides poseen acciones prooxidantes, éstas se producen sólo a dosis altas, constatándose en la mayor parte de las investigaciones la existencia de efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antibacterianos, antifúngicos, antiprotozoarios, antivirales, antialérgicos, vasorrelajantes y su papel protector frente a enfermedades cardiovasculares y cáncer, entre otras (9, 11).

Tabla 1. Propiedades medicinales de biflavonoides aislados del género *Selaginella* (9).

Biflavonoide	Propiedades medicinales
Amentoflavona	Antioxidante, contra el cáncer, antiinflamatorio, antimicrobiano, contra virus como la influenza (A,B), hepatitis (B), virus de inmunodeficiencia humana (HIV-1), herpes (HSV-1, HSV-2), herpes zóster (VZV), sarampión, virus sincial respiratorio (RSV), vasorelajación, anti-ulcerogénico, contra el dolor estomacal, antidepresivo, ansiolítico, analgésico y agente anti-angiogénesis (9).
2',8"-biapigenina	Contra el cáncer y antiinflamatorio (9).
Delicaflavona	Su actividad biológica aún no ha sido observada (9).
Ginkgetina	Antioxidante, antiinflamatorio, contra virus tales como herpes y citomegalovirus; contra protozoarios tales como <i>Trypanosoma cruzi</i> ; contra cánceres tales como adenocarcinoma de ovario (OVCAR-3), carcinoma cervical (HeLa) y fibroblastos de prepucio (FS-5). Es el biflavonoide más fuerte inhibidor de cáncer. Además incrementa la actividad neuroprotectora frente el estrés citotóxico, y tiene potente actividad para curar enfermedades neurodegenerativas tales como problemas cerebrovasculares y el Alzheimer. Puede reemplazar a la cafeína en productos alimenticios y medicamentos sin generar adicción (9).
Heveaflavona	Actividad citotóxica contra células cancerosas de murina L 929 (9).
Hinoquiflavona	Antioxidante, antiviral y antiprotozoario. Contribuye al crecimiento celular y a proteger los radicales libres. Inhibe el virus de la influenza; tiene alta resistencia a HIV-1; tiene efecto contra el virus de la influenza (A, B), hepatitis (B), virus de inmunodeficiencia humana (HIV-1), herpes (HSV-1, HSV-2), herpes zóster (VZV), y sarampión. Tiene actividad antiprotozoaria in vitro contra <i>Plasmodium falciparum</i> , <i>Leishmania donovani</i> y <i>Trypanosoma sp</i> (9).
Isocriptomerina	Tiene propiedades contra el cáncer así como antiinflamatorias, inmunosupresoras y analgésicas. Tiene actividad citotóxica contra varias células cancerosas incluyendo P-388 y HT-29. Tiene actividad antibacteriana contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas y también tiene propiedades antifúngicas (9).
Kayaflavona	Tiene actividad moderada contra el cáncer y antioxidante (9).
Ochnaflavona	Los derivados de Ochnaflavona pueden tener una actividad antioxidante que inhibe la expresión del gen COX-2 en células de cáncer de colon (9).
Podocarpusflavona A	Tiene moderada actividad contra el cáncer y propiedades antioxidantes (9).
Robustaflavona	Tiene propiedades antivirales y anticancerosas. Es significativamente citotóxica para las diversas células cancerosas. Tiene propiedades antivirales contra HIV-1 e influenza (A, B), hepatitis (B), herpes (HSV-1, HSV-2), herpes zóster (VZV), y sarampión (9).
Sumaflavona	Antiinflamatorio y puede inhibir el daño ocasionado por radiación UV sobre la piel humana (9).
Taiwaniaflavona	Antiinflamatorio (9).



2.1.3 Actividad antimicrobiana

En un estudio presentado en el XVII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, el VI Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica y las VIII Jornadas Científicas de Biomedicina y Biotecnología Molecular, se evaluó la actividad bactericida de polifenoles presentes en plantas de palma de coyol. Las cepas bacterianas empleadas fueron *Staphylococcus aureus* (ENCB-16883), *Staphylococcus epidermidis* (IHO-8580), *Bacillus subtilis* (NRRL-B-941) y *Escherichia coli* (IHO-1879). Como resultado se observó que sólo las bacterias Gram-positivas fueron susceptibles, atribuyéndose dicha actividad a los flavonoides (14).

Lee, *et al.* (2009), hablan sobre la actividad antibacteriana y sinérgica de isocriptomerina, un biflavonoide aislado de *Selaginella tamariscina*, y mencionan que éste mostró una potente actividad contra las cepas de *Bacillus subtilis* (KCTC 1918), *Escherichia coli* (ATCC 43895) y *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (aislado clínico) (15).

Cuéllar y Rojas (2011), analizaron las potencialidades antimicrobianas de la gossipitrina, un glucoflavonoide aislado de las flores de *Talipariti elatum* S. W. (utilizadas como antiasmáticas en la medicina tradicional de Cuba). De este modo, la gossipitrina presentó una apreciable actividad antimicrobiana frente a las cepas *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Staphylococcus epidermidis*, mientras que para las cepas *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Escherichia coli* ATCC 25922, dicha actividad resultó negativa (16).

Tolosa y Cañizares (2002), evaluaron la actividad antimicrobiana de extractos etanólicos y acuosos de propóleo. Una de las propiedades más importantes del propóleo es su actividad antimicrobiana, la cual se atribuye fundamentalmente a los flavonoides. Como resultado, las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 73201 mostraron susceptibilidad ante los extractos, sin embargo se pudo



observar mayor efectividad sobre las bacterias Gram-positivas. En cuanto a los extractos, los etanólicos resultaron más efectivos que los acuosos (17).

C. *Selaginella lepidophylla*

1. Nombres comunes

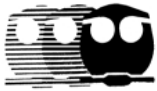
La planta *Selaginella lepidophylla* recibe otros nombres comunes, entre los cuales se pueden mencionar: coralilla, flor de peña, flor de piedra, flor de tierra, siempreviva, planta de la resurrección, rosa de Jericó y doradilla. En Guerrero se conoce como *texochitl*; en Michoacán como *munch-k'ok*; en Morelos como *tequequetzal* y *yamanquitexóchitl*, en Sonora como *jod t'nborra* y en Chihuahua como *magóra* (18, 19, 20).

2. Clasificación taxonómica

En la tabla 2 se muestra la clasificación taxonómica actual de la especie *Selaginella lepidophylla*, de acuerdo con la base de datos del Integrated Taxonomic Information System (ITIS) (21).

Tabla 2. Clasificación taxonómica actual de *Selaginella lepidophylla*.

Clasificación taxonómica	
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Tracheophyta</i>
Clase	<i>Lycopodiopsida</i>
Orden	<i>Selaginellales</i>
Familia	<i>Selaginellaceae</i>
Género	<i>Selaginella</i>
Especie	<i>Selaginella lepidophylla</i>



3. Características botánicas

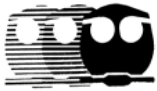
Selaginella lepidophylla se caracteriza por ser una planta criptógama de raíz fibrosa y frondas verdes muy divididas dispuestas en roseta y aparentemente se encuentra sin tallo, sin embargo éste es de color verde, no articulado y pubescente. Es una hierba pequeña con hojas pequeñas traslapadas, parecidas a escamas, un poco duras, acuminadas y pubescentes; y parecida a helechos y musgos (figura 2A). Las hojas laterales a menudo son de color rojizo oscuro a rojo parduzco y las hojas viejas son rojizas en el envés (4, 18, 22, 23, 24).

En época de seca o cuando se deshidrata, esta planta se enrolla hacia el centro formando una bola hasta de 10 cm. con una apariencia dorada (figura 2B), a la cual debe el nombre común de doradilla, de modo que puede permanecer largos períodos de tiempo (hasta 10 años) en sequía, sin morir; y en la época de lluvias o cuando se moja, sus frondas se extienden y nuevamente reverdecen (18, 19, 22).



Figura 2. *Selaginella lepidophylla*. A) *Selaginella lepidophylla* hidratada. B) *Selaginella lepidophylla* deshidratada.

Selaginella lepidophylla es considerada una planta de resurrección debido a que puede continuar con su ciclo vital aún después de deshidratarse al ser sometida a condiciones de estrés abiótico, es decir, a condiciones ajenas a la planta, las cuales están relacionadas a factores sin vida. Cuando la planta es sometida a cambios en el ambiente, por ejemplo salinidad, temperatura, sequía, inundación, intoxicación metálica, o falta de nutrientes que limitan la



cantidad de agua que la planta recibe, se produce un estado de vida latente para evitar daños en los tejidos y en las células. Durante la desecación se sintetiza el azúcar trehalosa. La trehalosa actúa como suplente del agua para evitar el colapso de proteínas en la membrana y las proteínas del material genético de la célula, lo cual le ayuda a toda la planta a mantenerse en un estado aparentemente sin vida ante la escasez de agua y luego “revivir” al rehidratarse cuando el agua vuelve a tomar su lugar rellenando las células y los espacios intercelulares (19).

4. Distribución

Selaginella lepidophylla es una planta endémica de nuestro país, está presente donde hay climas cálido, semicálido, semiseco, seco y templado desde los 600 y hasta los 2 800 m sobre el nivel del mar. Crece entre las piedras o en galerías de ellas que presentan una acumulación de suelo o materia orgánica. Vive a lo largo de los peñascos que se encuentran en la orilla de arroyos y ríos y en afloramientos de roca ígnea expuesta. Se encuentra asociada a bosques tropicales caducifolio y subcaducifolio, así como a matorral xerófilo, bosques de encino, de pino y mixto de pino-encino (18, 20).

En México se encuentra ampliamente distribuida (figura 3), encontrándose así, en los estados de Baja California Norte, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Colima, Durango, Guerrero, Jalisco, Distrito Federal, Nayarit, Nuevo León, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Zacatecas, Tlaxcala (25), Estado de México, Morelos, Michoacán, Chiapas, Oaxaca (23), Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo y Veracruz (18).



Figura 3. Distribución geográfica de *Selaginella lepidophylla* en México.



5. Propiedades medicinales

El origen de *Selaginella lepidophylla* es desconocido, pero se sabe que en el siglo XVI Martín de la Cruz la describe para la contracción de la rodilla. En el mismo siglo, el Códice Florentino la menciona sin proporcionar información acerca de su uso medicinal (18).

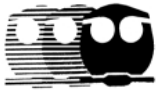
Juan de Esteyneffer a principios del siglo XVIII la usa contra "el vahido, destemplanza del hígado, obstrucción hepática, melancolía hipocondriaca, para el tratamiento de las coartanas y en el morbo gálico" (18).

En el siglo XX Maximino Martínez reporta los usos siguientes: cálculos de la vesícula, dispepsia, diurético, padecimientos hepáticos y para el dolor de los riñones (18).

En general se usa como antirrenopático, diurético, cuando hay dolor de riñones, cintura y espalda, para la cistitis, cuando hay obstrucción de la orina, irritación de los riñones y cálculos renales. Se le utiliza en trastornos de orden digestivo como dispepsia, inflamación del estómago, úlcera, irritación del hígado, susto, corajes, cálculos de vesícula o biliares. También se usa para la tos, reumas, afecciones del corazón, parasitosis, tiricia negra, para purificar la sangre y facilitar la expulsión de la placenta (18, 24).

En Jalapa, Veracruz, se emplea para atender la quemazón, enfermedad que ataca a los niños, caracterizada por diarreas que se prolongan durante un mes, después de esto el pequeño empieza a hincharse de todo el cuerpo y le aparecen manchas moradas (18).

La Sociedad Farmacéutica de México indica su uso como deterativo, eupéptico, diurético, en padecimientos hepáticos y dolor de riñones (18).



6. Antecedentes fitoquímicos

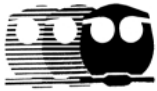
Existen pocos datos acerca de la composición química de *Selaginella lepidophylla*, pero se sabe que contiene algunos aceites, ácidos orgánicos, polisacáridos como la sacarosa, trehalosa (25), materia colorante (18) y flavonoides (26). Guevara (2008) y Menchaca (2009), identificaron los flavonoides amentoflavona, robustaflavona, 2,3-dihidro-robustaflavona y 2,3-dihidro-5-metoxi-robustaflavona.

D. Los extractos

De acuerdo con la Farmacopea de los Estados Unidos de América, en la práctica de extracción para artículos de origen botánico, los componentes de interés se separan total o parcialmente de los otros componentes con ayuda de agua, alcohol, mezclas de alcohol y agua u otros disolventes adecuados. El proceso de extracción implica la extracción de los componentes deseados de la materia de origen vegetal con disolventes adecuados, la evaporación de todo o casi todo el disolvente y el ajuste de los líquidos, masas o polvos residuales a los estándares prescritos. Los extractos que no tienen sustancias inertes agregadas ni procesamientos más allá de la extracción se llaman extractos naturales (29).

Los extractos se pueden definir como preparaciones con consistencia líquida, sólida o semisólida. Los productos obtenidos mediante extracción son extractos líquidos, extractos en polvo, extractos semisólidos y tinturas (29).

Los extractos líquidos son preparaciones de materia de origen vegetal que contienen alcohol como disolvente o como conservante, o ambos, y están hechos de forma que cada ml contiene los componentes extraídos de 1 g del material crudo que representa, a menos que se especifique algo diferente en la monografía individual (29).



Los extractos en polvo son preparaciones sólidas que tienen una consistencia polvorienta obtenida por evaporación del disolvente usado para la extracción (29).

Los extractos semisólidos, también conocidos como extractos blandos extractos pilulares, son preparaciones que tienen una consistencia entre la de los extractos líquidos y la de los extractos en polvo y se obtienen por evaporación parcial del disolvente, agua, alcohol o mezclas hidroalcohólicas usadas como disolventes de extracción (29).

1. Maceración

A menos que se especifique algo diferente, el material crudo a extraer se reduce a trozos del tamaño adecuado, se mezcla bien con el disolvente de extracción especificado y se deja en reposo a temperatura ambiente en un recipiente cerrado durante un tiempo adecuado, agitando frecuentemente hasta que la materia soluble se disuelva. La mezcla se filtra, la materia insoluble se lava con el mismo disolvente usado para la maceración y los filtrados se combinan y concentran, por lo general a presión reducida, hasta lograr la consistencia deseada (29).

E. Destilación en rotavapor

El rotavapor, es un aparato que sirve para quitar el solvente de una mezcla o de un compuesto (30). La base de este método es la evaporación y la condensación de disolventes utilizando un matraz evaporador rotativo bajo vacío (31).

Los principales componentes de un rotavapor, de acuerdo con la figura 4, son:

1. Una unidad de motor que hace girar el matraz de evaporación o el vial que contiene la muestra del usuario (30).



2. Un conducto de vapor que es el eje de rotación de la muestra, y es un conducto de prueba de vacío para el vapor que se extrae de la muestra (30).
3. Un sistema de vacío, para reducir sustancialmente la presión en el evaporador (30).
4. Una unidad de calefacción (baño María) para calentar la muestra (30).
5. Un condensador, ya sea un serpentín refrigerante con agua helada, o un “dedo frío” en los que se colocan las mezclas del refrigerante como hielo seco y acetona (30).
6. Un frasco de recolección de condensado en la parte inferior del condensador, para atrapar el disolvente destilado después de que se recondensa (30).
7. Un mecanismo motorizado o mecánico para levantar rápidamente el matraz de evaporación del baño de calefacción (30).



Figura 4. Equipo de rotavapor.



F. Microorganismos asociados a algunas enfermedades

1. Género *Streptococcus*

Los estreptococos pertenecen a la familia *Streptococcaceae*. Son un grupo de microorganismos esféricos, se agrupan en pares o cadenas, son Gram-positivos, pueden formar una delgada cápsula (*S. pyogenes*) o una cápsula más grande (*S. pneumoniae*), mientras que la mayor parte de ellos forma fimbrias y no tienen flagelos ni esporas (32).

Los estreptococos se distribuyen ampliamente en la naturaleza. Algunos son miembros de la microbiota habitual humana (33), sin embargo, la gran mayoría de sus especies ocasionan enfermedades muy diversas: faringoamigdalitis, sinusitis, otitis, caries, oftalmías, piodermatitis, septicemia, meningitis, artritis, bronquitis, neumonía, etc. (34)

Streptococcus pyogenes es un microorganismo β -hemolítico de acuerdo con la clasificación de Brown y pertenece al grupo A de Lancefield. A esta especie se le considera como la más importante debido a su mayor frecuencia y virulencia (34).

Streptococcus pyogenes puede causar: la angina de Ludwig, erisipela, fiebre puerperal, septicemia, faringitis estreptocócica, pioderma estreptocócico, glomerulonefritis aguda y fiebre reumática (33, 34).

2. Género *Enterococcus*

Antiguamente, las especies enterocócicas pertenecían al género *Streptococcus*, debido a estudios de hibridación genética de ADN y ARN han sido clasificadas dentro de un nuevo género: *Enterococcus*, publicado en 1984 por Schleifer y Kilpper-Balz (35).



Los enterococos son células esféricas u ovoides; son cocos Gram-positivos que aparecen en par o en cadenas cortas en medio líquido; son no capsulados, no forman endosporas y raras cepas son móviles (35).

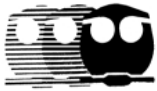
Estos microorganismos se encuentran casi en todos los animales. En el humano, son microbiota normal del tracto gastrointestinal (TGI), tracto genitourinario (TGU), vías respiratorias superiores, cavidad oral, piel, vagina y uretra femenina. También se hallan en las superficies del entorno ambiental, en el agua, en la vegetación, resultado de la contaminación por excrementos de animales y en aguas albañales no tratadas (35).

Los enterococos se consideran una de las causas más comunes de infección nosocomial, sobre todo en unidades de cuidado intensivo. Estos se transmiten de un paciente a otro principalmente por las manos del personal del hospital o por los dispositivos médicos. En los pacientes los sitios más comunes de infección son el aparato urinario, heridas, conducto biliar y sangre. Los enterococos pueden causar meningitis y bacteriemia en los neonatos; en los adultos pueden causar endocarditis (33).

3. Género *Staphylococcus*

Los estafilococos pertenecen a la familia *Micrococcaceae*. Estos son células esféricas, Gram-positivas que suelen estar distribuidas en grupos irregulares a manera de racimos de uvas, aunque también se encuentran aislados o en pares, no forman esporas, *pilis*, ni flagelos, algunas cepas pueden formar cápsula en condiciones especiales (32, 36, 37).

Los estafilococos en general, son miembros de la flora habitual del tejido tegumentario y de las mucosas donde se incluyen las vías respiratorias y gastrointestinales, es así que del 40% al 50% de los seres humanos son portadores nasales de *S. aureus*. También pueden ser aislados con regularidad de ropas personales, ropas de cama y otros fomites de los ambientes humanos (37).



Todos los tejidos pueden ser colonizados por estas bacterias, de tal manera que pueden producir una amplia variedad de padecimientos que se pueden localizar en la piel, en vías respiratorias, en el aparato digestivo, en vías urinarias y otros (32).

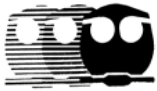
El patógeno que se conoce de muchos años atrás es el *S. aureus* causante de necrosis tisular, neumonía, meningitis, empiema, endocarditis, sepsis, osteomielitis hematógena aguda e infección pulmonar. Actualmente, se ha comprobado que el *S. epidermidis* puede infectar la piel, las mucosas y las heridas (32, 37).

4. Género *Bacillus*

El género *Bacillus* pertenece a la familia *Bacillaceae*. Sus miembros presentan forma de bacilo, son móviles (excepto *B. anthracis*), esporulados y varias especies presentan cápsulas constituidas por polímeros de aminoácidos. Aunque son Gram-positivos, esta propiedad puede variar y su agrupación es en cadenas que, según la literatura, semejan cañas de bambú (34).

Los *Bacillus* están ampliamente distribuidos en la naturaleza y en consecuencia son contaminantes frecuentes de cultivos de las muestras clínicas. La contaminación de los aparatos para hemocultivos radiométricos y de los hisopos con alcohol ha llevado a “brotes” de pseudobacteriemia (38).

Varias especies de *Bacillus* son responsables de infecciones importantes de diversos tipos. Entre las 60 o más especies del género conocidas, especialmente *B. subtilis* y *B. licheniformis* se han encontrado asociadas con infecciones importantes. Estas dos últimas especies han estado implicadas en intoxicaciones alimentarias y en diversas infecciones como septicemia, panoftalmitis, neumonía, infección de heridas y peritonitis (38).



5. Género *Pseudomonas*

Este género pertenece a la Familia *Pseudomonadaceae* y sus miembros son bacilos rectos o ligeramente curvados, sin agrupación, en parejas y, ocasionalmente, en cadenas cortas, son Gram-negativos, la mayoría son móviles por un flagelo polar o por un mechón formado por dos o tres flagelos, casi todas las especies poseen fimbrias y *pilis*, algunas especies forman una delgada microcápsula compuesta por polisacáridos, no forman esporas y como característica relevante, no fermentan los azúcares (32, 34, 36, 37).

El género *Pseudomonas* está formado por una gran variedad de especies que habitan en el suelo, en las aguas estancadas, forman parte de la microbiota nativa del intestino de varias especies animales, son de vida libre, se encuentran en material orgánico en descomposición, en el cual tienen un importante papel para la degradación de este material. Algunas especies son patógenos de plantas, otras especies pueden producir infecciones en animales y sólo unas pocas especies se han encontrado en infecciones humanas (32). *P. aeruginosa* se encuentra a menudo en números pequeños en la microbiota intestinal habitual y en la piel del ser humano (37).

De todas las especies, la más frecuente en infecciones humanas es *P. aeruginosa*. Las infecciones por *P. aeruginosa* asociadas a personas con otros padecimientos son individuos con inmunidad deprimida, pacientes que sufren quemaduras, pacientes con alteraciones metabólicas como la diabetes, pacientes con neoplasias malignas, pacientes que han sido sometidos a instrumentación o cateterismo, y con frecuencia se manifiestan infecciones urinarias en personas de edad avanzada y debe cuidarse a los pacientes sometidos a drogas inmunosupresoras de las infecciones por este agente. Además de causar afecciones de las vías respiratorias, por el uso de respiradores contaminados que da por resultado neumonía necrosante, puede producir otitis externa invasora (maligna) en pacientes diabéticos, infección del ojo que puede culminar en destrucción rápida del mismo. En lactantes o personas debilitadas, tiende a invadir la sangre y a dar por resultado sepsis mortal (32, 37).



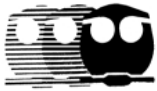
6. Género *Escherichia*

Este género pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Los géneros pertenecientes a esta familia están formados por bacilos Gram-negativos, sin agrupación, muchos de ellos forman cápsula, otros forman flagelos, la mayoría producen fimbrias y pilis, y ninguno produce esporas (32, 34).

Todos los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* tienen vida libre, se les puede encontrar en aguas contaminadas, en el suelo, en el medio ambiente, en plantas y en insectos (32).

Escherichia coli es la bacteria que se aísla más comúnmente en la materia fecal del hombre y de muchas otras especies animales, debido a que su nicho ecológico natural es el intestino delgado y grueso, forma parte de la microbiota nativa intestinal y se encuentra en calidad de saprobio sin causar daño, por lo contrario, muchas cepas de *E. coli* producen sustancias que son inútiles al hospedero, como son las colicinas que tienen efecto inhibitorio sobre otras cepas potencialmente patógenas, por lo tanto la colonización del intestino es benéfica para el hospedero (32).

Es la bacteria que produce más infecciones en heridas en los hospitales, puede infectar vías respiratorias, las meninges como consecuencia de una bacteriemia; las septicemias por *E. coli* son de mayor preocupación por la gravedad de su pronóstico, se pueden instalar en hígado, vías respiratorias u otros órganos; cuando hay una perforación intestinal, son las responsables de la peritonitis consecutiva a esta perforación. Las infecciones urinarias son producidas en más del 70% según algunas estadísticas por *E. coli* y puede ser el agente etiológico de enteritis y enterocolitis (Diarreas del turista) (32).



IV. JUSTIFICACIÓN

El té es la bebida de mayor consumo en el mundo después del agua, ya sea frío o caliente, se adquiere en bolsitas o a granel, donde la industria agroalimentaria se encarga del suministro del producto. Ésta es una bebida sana que presenta según numerosos estudios propiedades medicinales importantes (39), es así como la producción y consumo del té y otras infusiones empleadas para tratar o prevenir diversos padecimientos, nuevamente ha dado pie a la entrada de la herbolaria, que últimamente se ha visto incrementada.

Las infecciones agudas de vías respiratorias altas constituyen la principal causa de consulta médica, y el 80 % de estos episodios son de origen viral, mientras que el resto se debe a agentes bacterianos (40). Dichas infecciones son procesos inflamatorios de la mucosa respiratoria desde la nariz hasta el árbol respiratorio inferior, sin incluir los alvéolos. Se presentan con malestar y numerosos síntomas que se sobreponen, tales como odinofagia (faringitis), rinorrea (catarro común), tos (bronquitis), sensación de plenitud facial y dolor (sinusitis) (41).

Por lo anteriormente descrito y considerando que las personas suelen tomar infusiones (generalmente conocidas comúnmente con el nombre de “tés”) de doradilla (*Selaginella lepidophylla*) como remedio casero para el tratamiento de los padecimientos de vías respiratorias altas como la tos, en el presente trabajo se estudió la actividad bactericida de los extractos etanólicos de esta planta ante las cepas tipo *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922 que llegan a ser responsables de dichos padecimientos.



V. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

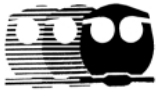
Determinar la actividad bactericida del extracto etanólico de doradilla (*Selaginella lepidophylla*) ante siete cepas tipo.

B. OBJETIVOS PARTICULARES

- ❖ Reactivar y verificar la viabilidad, pureza e identidad de las siete cepas tipo.
- ❖ Obtener el extracto etanólico a partir de la maceración de la doradilla y su concentración con rotavapor.
- ❖ Realizar el reto microbiano ante las siete cepas tipo con el extracto obtenido.
- ❖ Determinar la Concentración mínima inhibitoria (CMI) en macro dilución de las cepas que presenten resultado inhibitorio.

VI. HIPÓTESIS

Si el extracto etanólico de doradilla (*Selaginella lepidophylla*) posee potencial bactericida hacia las cepas tipo empleadas para este estudio, entonces el desarrollo de las mismas se verá afectado observándose una apreciable inhibición en él.



VII. METODOLOGÍA UTILIZADA

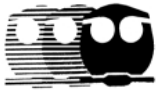
A. Material biológico

Las siete cepas utilizadas (*Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922) para el estudio fueron donadas por el Cepario de la Facultad de Química, UNAM; a estas se les realizaron pruebas de viabilidad, pureza e identidad.

B. Viabilidad, pureza e identidad de las siete cepas tipo

Para la revisión de viabilidad y pureza se activaron o hidrataron las siete cepas tipo liofilizadas (*Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Escherichia coli* ATCC 25922) en Caldo Cerebro Corazón (BHI) y se incubaron a 35° C por 24 horas. Para verificar pureza, cinco de las cepas (*S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 12228, *B. subtilis* ATCC 6633, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 25922) se propagaron en placas con agar BHI por estría cruzada con asa microbiológica; las dos restantes (*S. pyogenes* ATCC 19615 y *E. faecalis* ATCC 29212) se propagaron en Agar Sangre de Carnero (ASC). Todas las placas se incubaron a 35° C por 24 horas; se realizó una tinción de Gram a cada uno de los microorganismos desarrollados y se observó la morfología en un microscopio de campo claro en un aumento de 100X.

Para la revisión de identidad, a las siete cepas bacterianas se les realizaron pruebas de identificación de acuerdo con su morfología observada en la tinción de Gram.



Para los cocos Gram-positivos:

S. pyogenes ATCC 19615: se realizaron las pruebas de catalasa, CAMP (Christie, Atkins, Munch-Petersen) y sensibilidad a la bacitracina de 0.04 U ($\mu\text{g/mL}$).

E. faecalis ATCC 29212: se realizaron las pruebas de catalasa, desarrollo en bilis e hidrólisis de la esculina en el agar bilis-esculina, crecimiento en caldo BHI + 6.5 % NaCl.

S. aureus ATCC 25923: se realizaron las pruebas de catalasa, fermentación del manitol, coagulasa y termonucleasa (DNAsa).

S. epidermidis ATCC 12228: se realizaron las pruebas de catalasa, fermentación del manitol, coagulasa y termonucleasa (DNAsa).

Para los bacilos Gram-positivos:

B. subtilis ATCC 6633: se realizó una tinción de esporas.

Para los bacilos Gram-negativos:

P. aeruginosa ATCC 27853: se realizaron pruebas de fermentación de la lactosa, glucosa, Rojo de Metilo y Voges-Proskauer (RMVP), producción de ácido Sulfhídrico, Indol y Movilidad (SIM), utilización de citrato (Citrato de Simmons) e hidrólisis de urea, desarrollo en agar cetrimida, oxido-fermentación de glucosa (O/F) y presencia de citocromo oxidasa.

E. coli ATCC 25922: se realizaron pruebas de fermentación de la lactosa y glucosa; Rojo de Metilo y Voges-Proskauer (RMVP); producción de ácido Sulfhídrico, Indol y Movilidad (SIM), utilización de Citrato (Citrato de Simmons) e hidrólisis de urea.



Una vez realizadas las pruebas de viabilidad, pureza e identidad de las siete cepas, se resembraron en tubos con Base de Agar Sangre (BSA), se incubaron a 35° C durante 24 horas y se refrigeraron hasta su empleo.

C. Preparación del extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla*

La planta *S. lepidophylla*, empleada en este estudio, se adquirió en el mercado de San Ángel del Distrito Federal, Ciudad de México.

Se pesaron 100 gramos de planta, se cortó en trozos pequeños, se lavó con agua para eliminar el exceso de tierra contenida en ella y se dejó escurrir por espacio de 5 minutos. Se colocó en un matraz Erlenmeyer de 2 litros (figura 5), se adicionaron 100 mililitros de agua destilada y 900 mililitros de etanol al 96%. Se cubrió la boca del matraz con un tapón de algodón y papel parafilm y se dejó en maceración por espacio de siete días en oscuridad a temperatura ambiente.

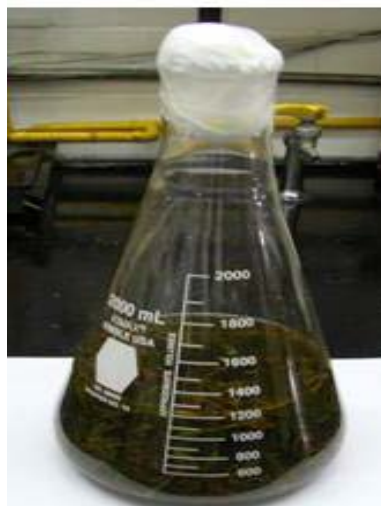


Figura 5. Solución de maceración de *Selaginella lepidophylla*.

Se filtró el extracto obtenido y se concentró en un rotavapor Buchi R-124, a 13 revoluciones por minuto y un baño de agua Buchi B-480, que se mantuvo a una temperatura de 42° C (figura 6), hasta obtener 100 mililitros del extracto.



Figura 6. Rotavapor Buchi R-124 y baño de agua Buchi B-480. (A) Extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla*.

Obtenido el extracto concentrado, éste se centrifugó empleando una centrífuga Roto-Uni Ultracom a 3000 rpm, durante 5 minutos.

En seguida se llevó a cabo la esterilización del extracto en autoclave a 121 °C y 15 lb/in² de presión, durante 15 minutos.

Para la parte de Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en placa, éste no se esterilizó por el momento sino hasta la preparación de las diluciones (Ver página 29).

D. Prueba preliminar en gradiente de concentración del extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* para las cepas en estudio

1. Preparación de las placas

Se preparó agar BHI en tubos de 16 X 150 mm con 7 ml, se esterilizó en autoclave a 121 °C y 15 lb/in² de presión, durante 15 minutos. En condiciones asépticas a una temperatura aproximada de 45° C del medio de cultivo, se adicionó a cada tubo 1 ml del extracto anteriormente preparado, se homogeneizaron los tubos e inmediatamente después se vertió su contenido en placas de Petri de 15 X 60 mm; se dejó solidificar colocando las placas con un



ángulo de inclinación aproximadamente de 5 grados, de forma que se lograra un gradiente de concentración del extracto etanólico, para poder previsualizar de manera general los posibles resultados en la Concentración mínima inhibitoria. Encima de éste se vertió otra capa de agar BHI y se dejaron solidificar en posición horizontal. También se prepararon placas únicamente con agar BHI que servirían para los controles de crecimiento y se dejaron solidificar en posición horizontal (figura 7).



Figura 7. Solidificación de agar BHI-Extracto etanólico en placas de Petri con inclinación.

2. Preparación de la suspensión y prueba preliminar

Las siete cepas se propagaron por estría cruzada, cinco cepas en placas con agar BHI y dos en Agar Sangre de Carnero (ASC) y se incubaron a 35° C durante 24 horas. Se preparó una suspensión de cada microorganismo con una concentración final de 0.5 en la escala de Mc Farland (Anexo B). Con una micropipeta de 200 µl se tomaron 100 µl de cada una de las suspensiones y se inocularon en las placas previamente preparadas con agar BHI y agar BHI-Extracto-etanólico. El inóculo se extendió con una varilla de vidrio (figura 8) y las placas fueron incubadas a 35° C durante 24 horas. Las placas de agar BHI para los controles de crecimiento se propagaron de igual manera que las preparadas con agar BHI-Extracto etanólico.



Figura 8. Inoculación por extensión superficial.

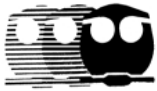
E. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en placa para las cepas en estudio

1. Preparación de las diluciones empleadas

Se prepararon las diluciones 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 y 1:5 en matraces Erlenmeyer de 250 ml con el extracto concentrado y agar BHI de acuerdo a la tabla 3. Se adicionó la cantidad de agar BHI y el volumen de extracto establecido y se esterilizaron en autoclave a 121° C y 15 lb/in² de presión, durante 15 minutos. Adicionalmente se preparó agar BHI de manera convencional, que serviría para el control de crecimiento de las cepas.

Tabla 3. Preparación de las diluciones empleadas para determinar la Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en placa.

Dilución	Agar BHI (g)	Volumen de Extracto etanólico (ml)	Volumen de agua (ml)	Volumen final (ml)
Extracto concentrado	5.2	100	0	100
1:1	5.2	50	50	100
1:2	5.5	35	70	105
1:3	5.2	25	75	100
1:4	5.2	20	80	100
1:5	5.3	17	85	102



2. Preparación de las placas con las diluciones

En placas Petri de 15X100 mm con tres divisiones se colocaron las diluciones del agar BHI-extracto etanólico para cada una de las cepas, que se describen a continuación:

Placa 1 (sólo para la cepa de *S. pyogenes* ATCC 19615): en la primera división se colocó el control de agar BHI con extracto etanólico concentrado (figura 9A), en la segunda agar BHI con extracto etanólico concentrado más 100 µl de inóculo del microorganismo (figura 9B) y en la tercera el control de crecimiento en agar BHI con 100 µl de inóculo del microorganismo (figura 9C).



Figura 9. Placa 1 de Concentración mínima inhibitoria para *S. pyogenes*.

Placa 1 (para las cepas *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 12228, *B. subtilis* ATCC 6633, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 25922): en la primera división se colocó el control de crecimiento en agar BHI (figura 10A) y en la segunda agar BHI con extracto etanólico concentrado (figura 10B), ambas con 100 µl de inóculo del microorganismo.

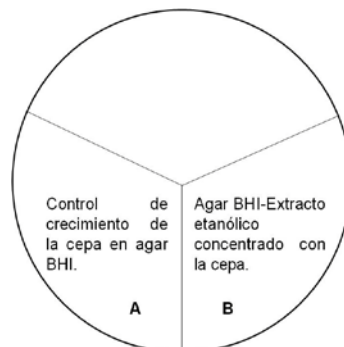


Figura 10. Placa 1 de Concentración mínima inhibitoria para *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* y *E. coli*.



Placa 2 (para todas las cepas): en la primera división se colocó agar BHI con extracto etanólico dilución 1:1 (figura 11A), en la segunda agar BHI con extracto etanólico dilución 1:2 (figura 11B) y en la tercera el control de crecimiento en agar BHI (figura 11C); en las tres divisiones se vertieron 100 μ l de inóculo del respectivo microorganismo.



Figura 11. Placa 2 de Concentración mínima inhibitoria para todas las cepas empleadas.

Placa 3 (para todas las cepas): en la primera división se colocó agar BHI con extracto etanólico dilución 1:3 (figura 12A), en la segunda agar BHI con extracto etanólico dilución 1:4 (figura 12B) y en la tercera agar BHI con extracto etanólico dilución 1:5 (figura 12C); a las tres divisiones se les adicionaron 100 μ L de inóculo del respectivo microorganismo.

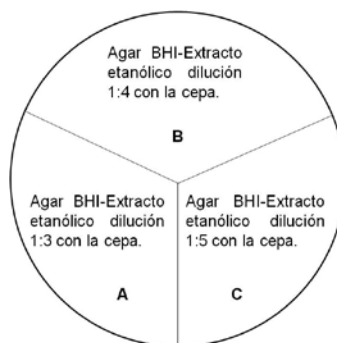


Figura 12. Placa 3 de Concentración mínima inhibitoria para todas las cepas empleadas.



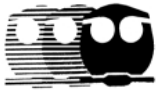
VIII. RESULTADOS

A. Viabilidad, pureza e identidad de las siete cepas tipo

Las siete cepas donadas por el Cepario se desarrollaron satisfactoriamente en los medios utilizados, de esta manera se pudo verificar la viabilidad, pureza y la identidad de cada una de ellas, mismas que se comprobaron de acuerdo a las pruebas siguientes:

S. pyogenes ATCC 19615:

En la tabla 4 podemos observar que los resultados experimentales son congruentes con los datos reportados en las referencias, pues de acuerdo con la tinción de Gram se observaron cocos Gram-positivos con agrupación en pares y en cadenas. Así mismo tanto en la figura 13 como en la tabla 4 se puede ver que el microorganismo desarrolló en el medio de Agar Sangre de Carnero donde se pudo observar una zona de aclaramiento debido a la β -hemólisis producida por el desarrollo del microorganismo; también se pudo observar en Agar Sangre de Carnero un halo de inhibición del microorganismo alrededor del disco de bacitracina de 0.04 U, mostrando así sensibilidad a la misma; en la prueba de CAMP se observó desarrollo sin la formación de la punta de flecha al coincidir las hemólisis de *S. aureus* β -lisina y *S. pyogenes* y en la prueba de catalasa no se observó formación de burbujas debido a que no existe una reacción de la peroxidasa.

**Tabla 4.** Pruebas de identificación para *S. pyogenes* ATCC 19615.

Prueba	Resultados experimentales	Resultados teóricos / Fuente
Morfología	Cocos	Cocos / Romero (1993)
Agrupación	Pares y cadenas	Pares y cadenas / Romero (1993)
Gram	(+)	(+) / Romero (1993)
Hemólisis en Agar Sangre de Carnero	(β)	(β) / Garza (2005)
Bacitracina de 0.04 U	(+)	(+) / Garza (2005)
CAMP	(-)	(-) / Garza (2005)
Catalasa	(-)	(-) / Mac Fadin (1991)

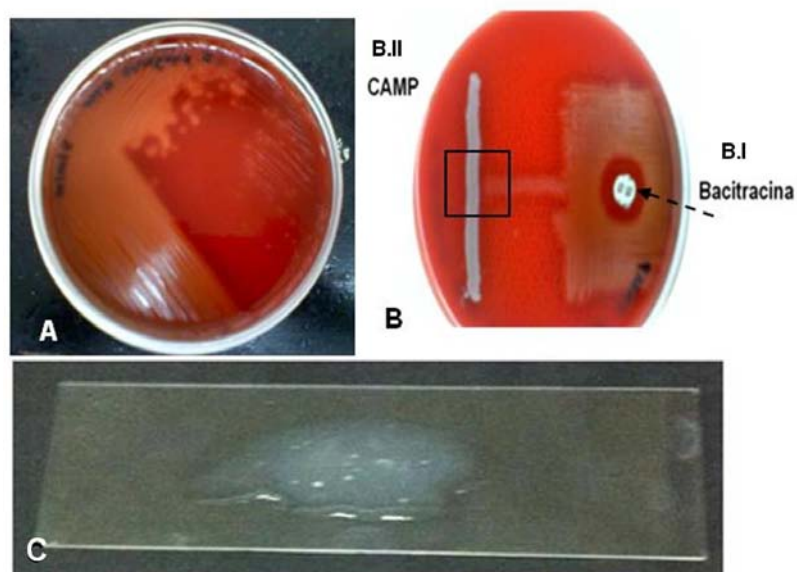


Figura 13. Pruebas bioquímica de identificación para *S. pyogenes* ATCC 19615. A) β -hemólisis en Agar Sangre de Carnero. B.I) Sensibilidad a bacitracina. B.II) Prueba de CAMP negativa contra *S. aureus* β -hemolítico y *S. pyogenes*. C) Prueba de catalasa negativa.

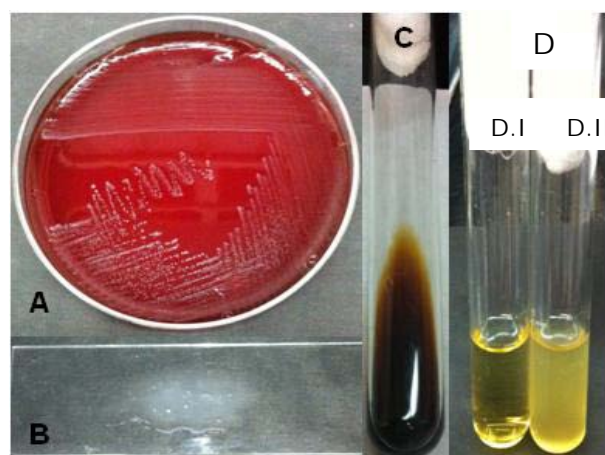
*E. faecalis* ATCC 29212:

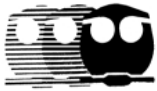
En la tabla 5 se puede ver que los resultados experimentales para este microorganismo fueron satisfactorios al concordar con las referencias consultadas, pues se observaron cocos Gram-positivos solos y en cadenas. Del mismo modo tanto en la figura 14 como en la tabla 5 se puede ver que este microorganismo desarrolló en Agar Sangre de Carnero sin presentar hemólisis; en la prueba de catalasa no hubo formación de burbujas dando así una prueba negativa; en agar Bilis-Esculina se observa el ennegrecimiento difuso en el agar, dándose así una hidrólisis positiva de la esculina y por último se observa la capacidad de este microorganismo para desarrollar en presencia de 6.5 % de NaCl.

Tabla 5. Pruebas de identificación para *E. faecalis* ATCC 29212.

Prueba	Resultados experimentales	Resultados teóricos / Fuente
Morfología	Cocos	Cocos / Quiñones (2013)
Agrupación	Solos y en cadenas	Solos, par o cadenas cortas / Quiñones (2013)
Gram	(+)	(+) / Quiñones (2013)
Desarrollo en Agar Sangre de Carnero	(+), NH	(+), NH / Garza (2005)
Catalasa	(-)	(-) / Quiñones (2013)
Agar Bilis-Esculina	(+)	(+) / Garza (2005)
Desarrollo en caldo BHI + 6.5 % NaCl	(+)	(+) / Garza (2005)

----- NH: no hemolítico

**Figura 14.** Pruebas bioquímica de identificación para *E. faecalis* ATCC 29212. A) Desarrollo en Agar Sangre de Carnero. B) Prueba de catalasa negativa. C) Agar Bilis-Esculina positiva. D) Prueba de desarrollo en caldo BHI + 6.5 % NaCl: D.I) Control negativo de desarrollo y D.II) Desarrollo del microorganismo.



S. aureus ATCC 25923:

En la tabla 6 se puede ver que los resultados experimentales coinciden con lo reportado en las referencias ya que se observaron cocos Gram-positivos con agrupación en racimos, pares y aislados, además del desarrollo del microorganismo en Agar Sangre de Carnero. Por otro lado también se puede ver tanto en la figura 15 como en la tabla 6 que el microorganismo desarrolló en el medio de agar de Sal y Manitol presentándose vire del indicador de rojo a amarillo debido a la fermentación del manitol; en la prueba de DNAsa se pudo observar la formación de un halo alrededor del desarrollo de la estría del microorganismo, dando así una reacción positiva; en la prueba de catalasa se observó una reacción positiva percibida por la formación de burbujas y por último en la prueba de coagulasa se pudo ver la formación de un coágulo parcial, observándose así una reacción positiva.

Tabla 6. Pruebas de identificación para *S. aureus* ATCC 25923.

Prueba	Resultados experimentales	Resultados teóricos / Fuente
Morfología	Cocos	Cocos / Jawetz (1992)
Agrupación	Racimos, pares y aislados	Racimos, pares y aislados / Jawetz (1992), Mac Fadin (1991)
Gram	(+)	(+) / Jawetz (1992)
Desarrollo en Agar Sangre de Carnero	(+)	(+) / Garza (2005)
Agar de Sal y Manitol	(+)	(+) / Garza (2005)
DNAsa	(+)	(+) / Garza (2005)
Catalasa	(+)	(+) / Jawetz (1992)
Coagulasa	(+) parcial	(+) Parcial o total / Mac Fadin (1991)

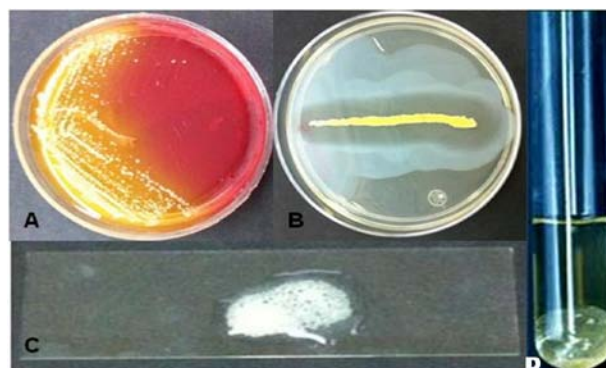
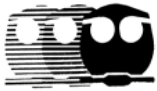


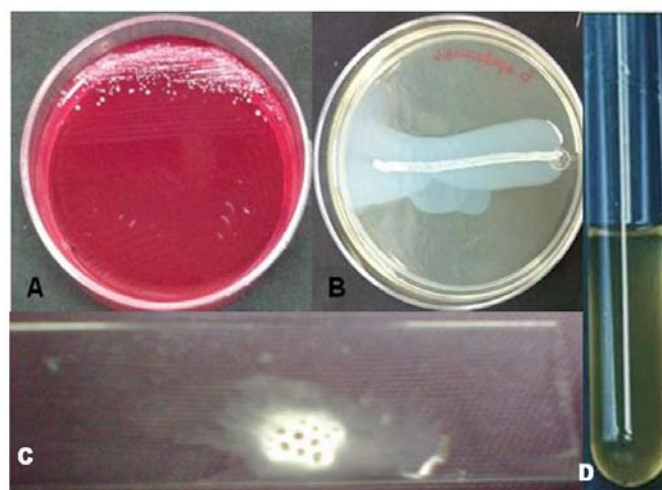
Figura 15. Pruebas bioquímica de identificación para *S. aureus* ATCC 25923. A) Prueba de manitol positivo. B) Prueba de DNAsa positiva. C) Prueba de catalasa positiva. D) Prueba de coagulasa positiva.

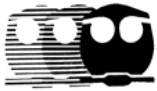
*S. epidermidis* ATCC 12228:

En la tabla 7 se puede ver que los resultados experimentales corresponden con lo reportado en las referencias consultadas al observarse cocos Gram-positivos con agrupación en racimos, pares y aislados, además del desarrollo del microorganismo en agar Sangre de Carnero. Del mismo modo en la tabla 7 y figura 16 se puede ver que en el medio de Agar de Sal y Manitol no hubo vire del indicador debido a que no existe la fermentación del manitol; en la prueba de DNAsa no se observó halo de inhibición alrededor de la estría de *S. epidermidis* por lo que la prueba fue negativa; la prueba de catalasa fue positiva observándose la formación de burbujas y por último en la prueba de coagulasa no hubo formación de coágulo, por lo que la prueba fue negativa.

Tabla 7. Pruebas de identificación para *S. epidermidis* ATCC 12228.

Prueba	Resultados experimentales	Resultados teóricos / Fuente
Morfología	Cocos	Cocos / Jawetz (1992)
Agrupación	Racimos, pares y aislados	Racimos, pares y aislados / Jawetz 1992, Mac Fadin (1991)
Gram	(+)	(+) Jawetz (1992)
Desarrollo en Agar Sangre de Carnero	(+)	(+) / Garza (2005)
Agar de Sal y Manitol	(-)	(-) / Garza (2005)
DNAsa	(-)	(-) / Garza (2005)
Catalasa	(+)	(+) / Jawetz (1992)
Coagulasa	(-)	(-) / Garza (2005)

**Figura 16.** Pruebas bioquímica de identificación para *S. epidermidis* ATCC 12228. A) Prueba de manitol negativa. B) Prueba de DNAsa negativa. C) Prueba de catalasa positiva. D) Prueba de coagulasa negativa.

*B. subtilis* ATCC 6633:

En la tabla 8 y figura 17 se puede observar que los resultados experimentales son congruentes con lo reportado en las referencias consultadas, pues se pudo observar el desarrollo del microorganismo en condiciones aerobias en agar BHI, de acuerdo con la tinción de Gram se observaron bacilos Gram-positivos con extremos cuadrados, con agrupación en pares y en cadenas cortas y largas; y a las 72 horas se pudieron observar esporas ovoides.

Tabla 8. Pruebas de identificación para *B. subtilis* ATCC 6633.

Prueba	Resultados experimentales	Resultados teóricos / Fuente
Morfología	Bacilos con extremos cuadrados y esporas ovoides	Bacilos con extremos cuadrados y esporas ovoides / Garza (2005), Lennette (1985)
Agrupación	En pares y en cadenas cortas y largas	En pares y en cadenas cortas y largas / Garza (2005), Lennette (1985)
Gram	(+)	Variable / Garza (2005)

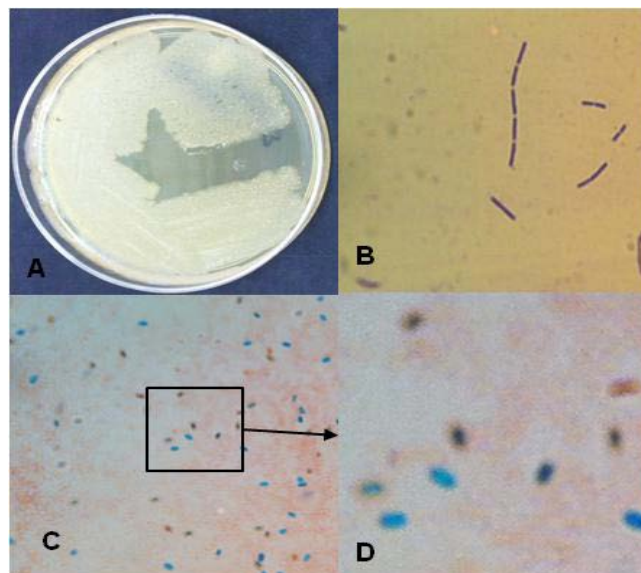
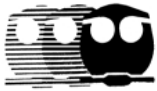


Figura 17. Pruebas de identificación para *B. subtilis* ATCC 6633. A) Desarrollo en Agar BHI. B) Tinción de Gram. C) y D) Tinción de esporas.

*P. aeruginosa* ATCC 27853:

En la tabla 9 se puede observar que los resultados experimentales coinciden con lo reportado en las referencias consultadas, pues se observaron bacilos cortos y rectos con extremos redondeados, Gram-negativos, solos y en pares. De la misma manera tanto en la tabla 9 como en la figura 18 se puede ver el desarrollo del microorganismo en agar Mac Conkey sin fermentación de la lactosa; el desarrollo en agar Cetrimida que presenta una coloración verde debido a la producción de pioverdina; la prueba de oxidasa positiva; el agar Kligler se ve rojo debido a que el microorganismo no fermenta ni lactosa ni glucosa, además la bacteria no produce sulfhídrico ni gas; el medio de Citrato de Simmons se ve de color azul dando así una reacción positiva; en el medio SIM se observa movilidad hacia la superficie y el sulfhídrico y el indol son negativos; el medio de urea no presentó vire del indicador; en el medio Rojo de Metilo Voges-Proskauer se observa reacción negativa tanto al rojo de metilo como al Voges-Proskauer y por último en el medio O/F de glucosa se observa reacción positiva a oxidación (vire a amarillo) en el tubo sin aceite mineral y negativa a fermentación (verde, sin vire) en el tubo con aceite mineral.

Tabla 9. Pruebas de identificación para *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Prueba	Resultados experimentales	Resultados teóricos / Fuente
Morfología	Bacilos cortos y rectos con extremos redondeados	Bacilos cortos y rectos con extremos redondeados / Mac Fadin (1991), Lennette (1985)
Agrupación	Solos y pares	Solos, en parejas y ocasionalmente en cadenas cortas / Garza (2005)
Gram	(-)	(-) / Romero / (1993)
Mac Conkey	Lac (-)	Lac (-) / DIBICO (2013)
Desarrollo en cetrimida	(+)	(+) / DIBICO (2013)
Oxidasa	(+)	(+) / Jawetz (1992)
Agar Kligler	Lac (-), Glu (-), H ₂ S (-), Gas (-)	Lac (-), Glu (-), H ₂ S (-), Gas (-) / Garza (2005)
Citrato de Simmons	(+)	(+) / Garza (2005)
Medio SIM	H ₂ S (-), indol (-), movilidad (+)	H ₂ S (-), indol (-), movilidad (+) / Garza (2005)
Ureasa	(-)	(variable) / Lennette (1985)
RMVP	RM (-), VP (-)	RM (-), VP (-) / Garza (2005)
O/F de Glucosa	(+/-)	(+/-) / DIBICO (2013)

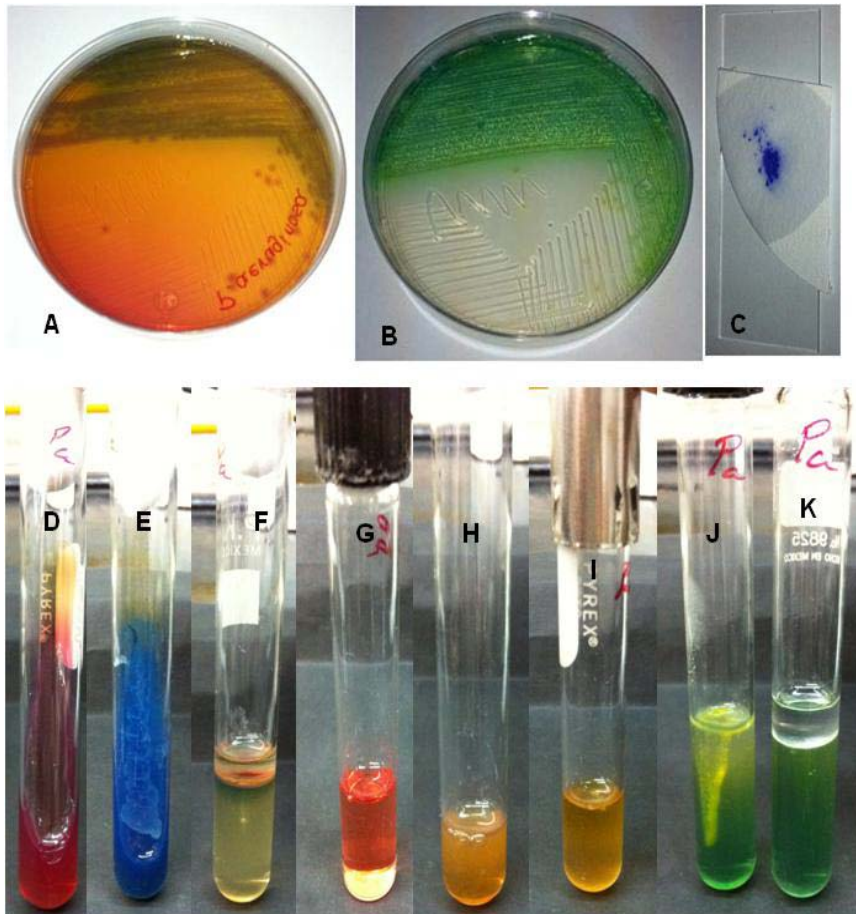
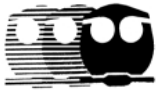


Figura 18. Pruebas bioquímica de identificación para *P. aeruginosa* ATCC 27853. A) Desarrollo en agar Mac Conkey: Lac (-). B) Desarrollo en agar cetrimida. C) Prueba de oxidasa positiva. D) Agar Kligler: Lac (-), Glu (-), H₂S (-) y Gas (-). E) Prueba de citrato de Simmons positiva. F) Medio SIM: H₂S (-), indol (-), movilidad (+). G) Prueba de ureasa negativa. H) Medio RMVP: RM (-). I) Medio RMVP: VP (-). J y K) medio O/F de glucosa (+/-).

*E. coli* ATCC 25922:

En la tabla 10 se puede ver que los resultados experimentales son congruentes con lo reportado en las fuentes consultadas pues se pudieron observar bacilos cortos y rectos con extremos redondeados, Gram-negativos, solos y en pares. Por otro lado tanto en la tabla 10 como en la figura 19 se pudo observar el desarrollo del microorganismo en agar Mac Conkey, donde el medio se encuentra virado a color rosa debido a la fermentación de la lactosa; el agar Kligler se ve amarillo debido a la fermentación tanto de la lactosa como de la glucosa, además la bacteria no produce sulfhídrico, pero sí produce gas; en el medio de Citrato de Simmons se observa que no hay desarrollo del microorganismo ni vire de color en el medio; en el medio SIM se observa la producción del indol, la movilidad y no hay producción de sulfhídrico; el medio de urea no presentó vire del indicador; en el medio Rojo de Metilo Voges-Proskauer se observa reacción positiva al rojo de metilo y negativa al Voges-Proskauer y por último en la tabla 10 se puede ver que en el medio O/F de glucosa el microorganismo presenta reacción positiva tanto a la oxidación como a la fermentación.

Tabla 10. Pruebas de identificación para *E. coli* ATCC 25922.

Prueba	Resultados experimentales	Resultados teóricos / Fuente
Morfología	Bacilos cortos y rectos con extremos redondeados	Bacilos cortos y rectos con extremos redondeados / Garza (2005), Lennette (1985)
Agrupación	Solos y pares	Solos y en pares / Garza (2005)
Gram	(-)	(-) / Garza (2005)
Mac Conkey	Lac (+)	Lac (+) / DIBICO (2013)
Agar Kligler	Lac (+), Glu (+), H ₂ S (-), Gas (+)	Lac (+), Glu (+), H ₂ S (-), Gas (+) / Garza (2005)
Citrato de Simmons	(-)	(-) / Garza (2005)
Medio SIM	H ₂ S (-), indol (+), movilidad (+)	H ₂ S (-), indol (+), movilidad (+) / Garza (2005)
Ureasa	(-)	(-) / Garza (2005)
RMVP	RM (+), VP (-)	RM (+), VP (-) / Garza (2005)
O/F de Glucosa	(+ / +)	(+ / +) / DIBICO (2013)

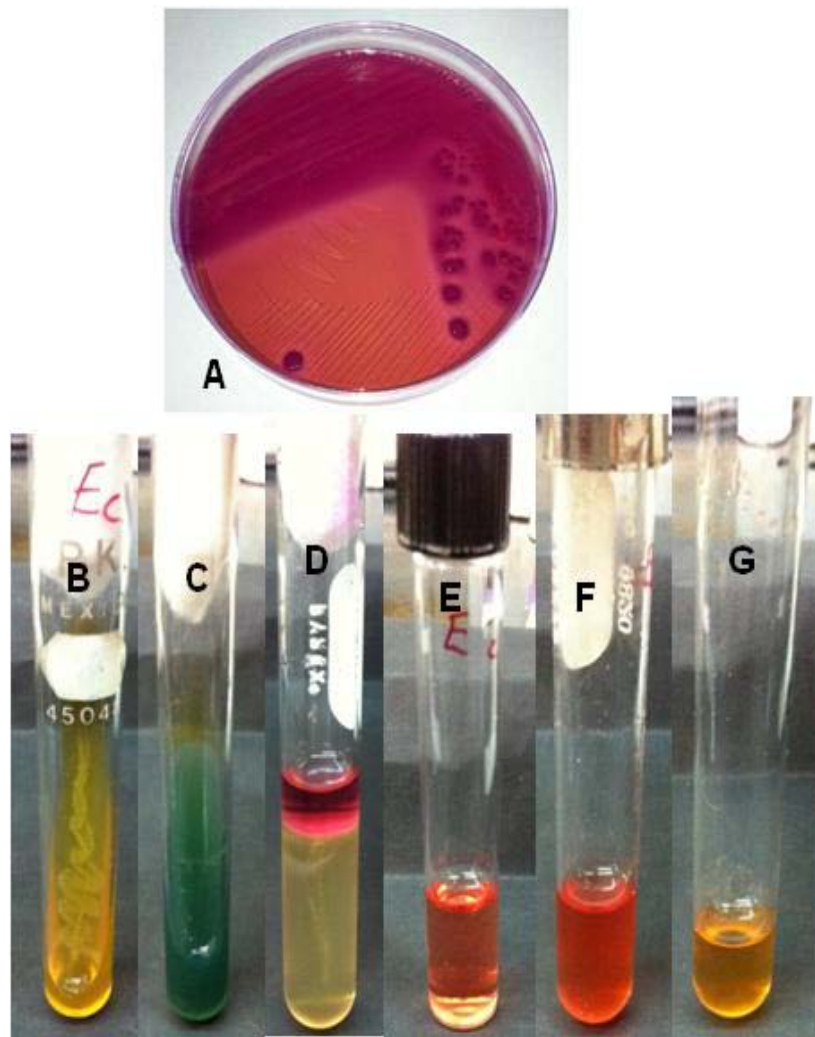


Figura 19. Pruebas bioquímica de identificación para *E. coli* ATCC 25922. A) Desarrollo en Agar MacConkey: Lac (+). B) Agar Kligler: Lac (+), Glu (+), H₂S (-), Gas (+). C) Medio de citrato de Simmons (-). D) Medio SIM: H₂S (-), indol (+), movilidad (+). E) Prueba de ureasa negativa. F) Medio RMVP: RM (+) y G) Medio RMVP: VP (-).



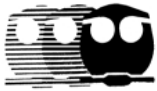
B. Obtención del extracto etanólico y prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración

La obtención del extracto etanólico fue satisfactoria, ya que a partir de 100 g de planta seca de *Selaginella lepidophylla* se obtuvieron 100 ml del extracto, el cual fue utilizado para la preparación de medios de cultivo usados para la prueba preliminar de inhibición ante las siete cepas tipo. El resultado obtenido fue que se pudo observar un desarrollo parcial en cuatro de las cepas probadas (*S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* y *S. aureus*) (tabla 11 y figuras 20-23), mientras que el resto tuvo desarrollo óptimo comparado con el control de desarrollo de los microorganismos (tabla 11 y figuras 24-26), lo que indica que las primeras cepas presentaron inhibición de su desarrollo, mientras que el resto tuvo un crecimiento favorable.

Nota. Los resultados se presentan en un orden decreciente de inhibición.

Tabla 11. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en placa para las cepas en estudio.

<i>S. pyogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>
Desarrollo parcial	Desarrollo parcial	Desarrollo parcial	Desarrollo parcial	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo



S. pyogenes ATCC 19615:

En la prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración para *S. pyogenes*, se pudo observar que en la placa del control de crecimiento (con agar BHI), la cepa presentó un desarrollo óptimo y que en comparación con este, en la placa del gradiente de concentración con extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en agar BHI, la cepa presentó un desarrollo parcial (figura 20). De esta manera, el extracto etanólico de doradilla mostró actividad inhibitoria para *S. pyogenes*.

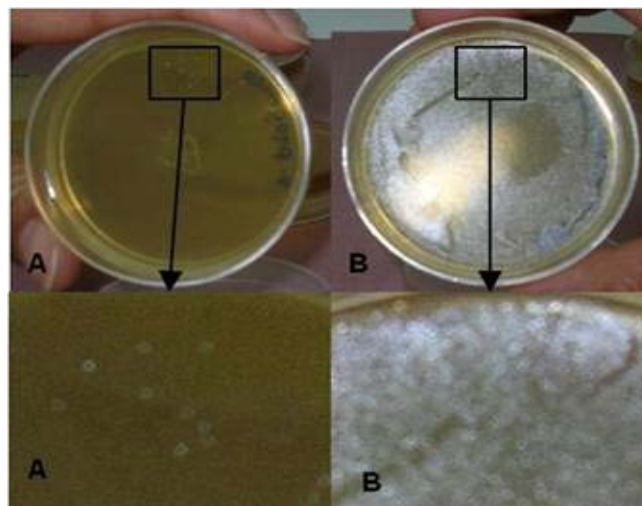
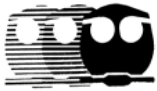


Figura 20. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para *S. pyogenes* ATCC 19615. A) Desarrollo del microorganismo. B) Control de crecimiento del microorganismo.



P. aeruginosa ATCC 27853:

En la prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración para *P. aeruginosa*, se pudo observar que en la placa del control de crecimiento (con agar BHI), la cepa presentó un desarrollo óptimo y que en comparación con este, en la placa del gradiente de concentración con extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en agar BHI, la cepa presentó un desarrollo parcial (figura 21). De esta manera, el extracto etanólico de doradilla mostró actividad inhibitoria para *P. aeruginosa*.

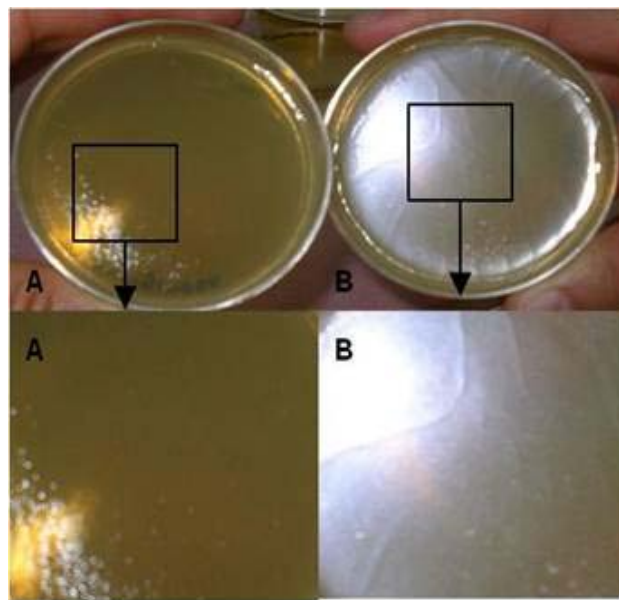


Figura 21. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para *P. aeruginosa* ATCC 27853. A) Desarrollo del microorganismo. B) Control de crecimiento del microorganismo.



B. subtilis ATCC 6633:

En la prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración para *B. subtilis*, se pudo observar que en la placa del control de crecimiento (con agar BHI), la cepa presentó un desarrollo óptimo y que en comparación con este, en la placa del gradiente de concentración con extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en agar BHI, la cepa presentó un desarrollo parcial (figura 22). De esta manera, el extracto etanólico de doradilla mostró actividad inhibitoria para *B. subtilis*.

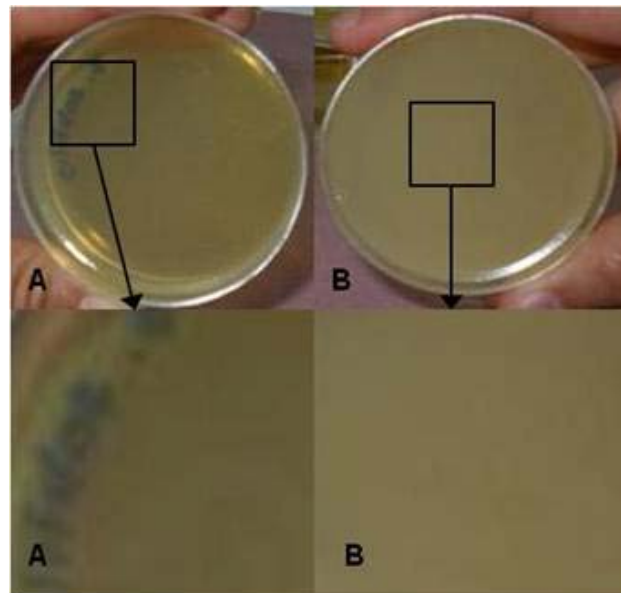
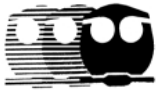


Figura 22. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para *B. subtilis* ATCC 6633. A) Desarrollo del microorganismo. B) Control de crecimiento del microorganismo.



S. aureus ATCC 25923:

En la prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración para *S. aureus*, se pudo observar que en la placa del control de crecimiento (con agar BHI), la cepa presentó un desarrollo óptimo y que en comparación con este, en la placa del gradiente de concentración con extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en agar BHI, la cepa presentó un desarrollo parcial (figura 23). De esta manera, el extracto etanólico de doradilla mostró actividad inhibitoria para *S. aureus*.

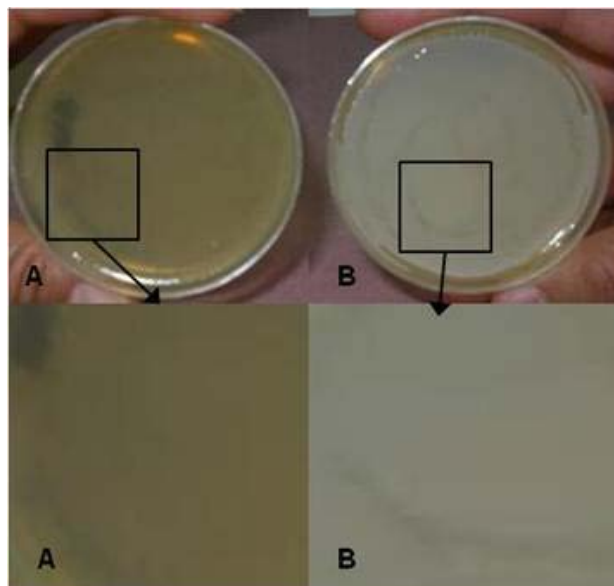


Figura 23. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para *S. aureus* ATCC 25923. A) Desarrollo del microorganismo. B) Control de crecimiento del microorganismo.



S. epidermidis ATCC 12228:

En la prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración para *S. epidermidis*, se pudo observar que tanto en la placa del control de crecimiento (con agar BHI), como en la placa del gradiente de concentración con extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en agar BHI, la cepa presentó un desarrollo óptimo (figura 24). De esta manera, el extracto etanólico de doradilla no mostró actividad inhibitoria para *S. epidermidis*.

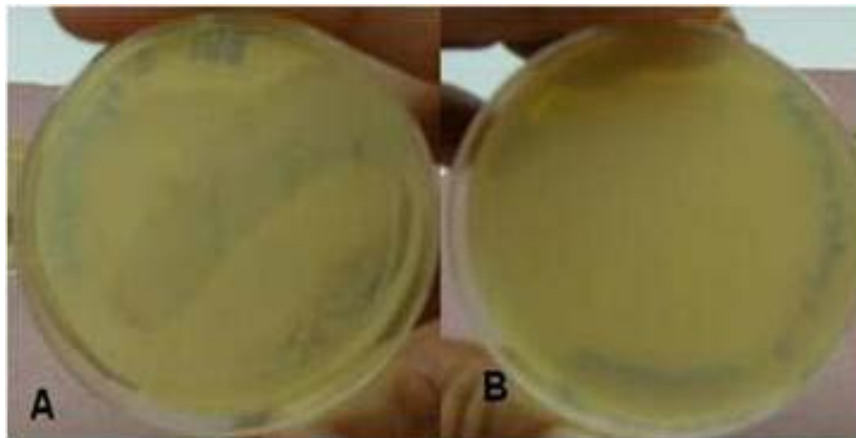


Figura 24. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para *S. epidermidis* ATCC 12228. A) Desarrollo del microorganismo. B) Control de crecimiento del microorganismo.



E. faecalis ATCC 29212:

En la prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración para *E. faecalis*, se pudo observar que tanto en la placa del control de crecimiento (con agar BHI), como en la placa del gradiente de concentración con extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en agar BHI, la cepa presentó un desarrollo óptimo (figura 25). De esta manera, el extracto etanólico de doradilla no mostró actividad inhibitoria para *E. faecalis*.

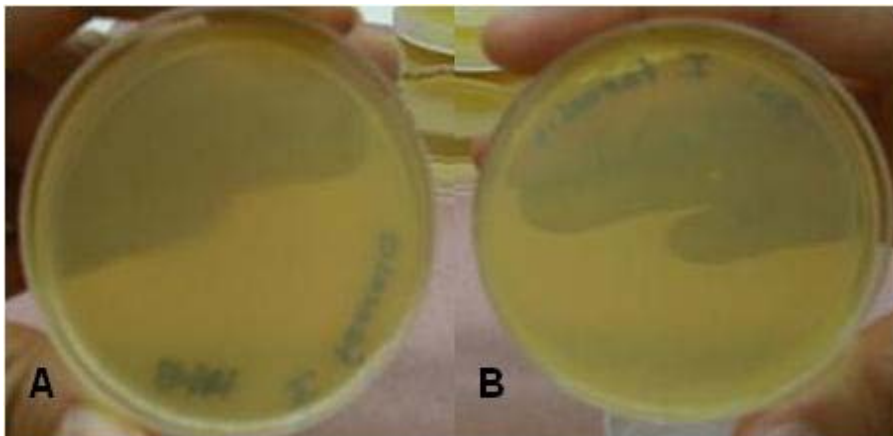


Figura 25. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para *E. faecalis* ATCC 29212. A) Desarrollo del microorganismo. B) Control de crecimiento del microorganismo.



E. coli ATCC 25922:

En la prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración para *E. coli*, se pudo observar que tanto en la placa del control de crecimiento (con agar BHI), como en la placa del gradiente de concentración con extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en agar BHI, la cepa presentó un desarrollo óptimo (figura 26). De esta manera, el extracto etanólico de doradilla no mostró actividad inhibitoria para *E. coli*.

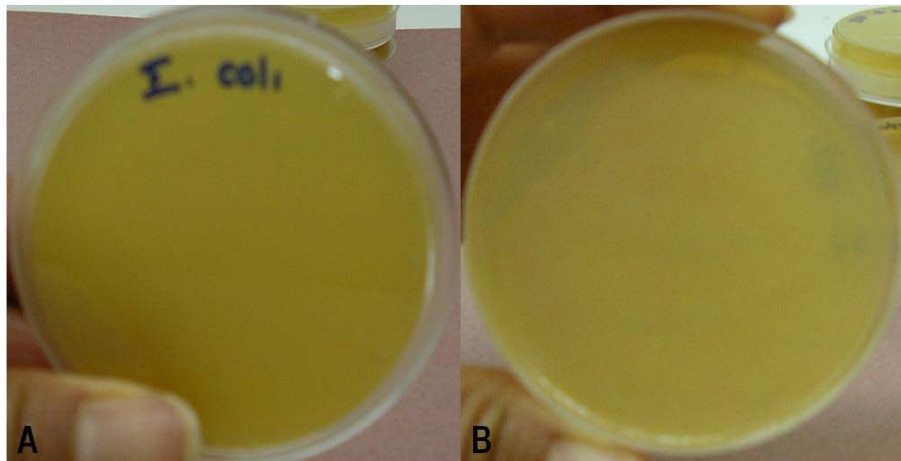


Figura 26. Prueba preliminar de inhibición en gradiente de concentración del extracto etanólico de doradilla para *E. coli* ATCC 25922. A) Desarrollo del microorganismo. B) Control de crecimiento del microorganismo.



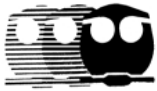
C. Concentración mínima inhibitoria (CMI) para las cepas tipo ante el extracto etanólico de doradilla

Para la prueba de Concentración mínima inhibitoria (CMI) con agar BHI-Extracto etanólico, en la tabla 12 se puede observar que en el caso del extracto etanólico concentrado no hubo desarrollo de ninguna de las siete cepas tipo probadas, sin embargo, con las posteriores diluciones se vio que *S. pyogenes* ATCC 19615 en la dilución 1:1 no desarrolló y tuvo desarrollo parcial hasta la dilución 1:4, mientras que el resto de las cepas tuvieron desarrollo parcial en la dilución 1:1. En las siguientes diluciones la mayoría de las cepas se mostraron con desarrollo, no obstante, *P. aeruginosa* ATCC 27853 presentó desarrollo parcial en la dilución 1:2.

Tabla 12. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en placa para las cepas en estudio.

Conc. Cepa	Extracto concentrado	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5
<i>S. pyogenes</i>	Desarrollo nulo	Desarrollo nulo	Desarrollo parcial	Desarrollo parcial	Desarrollo parcial	Desarrollo
<i>P. aeruginosa</i>	Desarrollo nulo	Desarrollo parcial	Desarrollo parcial	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo
<i>B. subtilis</i>	Desarrollo nulo	Desarrollo parcial	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo
<i>S. aureus</i>	Desarrollo nulo	Desarrollo parcial	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo
<i>S. epidermidis</i>	Desarrollo nulo	Desarrollo parcial	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo
<i>E. faecalis</i>	Desarrollo nulo	Desarrollo parcial	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo
<i>E. coli</i>	Desarrollo nulo	Desarrollo parcial	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo	Desarrollo

Las placas se observaron a las 24 y 48 h, permaneciendo estas sin cambio alguno y observándose así para fines de este trabajo un efecto bactericida del extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* (resultados no mostrados), a reserva de corroborar los resultados con estudios posteriores.



S. pyogenes ATCC 19615:

En la figura 27 y en la tabla 12 se puede observar que para el caso del agar BHI-Extracto etanólico concentrado inoculado, no existe desarrollo del microorganismo, mostrándose de esta manera inhibición en el desarrollo del mismo. Así mismo se puede observar que en la dilución 1:1 también hubo inhibición de la cepa, pues tampoco se presenta desarrollo de la misma y que para el caso de la dilución 1:2, en comparación con los controles de crecimiento de *S. pyogenes*, se presenta un desarrollo parcial de este.

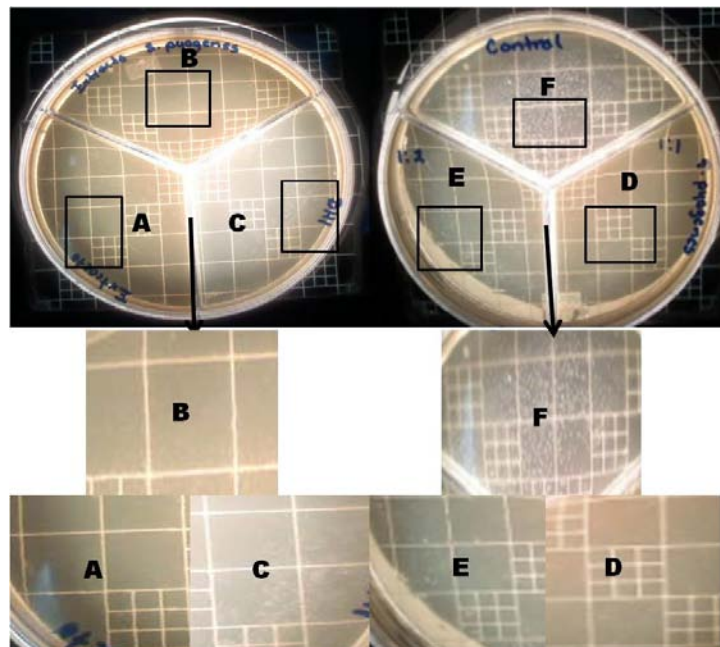
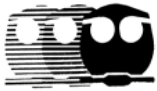


Figura 27. Prueba de Concentración mínima inhibitoria para *S. pyogenes* ATCC 19615 ante el extracto etanólico de doradilla. A) Control de agar BHI-Extracto etanólico concentrado. B) Agar BHI-Extracto etanólico concentrado con la cepa. C) y F) Control de crecimiento de la cepa en agar BHI. D) Agar BHI-Extracto etanólico dilución 1:1 con la cepa. E) Agar BHI-Extracto etanólico dilución 1:2 con la cepa.

Los resultados de las demás cepas probadas se encuentran en la tabla 12, mismos que se explicaron al inicio de este apartado.



IX. DISCUSIÓN

Como puede observarse en las tablas 4-10 y figuras 13-19, las pruebas de viabilidad, pureza e identidad realizadas a las siete cepas tipo empleadas para este estudio, resultaron satisfactorias y congruentes con los datos reportados en las referencias consultadas, por lo que a continuación se discuten los resultados obtenidos con las pruebas de inhibición realizadas a las cepas ante el extracto etanólico de doradilla (*Selaginella lepidophylla*).

En la tabla 11 y figuras 20-23 se observó que *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* y *S. aureus* presentaron un desarrollo parcial ante la prueba preliminar en gradiente de concentración, mientras que en la tabla 11 y figuras 24-26 las cepas *S. epidermidis*, *E. faecalis* y *E. coli* tuvieron un desarrollo óptimo. Esta prueba ayudó de manera general a visualizar los posibles resultados que se obtendrían al realizar la prueba de Concentración mínima inhibitoria, pues al haber un gradiente de concentración se puede observar que por la parte donde hay mayor concentración del extracto etanólico se ve un desarrollo parcial, mientras que donde se encuentra menos concentrado el extracto etanólico, el desarrollo del microorganismo es óptimo.

Posteriormente, al determinar la Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* en placa (tabla 12), ya se pudo observar de una manera más clara que ningún microorganismo desarrolló con el extracto concentrado y que para *S. pyogenes* en la dilución 1:1 el desarrollo fue nulo (figura 27), mientras que de la 1:2 a la 1:4 el desarrollo fue parcial y finalmente en 1:5 el desarrollo fue óptimo, por lo que podemos decir que para dicho microorganismo la Concentración mínima inhibitoria es 1:1.

Para *P. aeruginosa* en las diluciones 1:1 y 1:2 el desarrollo fue parcial y a partir de la dilución 1:3 y hasta la 1:5 el desarrollo fue óptimo, por lo que no hay Concentración mínima inhibitoria para este caso.

Para el caso de *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* y *E. coli* en la dilución 1:1 el desarrollo fue parcial mientras que a partir de la dilución 1:2 y



hasta la 1:5 el desarrollo resultó óptimo, de ahí que tampoco haya Concentración mínima inhibitoria para este grupo de microorganismos.

Es importante mencionar que son escasos los estudios en donde se reporta actividad bactericida por parte de extractos etanólicos obtenidos de la planta *Selaginella lepidophylla*, sin embargo y pese a esto, con fines comparativos se mencionan algunos estudios para los cuales emplearon algunas cepas en común con el presente trabajo.

De este modo, Argueta *et al.* (1994), refieren un estudio para detectar la actividad antibiótica del extracto etanólico de *Selaginella lepidophylla* sobre *E. faecalis*, *S. aureus*, *B. subtilis* y *E. coli* en donde se observó ausencia de actividad. Sin embargo tanto en el presente como en otros estudios se evidenció la actividad antibiótica de extractos acuosos, etanólicos, metanólicos y fracciones obtenidas a partir de extractos metanólicos y CHCl_3 :MeOH de la planta sobre los mismos microorganismos.

Así, en el presente trabajo se observó actividad inhibitoria con el extracto etanólico concentrado de *Selaginella lepidophylla* contra *E. faecalis*, al igual que Guevara (2008), observó actividad inhibitoria hacia el mismo microorganismo pero con extracto de acetato de etilo (fracción obtenida a partir del extracto CHCl_3 :MeOH).

También en el presente experimento se observó actividad inhibitoria con el extracto etanólico concentrado de la planta sobre *S. aureus*. Del mismo modo Robles (2007), observó actividad inhibitoria para la misma cepa con cloroformo y hexano crudo (fracciones obtenidas a partir del extracto metanólico de *S. lepidophylla*); Pérez *et al.* (1992), con los extractos acuoso y metanólico y Guevara (2008), con el extracto CHCl_3 :MeOH y con las fracciones obtenidas a partir del mismo: extracto n-butanólico, hexánico y acetato de etilo.

Por otro lado, *P. aeruginosa* se vio inhibida con el extracto etanólico concentrado de doradilla, mientras que Guevara (2008), observó inhibición de



la bacteria con acetato de etilo (fracción obtenida a partir del extracto $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$).

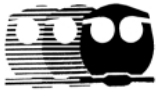
En lo que respecta a *E. coli*, esta mostró inhibición en el presente trabajo con el extracto etanólico concentrado de la planta. Por su parte, Robles (2007), observó lo mismo con cloroformo y diclorometano (fracciones obtenidas a partir del extracto metanólico de *Selaginella lepidophylla*) y Pérez *et al.* (1992), con los extractos acuoso y metanólico.

Cabe mencionar que en la presente investigación, los microorganismos mencionados anteriormente además de *S. pyogenes*, *S. epidermidis* y *B. subtilis*, fueron inhibidos con el extracto etanólico concentrado de doradilla, sin embargo fue evidente que en las posteriores diluciones, *S. pyogenes* fue quien presentó mayor susceptibilidad ante el extracto, seguido de *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis* y *E. coli*.



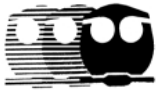
X. CONCLUSIONES

- ❖ El extracto etanólico concentrado de doradilla tiene actividad bactericida ante las siete cepas estudiadas.
- ❖ *S. pyogenes* fue inhibido totalmente hasta la dilución 1:1, mientras que fue inhibido parcialmente hasta la dilución 1:4 del extracto etanólico de doradilla.
- ❖ *P. aeruginosa* presentó desarrollo parcial hasta la dilución 1:2 del extracto etanólico de doradilla.
- ❖ El resto de las cepas presentaron desarrollo parcial hasta la dilución 1:1 del extracto etanólico de doradilla.



XI. PERSPECTIVAS

- ❖ En perspectiva, se espera que el estudio científico de la medicina tradicional encontrada en alimentos y especies vegetales sea incrementado, ya que de esta manera se tendría una garantía de la eficacia, bajo costo y seguridad en su empleo para la prevención y tratamiento de diversos padecimientos.
- ❖ Además las evidencias hasta ahora encontradas en *Selaginella lepidophylla*, podrían impulsar posteriores investigaciones que ayuden a determinar con exactitud los metabolitos responsables del efecto observado y a determinar de manera cuantitativa la concentración del extracto a la cual éste presenta mayor potencial bactericida.
- ❖ Dado que el género *Selaginella* presenta propiedades medicinales, debido a metabolitos secundarios como los flavonoides, sería importante purificar e identificar el carácter químico del extracto etanólico, para posteriormente llevar a cabo el reto microbiano ante las mismas cepas.

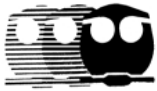


XII. BIBLIOGRAFÍA

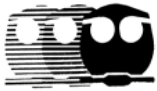
1. Fonnegra G., Ramiro y Jiménez R., Silvia L. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. (2ª ed.). Colombia: Universidad de Antioquia. p. XI, XII.
2. Rost, T.L. (1985). *Botánica: Introducción a la Biología vegetal*. México D.F.: Limusa. p. 335, 338.
3. Nason, A. (1991). *Biología*. México: Limusa. p. 347.
4. Riba, R. y Lira, R. *Flora del valle de Tehuacán-Cuicatlán* [en línea]. (1ª ed.). [México]: UNAM, Junio 1996 [Septiembre 2013]. Fascículo 10. *Pteridophyta sensu, Familias Equisetaceae, Lycopodiaceae, Selaginellaceae*. Disponible en <http://www.ibiologia.unam.mx/BIBLIO68/fulltext/fasiculosfloras/fas10.pdf>
5. Eslava S., F.J., et al. *Micromorfología de las esporas y anatomía de los estróbilos de cinco especies del género Selaginella de los estados de Veracruz e Hidalgo*. [Mayo 2013]. Disponible en: http://www.actamicroscopica.org/uploads/Suplementos/Vol_20_Supp_B_2011_Memorias_CIASSEM_2011/Docs/abstracts/Eslava_Silva_Fj.pdf
6. CONABIO (comp.) 2008. Catálogo de autoridades taxonómicas de las pteridofitas (Pteridophyta) de México. Base de datos SNIB-CONABIO. México. p. 3. Disponible en: http://www.biodiversidad.gob.mx/especies/gran_familia/plantas/helechos/docs/Pteridofitas.pdf
7. Strasburger, E., et al. (1953). *Tratado de Botánica*. (4ª ed.). España, Barcelona: Marin & Cía editores. p. 395.



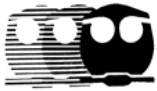
8. Evans S., R. y Raffauf, R.F. (1990). *The Healing Forest: Medicinal and Toxic Plants of the Northwest Amazonia*. Portland, Oregon: Dioscorides Press. p. 415.
9. Setyawan, A.D. (2011). Natural products from Genus *Selaginella* (Selaginellaceae). [en línea]. Nusantara Bioscience, núm. 1, Vol. 3. [Mayo 2013]. Disponible en <http://core.kmi.open.ac.uk/display/1138474>
10. Estrada R., R.; Ubaldo S., Denisse y Araujo E., A.G. (2012). *Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central* [en línea]. Salud Mental, núm. 35 [Mayo 2013]. Disponible en:
<http://www.inprf-cd.org.mx/pdf/sm3505/sm3505375.pdf>
11. Martínez F., S. et al. (2002). *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes*. [en línea]. Nutrición Hospitalaria, núm. 6 [Mayo 2013]. Disponible en
http://www.recursosdeenologia.com/docs/2002/2002_los_flavonoides_propiedades_y_acciones_antioxidantes.pdf
12. Escamilla J., C.I.; Cuevas M., E.Y. y Guevara F., J. (2009). *Flavonoides y sus acciones antioxidantes* [en línea]. Medigraphic, Artemisa en línea, núm. 2, vol.52. [Mayo 2013]. Disponible en <http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no52-2/RFM052000207.pdf>
13. Martínez M., A. (2005). *Flavonoides* [en línea]. [Mayo 2013]. Disponible en <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001>
14. Cruz R., R.I.; Ayora T., T.R. y Meza G., R. *Evaluación bactericida de polifenoles presentes en plantas de palma de coyol (Acrocomia aculeata)*. [Mayo 2013]. Disponible en:
http://biomedbiotec.encb.ipn.mx/congreso2010/Trabajos/Prod_naturales/MED330TEN20091229.pdf



15. Lee, J. et al. (2009). *Antibacterial and Synergistic Activity of Isocryptomerin Isolated from Selaginella tamariscina*. [en línea]. Journal of Microbiology and Biotechnology. [Mayo 2013]. Disponible en <http://jmb.or.kr/journal/download.php?Filedir=../submission/Journal/019/&num=3218>
16. Cuéllar C., A y Rojas H., N.M. (2011). *Potencialidades antimicrobianas de la Gossypitrina aislada de las flores de Talipariti elatum S.W y evaluación de algunos parámetros farmacognósticos de las flores*. [en línea]. Rev. Colombiana cienc. Anim., núm. 3 [Mayo 2013]. Disponible en http://www.recia.edu.co/documentos-recia/vol3num1/originales/REC_03_01_ORIG_09_Talipariti%20elatum_Cuba.pdf
17. Tolosa, L. y Cañizares, E. (2002) *Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche*. [en línea]. Ars Pharmaceutica, núm. 43. Disponible en <http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/233.pdf>
18. Argueta, A.; Cano, L.M. y Rodarte, M.E. (1994). *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana I*. México: Instituto Nacional Indigenista. p. 575.
19. Vargas, M. et al. *Estudio del estrés abiótico de la planta de "resurrección" Selaginella lepidophylla*. 2009 [Mayo 2013]. Disponible en <http://www.marymount.edu.mx/ciencias/Estudio%20del%20estres.pdf>
20. Mendiola, L. *La Vida en la Tierra* [en línea]. [Mayo 2013]. *Selaginella*. Disponible en: http://www.cienciorama.ccadet.unam.mx/articulos_extensos/164_extenso.pdf
21. Base de datos de Integrated Taxonomic Information System (ITIS). [Última actualización 23 de abril de 2013]. [Septiembre 2013]. Disponible en <http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt>



22. Martínez, M. (1979). Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. México: Fondo de Cultura Económica. p. 317.
23. SEMARNAT. Manual que establece los Criterios Técnicos para el Aprovechamiento Sustentable de Recursos Forestales no Maderables de Clima Templado-Frío. [Mayo 2013]. Disponible en http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Manual_Climate_Templado.pdf
24. Boronda, M. E. *et al.* (1994). *Flora Medicinal Indígena de México*. México: Instituto Nacional Indigenista. p. 113, 794.
25. Vázquez, M.A.; Meléndez M.E. y Arreguín, M.L. (2005). *Estudio etnobotánico de Selaginella lepidophylla (Hook. Et Grev.) Spring (Selaginellaceae-pteridophyta) en San José Xicohténcatl municipio de Huamantla, Tlaxcala, México*. Polibotánica. Instituto Politécnico Nacional, núm. 19. [Mayo 2013]. Disponible en <http://www.herbario.encb.ipn.mx/pb/pdf/pb19/sela.pdf>
26. Evans S., R. y Raffauf, R.F. (1993). *Sundry notes on medicinal or toxic plants of the Northwest Amazon*, núm. 4. [Septiembre 2013]. Disponible en http://www.wlbcenter.org/Schultes%20Publications/HarvPapBot_4_31-42.pdf
27. Guevara R.M. (2008), *Caracterización química y biológica de biflavonoides de Selaginella lepidophylla Spring*. Tesis de licenciatura (Química Farmacéutica-Bióloga), Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.
28. Menchaca Márquez C. (2009), *Aislamiento e identificación estructural de biflavonoides adicionales contenidos en la planta medicinal Selaginella lepidophylla Spring (Selaginellaceae)*, Tesis de licenciatura (Químico-Farmacéutico-Biólogo), Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.



29. Farmacopea de los Estados Unidos de América. (2006). Canadá: Webcom Limited.
30. Equipos y laboratorio de Colombia. Consultado en Mayo de 2013. Disponible en http://www.equposylaboratorio.com/sitio/contenidos_mo.php?it=3081
31. Manual de instrucciones Rotavapor R-3. Consultado en Mayo de 2013. Disponible en http://www.equipar.com.mx/web2012/wp-content/uploads/2012/info_man/buchi/Manual_Operacion_R-3.pdf
32. Romero C., R. (1993). *Microbiología y parasitología humana*. (1ª ed.). México: Médica Panamericana. p. 220-225, 246, 251, 283.
33. Jawetz, Melnick y Adelberg. (1990). *Microbiología Médica*. (16ª ed.). México: El Manual Moderno. p. 249, 250, 262, 267, 272 y 273.
34. Garza V., R. (2005). *Manual de prácticas de Bacteriología*. Departamento de Biología. Facultad de Química, UNAM. p. 24-34, 75.
35. Quiñones P., D. Enterococos. Capítulo 20. [Diciembre 2013]. Disponible en <http://www.sisman.utm.edu.ec/libros/FACULTAD%20DE%20CIENCIAS%20DE%20LA%20SALUD/CARRERA%20DE%20MEDICINA/03/Salud%20e%20Infeccion%20Parasitol,%20Bacteriol/Llop,%20Valdez-Dapena%20-%20Microbiologia%20y%20Parasitolog%C3%ADa%20m%C3%A9dica%20tomoo%201/microcap20.pdf>
36. Mac Fadin, J.F., (1991). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. México: Médica Panamericana. p. 17-20, 39-58, 94-120, 134-147, 154-166, 190-197.
37. Jawetz, E. (1992). *Microbiología médica*. México: El Manual Moderno. p. 207, 210, 217, 238.



38. Bailey, S. (1989). *Diagnóstico microbiológico*. (7^a ed.). Argentina, Buenos Aires: panamericana. p. 441, 444.
39. INFO COMM: Información de mercado sobre productos básicos. *Té*. UNCTAD. [Mayo 2013]. Disponible en <http://r0.unctad.org/infocomm/espagnol/te/mercado.htm>
40. Universidad Católica de Chile. *Infecciones de vías aéreas. Infecciones respiratorias agudas*. [en línea]. Capítulo 28. [Septiembre 2013]. Disponible en <http://escuela.med.puc.cl/publ/AparatoRespiratorio/28InfeccionesAguda.html>
41. Ramírez V., I. (2005). *Uso de antimicrobianos en infecciones agudas de vías respiratorias altas* [en línea]. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, núm. 3, Vol. 43 [Febrero 2014]. Disponible en http://revistamedica.imss.gob.mx/index.php?option=com_multicategories&view=article&id=1278:uso-de-antimicrobianos-en-infecciones-agudas-de-vias-respiratorias-altas&catid=463:informacion-general&Itemid=644
42. DIBICO. Medios de Cultivo Deshidratados y Preparados para Uso Microbiológico. [Mayo 2013]. Disponible en: <http://www.dibico.com/fichast/1019.pdf>
43. DIBICO. Medios de Cultivo Deshidratados y Preparados para Uso Microbiológico. [Mayo 2013]. Disponible en <http://www.dibico.com/fichast/1029.pdf>
44. DIBICO. Medios de Cultivo Deshidratados y Preparados para Uso Microbiológico. [Mayo 2013]. Disponible en <http://www.dibico.com/fichast/1242.pdf>
45. Robles Z., R.E. (2007). *Evaluación de la Actividad Antibacteriana y Antioxidante de Fracciones Obtenidas del Extracto Metanólico de Selaginella Lepidophylla (Doradilla)*. Universidad de Sonora. [Mayo 2013]. Disponible en



<http://www.salud.gob.mx/unidades/dgeconora/Investigacion/reunionInvestigacion/trabajos.php?trabajo=197>

46. Pérez G., S. *et al.* (1992). *Acción antimicrobiana de la Selaginella lepidophylla*. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, N5, V. 22.

47. Lennette, E. H. (1985). *Manual of Clinical Microbiology* (4^a ed.). Washington: American Society for Microbiology. p. 1095.



XIII. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Acuminado. Órgano o estructura que termina en punta.

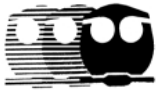
Agente etiológico. Es aquel agente (virus, bacteria, sustancia) que desencadena la aparición de la enfermedad.

Angina de Ludwig. También denominada *Flemón difuso hiper séptico y gangrenoso de piso de boca*, es una infección severa y mortal de origen dental, en la que el pus invade gravemente cara, cuello, vías respiratorias y pulmones.

Angiosperma. Se aplica al grupo de plantas cuyas semillas se encuentran encerradas en un ovario maduro (fruto).

Antiangiogénico. Se refiere a un agente químico o biológico que inhibe o reduce la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes (angiogénesis). Existen muchos inhibidores naturales de la angiogénesis que ayudan a mantener el control de la formación de los vasos sanguíneos, como la angiostatina, la endostatina y la trombospondina, entre otros. Estos agentes son usados a veces para combatir el cáncer al destruir los vasos sanguíneos inmaduros recién formados en el tumor, provocando la depleción de nutrientes y oxígeno a las células tumorales e inhibiendo así el crecimiento del tumor.

Bacteriemia. Es la presencia de bacterias en la sangre. La sangre es normalmente un medio estéril, por lo tanto la detección de bacterias es indicativa de infección. La definición de bacteriemia no requiere un cuadro clínico manifiesto. La bacteriemia continua ocurre cuando existe algún foco bacteriano intravascular, como en caso de endocarditis, fiebre tifoidea, brucelosis, o catéteres intravasculares. En la bacteriemia intermitente las bacterias aparecen y desaparecen del torrente sanguíneo; se da por abscesos no drenados, o en caso de fiebre de origen desconocido. Y la bacteriemia transitoria es una presencia momentánea, producto de heridas menores y manipulación de mucosas.



Bosque tropical caducifolio. También llamado selva baja, es característica de regiones de clima cálido, con una temperatura media anual de 20 a 29 °C, que presenta en relación a su grado de humedad, una estación de secas y otra de lluvias muy marcadas a lo largo del año. En condiciones poco alteradas sus árboles son de hasta 15 m de alto, más frecuentemente entre 8 a 12 m.

Bosque tropical subcaducifolio. También llamado selva mediana. En general se trata de bosques densos que miden entre 15 a 40 m de altura y más o menos cerrados por la manera en que las copas de sus árboles se unen en el dosel. Cuando menos la mitad de sus árboles pierden las hojas en la temporada de sequía. Sus temperaturas son de 0 a 28 °C.

Citomegalovirus (CMV). Es una forma de herpesvirus; en humanos es conocido como Human herpesvirus 5 (HHV-5). Pertenece a la subfamilia *Betaherpesvirinae* de la familia *Herpesviridae*. Su nombre alude al aumento de tamaño que se observa en las células infectadas producto del debilitamiento del citoesqueleto. Este virus es una de las principales causas de la mononucleosis infecciosa (enfermedad del beso).

Criptógama. Vegetal que no produce semillas.

Cuartana. Calentura, casi siempre de origen palúdico, que entra con frío, de cuatro en cuatro días.

Decusada. Disposición en que un par de hojas opuestas crece en sentido perpendicular al par anterior, formando cruces al mirarlos desde arriba.

Detersivo. Que tiene la propiedad de limpiar o purificar.

Dimorfa. Que se presenta en dos formas distintas.

Dispepsia. Se refiere a las molestias y/o dolor localizados en la parte alta del abdomen. Estas molestias pueden presentar mayor o menor frecuencia e



intensidad de síntomas, y acompañarse de náuseas, hinchazón abdominal, acidez, digestión pesada, eructos, regurgitaciones y vómitos.

Eczema. Es la denominación con la que se conoce una erupción de carácter crónico que se da en ciertas personas con una piel sensible. Bajo la denominación de eczema o dermatitis se incluyen todas las lesiones cutáneas que causan picor y son rojas, descamativas exudativas.

Empiema. Es la acumulación de pus en una cavidad orgánica.

Endocarditis. Es una enfermedad que se produce como resultado de la inflamación del endocardio, es decir, un proceso inflamatorio localizado en el revestimiento interno de las cámaras y válvulas (bien sea nativas o protésicas) cardíacas.

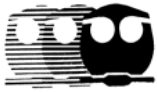
Envés. Cara inferior de la hoja. Se opone al haz.

Epífita. Cualquier planta que crece sobre otro vegetal usándolo solamente como soporte, pero que no lo parasita. Estas plantas son llamadas en ocasiones, “plantas aéreas”, ya que no enraízan sobre el suelo.

Erisipela. Es una enfermedad infectocontagiosa aguda y febril, producida por estreptococos, fundamentalmente *Streptococcus pyogenes* que afecta principalmente la dermis. Se caracteriza por una placa eritematosa roja de extensión variable, de bordes bien definidos y que puede causar dolor y prurito y manifestaciones sintomáticas que incluyen fiebre y linfadenopatías. En general, la infección ocurre en el rostro y son comunes los antecedentes previos de faringitis estreptocócica.

Escumiforme. Que tiene forma de escama.

Esporangio. Estructura de las plantas, hongos o algas en forma de saco que produce y contiene las esporas.



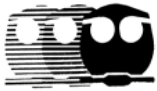
Esporófila. Es una hoja que lleva esporangios.

Estróbilo. Estructura reproductora formada por un cierto número de hojas modificada (esporófila) o de escamas portadoras de óvulos agrupadas terminalmente en un tallo; cono.

Fiebre puerperal. Se denomina sepsis puerperal o fiebre puerperal a un proceso infeccioso septicémico y grave, que afecta a todo el organismo y que desencadena una respuesta inflamatoria general, que puede afectar a las mujeres tras un parto o un aborto, y al recién nacido. Está causado habitualmente por gérmenes como el *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes* o *Escherichia coli* que colonizan e infectan el tracto genitourinario durante la expulsión del feto u ovocito.

Fiebre reumática. Es una enfermedad inflamatoria, no supurativa y recurrente producida por la respuesta del sistema inmunitario de algunas personas predispuestas a los antígenos de la bacteria estreptococo del grupo A beta hemolítico, a partir de las dos o tres semanas de provocar una faringoamigdalitis aguda. La fiebre reumática es una complicación tardía que puede afectar cualquier parte del organismo, siendo el principal órgano afectado el corazón, donde puede afectar al pericardio (pericarditis), al miocardio (miocarditis) o al endocardio (endocarditis). En la fase aguda produce una pancarditis que provoca valvulopatías cardíacas en la fase crónica. Afecta también a la piel (eritema marginado), a las articulaciones (poliartritis migratoria), al cerebro (corea de Sydenham) y al tejido celular subcutáneo (nódulos subcutáneos).

Fitoquímica. Es la ciencia responsable del estudio de los componentes químicos de los vegetales; estudia cada grupo de la planta, desde su estructura química molecular, hasta las propiedades biológicas de los vegetales como los principios activos, los olores, pigmentación, entre otros.



Gametofito. Fase del ciclo vital de una planta en que las células presentan núcleos haploides y en las que tiene lugar la reproducción de las células sexuales o gametos.

Glomerulonefritis aguda. Es una enfermedad del glomérulo (glomerulonefritis), o los pequeños vasos de los riñones y aparece como una complicación común de las infecciones causadas por miembros del género *Streptococcus*, típicamente el impétigo y faringitis estreptocócica.

Haz. Parte superior de la lámina de la hoja. Parte de la hoja que se expone al sol.

Herpes zóster. Es un sarpullido cutáneo causado por una infección viral de los nervios que se encuentran inmediatamente debajo de la piel. El virus que causa el herpes zóster es el mismo que produce la varicela.

Lígula. Apéndice foliar muy especializado, por lo general carnosos y de forma puntiaguda y alargada que se desarrolla en la base de los pecíolos de las hojas de ciertas especies de plantas.

Matorral xerófilo. Comprende las comunidades arbustivas de las zonas áridas y semiáridas de la República mexicana. Con clima seco estepario, desértico y templado con lluvias escasas. Su temperatura media anual varía de 12 a 26 °C.

Meningitis. Es una enfermedad caracterizada por la inflamación de las meninges (membranas de tejido conectivo que cubren todo el sistema nervioso central).

Morbo gálico. Sífilis.

Osteomielitis. Es una inflamación o hinchazón del tejido óseo que suele producirse como resultado de una infección.



Panofalmitis. Es una inflamación generalmente de origen infeccioso que afecta a todas las estructuras del ojo.

Pedicelo. Es la estructura que une a la flor o al fruto con la rama que la sostiene o con otra estructura más compleja. También se le conoce como pedúnculo.

Pioderma estreptocócico. Es una infección localizada y purulenta de la piel que afecta fundamentalmente las zonas expuestas (cara, brazos y piernas).

Piodermatitis. Son todas aquellas enfermedades cutáneas causadas por microorganismos piógenos, siendo los estafilococos y estreptococos los que en su gran mayoría producen estas enfermedades en la piel.

Plantas vasculares. Se denominan también plantas cormofitas y son aquellas plantas que poseen raíz, tallo y hojas. Presentan un sistema vascular para la distribución del agua y los nutrientes que está formado por el xilema o sistema vascular que distribuye la savia bruta hacia las hojas y el floema o sistema vascular que se encarga de la distribución de la savia elaborada hacia el resto de la planta.

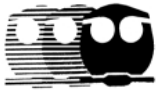
Prótalo. Estructura originada por la germinación de las esporas en los helechos constituida por el gametofito.

Pubescente. Cubierto de pelos finos y suaves.

Roseta. Conjunto de hojas que se disponen muy juntas en el tallo a causa de la brevedad de los entrenudos, a modo de los pétalos de una rosa.

Rupícola. Dicho de una planta que se cría en los peñascos o rocas.

Septicemia. Sepsis o septicemia es la respuesta sistémica del organismo huésped ante una infección, con finalidad eminentemente defensiva.



Tiña. Es una infección de la piel causada por un hongo que puede afectar al cuero cabelludo, la piel, los dedos, las uñas de los pies o los pies.

Tiricia. Padecimiento cuya sintomatología está asociada a estados de inapetencia, desgano y palidez; se presenta por lo común en personas que sufren de tristeza, desilusión y mal humor. En el siglo XVIII, Esteyneffer refiere tres tipos de tiricia, la amarilla, la negra y la verde; justamente la tiricia negra es producto del "humor melancólico".

Uninervada. Con una sola nervadura.

Vahido. Desvanecimiento o mareo momentáneo debido a una indisposición pasajera.



XIV. ANEXO

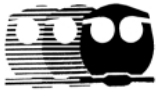
A. Equipo y material de laboratorio

A-1. Material inerte

- ❖ Balanza analítica
- ❖ Autoclave
- ❖ Rotavapor Buchi R-124
- ❖ Micropipeta Gilson 200 µl
- ❖ Placas Petri estériles desechables 60 X 15 mm
- ❖ Placas Petri estériles desechables 100X15 mm con tres divisiones
- ❖ Cristalería y demás material inerte necesario, encontrado en el Cepario de la Facultad de Química, UNAM.

A-2. Medios de cultivo

- ❖ Caldo Infusión de Cerebro y Corazón (BHI, por sus siglas en inglés Brain Heart Infution)
- ❖ Agar Infusión de Cerebro y Corazón (BHI, por sus siglas en inglés Brain Heart Infution)
- ❖ Agar Sangre de Carnero (ASC)
- ❖ Base de Agar Sangre (BSA)
- ❖ Agar de Sal y Manitol (MSA, por sus siglas en inglés Mannitol Salt Agar)
- ❖ Agar de Mac Conkey
- ❖ Agar para prueba de DNAsa
- ❖ Base de Agar Cetrimida
- ❖ Agar Bilis Esculina (BEA, por sus siglas en inglés Bile Esculin Agar)
- ❖ Agar Citrato de Simmons
- ❖ Medio Sulfhídrico Indol Movilidad (SIM)
- ❖ Agar de Hierro de Kligler (KIA por sus siglas en inglés Kligler Iron Agar)
- ❖ Medio Rojo de Metilo Voges-Proskauer (MRVP, por sus siglas en inglés Methyl Red Voges Proskauer)



- ❖ Medio Oxidación/Fermentación con Glucosa de Hugh y Leifson (O/F de glucosa)

**B. Curva de Mc Farland (47)**

Número de tubo	Contenido (ml)		Correspondencia de la suspensión bacteriana por ml ($\times 10^8$)
	Cloruro de bario (1%)	Ácido sulfúrico (1%)	
0.5	0.05	9.95	1.5
1	0.1	9.9	3
2	0.2	9.8	6
3	0.3	9.7	9
4	0.4	9.6	12
5	0.5	9.5	15
6	0.6	9.4	18
7	0.7	9.3	21
8	0.8	9.2	24
9	0.9	9.1	27
10	1.0	9	30