

SEP

DGEST

DITD

DITD



**INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR
DE ATLIXCO**

Organismo Público Descentralizado del Gobierno del Estado de Puebla

**Análisis de extracto acuoso de flor de sospó
(*Pseudobombax ellipticum*) cómo antimicrobiano.**

OPCIÓN I.

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO BIOQUÍMICO

PRESENTA:

Karina Martínez Carmona

DIRECTORAS INTERNAS:

**M.T.A. Guadalupe Gabriela Bárcena Vicuña.
Dra. Johana Ramírez Hernández.**

DIRECTOR EXTERNO:

Dr. José del Carmen Rejón Orantes

ATLIXCO, PUE. JULIO DEL 2021

Agradecimientos

Al Instituto Tecnológico Superior de Atlixco (ITSA), que me brindó la oportunidad de estudiar en él, y así aprender lo que mis profesores me enseñaron con tanta devoción para lograr ser un profesional.

A mis directores del proyecto de tesis Mtra. G. Gabriela Bárcena Vicuña y Dra. Johana Ramírez Hernández por la guía, colaboración y desarrollo del proyecto.

Al Dr. José del Carmen Rejón Orantes, por su colaboración y apoyo externo durante el desarrollo del proyecto.

A la Dra. Ana Lilia Muñoz, por su apoyo, consejos durante el desarrollo del proyecto de tesis.

Dedicatoria

A Dios, ya que es parte fundamental en mi vida; por la gracia, bendición y salud que me otorga.

A mis padres, Leticia y Florencio; pilares esenciales en mi vida, que me han apoyado en todo momento, logrando llevarme por el buen camino, por sus enseñanzas y consejos que son de gran motivación y quienes me han demostrado e inculcado valores y fortalezas necesarias para superar toda clase de obstáculo en esta vida y así lograr mis objetivos.; eh aquí el esfuerzo de ellos.

A mi tía Aurelia, Fernando mi primo y a Uriel, mi hermano; por su apoyo a lo largo de mi formación universitaria, los consejos brindados a lo largo de mi vida los cuales han sido de gran utilidad.

A mis amigos de la carrera de Ingeniería Bioquímica del Instituto Tecnológico Superior de Atlixco (ITSA); Yadira, Ana Laura, Ángeles, Gerson, Ismael, Fernanda, Pedro e Isabel por todos los momentos y aventuras a lo largo de nuestra formación, mucho éxito colegas.

RESUMEN

Las plantas han sido utilizadas para tratar diversas enfermedades. La creciente demanda de medicamentos empleando los principios activos de las plantas medicinales, ha hecho que su estudio sea una de las nuevas alternativas de la ciencia para determinar sus propiedades farmacológicas.

El objetivo de la presente investigación de tesis fue evaluar la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*).

La prueba antimicrobiana para el extracto se realizó mediante el método de Kirby – Bauer, empleando las siguientes cepas: *Escherichia coli* ATCC 11229 y ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, una vez alcanzada la DO (Densidad Óptica) de acuerdo a la cepa en medio de cultivo MacConkey, como control negativo (-) agua, control positivo (+) antibióticos nitrofurantoina para *Escherichia coli* ATCC 11229 y ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC y ceftriaxona para *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Las concentraciones empleadas del extracto acuso de la flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*) fueron de 300 µg / µL, 400 µg / µL, 500 µg / µL, 600 µg / µLy 700 µg / µL.

Una vez llegado el tiempo de incubación (16-18 horas a 37°C) se midió la zona de inhibición para realizar el análisis estadístico, de acuerdo a los datos obtenidos se concluyó que el extracto acuso de flor de sospó en la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 a una concentración de 300 µg / µL se obtuvo un halo promedio de 5.785 mm y en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 en la concentración de 300 µg / µL con halo promedio de de 5.6150 mm, superando al control positivo.

En la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 en y *Escherichia coli* ATCC 11229 no se obtuvieron los resultados esperados ya que el extracto si presentan actividad antimicrobiana pero su comportamiento de inhibición es milímetros menor en comparación al control positivo.

Índice

Introducción	9
Capítulo 1. Planteamiento del problema.....	10
1.1 Antecedentes.....	10
1.2 Justificación.....	13
1.3 Objetivos.....	14
1.3.1 Objetivo general.....	14
1.3.2 Objetivos específicos.....	14
1.4 Hipótesis.....	15
Capítulo 2. Marco teórico	16
2.1 Plantas medicinales.....	16
2.1.2 Historia de las plantas medicinales en México.....	16
2.2 Fitofármacos.....	18
2.3 Principio activo natural.....	19
2.3.1 Método de extracción.....	19
2.3.2 Extractos.....	20
2.4 Antibióticos naturales.....	21
2.4.1 Ventajas de los antibióticos naturales.....	21
2.5 Flor de sospó <i>Pseudobombax ellipticum</i>	21
2.5.1 Taxonomía.....	22
2.5.2 Historia natural.....	22
2.5.3 Descripción.....	22
2.5.4 Nombres comunes.....	23
2.5.5 Distribución.....	24
2.5.6 Usos.....	24
2.6 Bacterias.....	25
2.6.1 Bacterias Gram positivas y Gram negativas.....	26
2.6.1.2 Importancia de su estudio.....	26
2.6.2 Descripción de las bacterias de estudio.....	27
2.6.3 <i>Escherichia coli</i>	27
2.6.3.1 Taxonomía.....	28
2.6.3.2 Morfología.....	28

2.6.3.3 Propiedades bioquímicas.....	29
2.6.3.4 Patogenicidad.....	29
2.6.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31
2.6.4.1 Taxonomía.....	31
2.6.4.2 Morfología.....	32
2.6.4.3 Propiedades bioquímicas.....	32
2.6.4.4 Patogenicidad.....	33
2.6.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	34
2.6.5.1 Taxonomía.....	34
2.6.5.2 Morfología.....	35
2.6.5.3 Propiedades bioquímicas.....	35
2.6.5.4 Patogenicidad.....	35
2.7 Metodo Kirby-Bahuer.....	36
2.7.1 Fundamento teórico.....	36
2.8 Antibióticos.....	37
2.8.1 Nitrofurantoina.....	38
2.8.2 Ceftriaxona.....	39
Capítulo 3. Metodología.....	41
3.1 Materiales, equipos y reactivos.....	41
3.2 Las cepas bacterianas utilizadas.....	41
3.3 Diagrama del proceso.....	42
3.4 proceso experimental.....	43
3.4.1Recolección de la planta.....	43
3.4.2 Preparación del material vegetal.....	43
3.4.3Obtención de extracto.....	43
3.4.4Preparación de las diluciones.....	44
3.4.5 Prueba del extracto.....	44
3.4.5.1 Preparación de inculo.....	44
3.5.2 Inoculación de las placas.....	45
3.5.3. Aplicación de sensidiscos.....	46
Capítulo 4. Resultados y discusión.....	47
4.1Resultados.....	47
4.1.1 Medidas de los halos del efecto antimicrobiano en <i>Escherichia coli</i> ATTC 11229.	47
4.1.2 Medidas de los halos del efecto antimicrobiano en <i>Escherichia coli</i> ATTC 25922.	48

4.1.3 Medidas de los halos del efecto antimicrobiano en <i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 6538.	49
4.1.4 Medidas de los halos del efecto antimicrobiano en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATTC 27853	50
4.2 Discusión de los resultados.	51
Capítulo 5. Conclusiones y recomendaciones	53
Referencias y fuentes bibliográficas.	56
Anexos.....	60

Índice de imágenes

Imagen 2.1 Región sur y sureste de México. Retomado de INFRURAL.....	17
Imagen 2.2 Flor de sospó. Retomada de Chiapas paralelo(2020).....	21
Imagen 2.3 Estructura <i>Escherichia coli</i> . Retomada de National Human Genome Research Institute	25
Imagen 2.4 <i>Escherichia coli</i> . Autoría propia.	28
Imagen 2.5 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .Autoria propia.....	31
Imagen 2.6 <i>Staphylococcus aureus</i> . Autoría propia.....	34
Imagen 2.7 Estructura de Nitrofurantoina. Autor desconocido	38
Imagen 2.8 Estructura de Ceftriaxona. Autor desconocido.....	40
Imagen 3.1 Diagrama de proceso experimental. Autoría propia.....	42
Imagen 3.2 Flor de <i>Pseudobombax ellipticum</i> . Autoría propia.....	43
Imagen 3.3 Cartucho de <i>Pseudobombax ellipticum</i> . Autoría propia	43
Imagen 3.4 Extracto final para diluciones. Autoría propia.	44
Imagen 3.5 Toma de colonias aisladas. Autoría propia	45
Imagen 3.6 Inoculación de cepas bacterianas. Autoría propia.....	45
Imagen 3.7 Colocación de sensidiscos por método Kirby-Bauer. Autoría propia	46

Índice de tablas

Tabla 2.1 Taxonomía de flor de sospó. Retomada de CONABIO(2020).	22
Tabla 2.2 Taxonomía de <i>Escherichia coli</i> . Retomada de ciencias médicas (2020)	28
Tabla 2.3. Propiedades bioquímicas de <i>Escherichia coli</i> . Retomada de Alvares, V. (1995).....	29
Tabla 2.4. Patologías <i>Escherichia coli</i> . Retomado de Diagnóstico Microbiológico(2001).	30
Tabla 2.5 Taxonomía bacteriana de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .retomada de Bonilla, C.(2011).....	31
Tablas 2.6. Propiedades bioquímicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Retomado de Bonila,C. (2011)	32
Tabla 2.7 Taxonomía de <i>Staphylococcus aureus</i> . Retomada de Alvares, V. (1995)	34
Tabla 2.8 Propiedades bioquímicas de <i>Staphylococcus aureus</i> .Retomada de Alvares, V. (1995).35	
Tabla 3.1 Materiales, equipo y reactivos.....	41
Tabla 4.1 Resultados de <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229.	47
Tabla 4.2 Resultados de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	48
Tabla 4.3 Resultados de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	49
Tabla 4.4 Resultados de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	50

Índice de gráficos

Grafica 4.1 Comparación del efecto del extracto y antibiótico en <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229. .48	
Grafica 4.3 Comparación del efecto del extracto y antibiótico <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.50	
Grafica 4.4 Comparación del efecto del extracto y antibiótico <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.51	

Introducción

En México por ser un país diverso en plantas medicinales, las cuales han utilizadas diversas culturas para tratar diversos males y debido a la importancia de estas, es importante que se estudien más a fondo para determinar sus usos y propiedades.

Los microorganismos juegan papeles muy importantes en la salud del ser humano, así como hay microorganismos benéficos para nuestra salud, también estos pueden causar enfermedades cuando necesitan de otro ser vivo para sobrevivir y reproducirse.

Uno de los microorganismos patógenos que en las últimas décadas ha causado más daño a los seres vivos son las bacterias causando infecciones sistémicas. Las enfermedades más comunes provocadas por microorganismos patógenos como las bacterias son: gastroenteritis, infecciones intestinales, mastitis, septicemia, neumonía, cistitis, peritonitis o síndrome hemolítico-urémico por *Escherichia coli*, gangrena y necrosis fulminante por *Staphylococcus aureus*, neumonía o sinusitis, infecciones de las vías urinarias por *Pseudomonas aeruginosa*.

En los últimos años las enfermedades causadas por estos microorganismos se han convertido en una preocupación para la comunidad científica, ya que estas bacterias han adquirido resistencia a un elevado número de antibióticos (Organización Mundial de la Salud [OMS] 2017).

Capítulo 1. Planteamiento del problema.

1.1 Antecedentes.

La literatura vegetal muestra que las plantas poseen importantes propiedades químicas que las constituyen como fitoconstituyentes importantes como naftol, naftaquinona, polisacáridos, antocianinas, lupeol que las hace tener la cualidad de desarrollar diversas actividades antiinflamatorias, hepatoprotectoras anticancerígena, anti-VIH, anti-*Helicobacter pylori*, antiangiogénica, analgésica, antioxidante, hipotensora, hipoglucemiante y antimicrobiana.

Lo cual ayuda a tratamiento al tener efectos de sentido refrescante, estimulante, diurético, afrodisíaco y de efectos tónicos, de igual manera ayuda al tratamiento de la disentería.

Bombax ceiba (Familia: *Bombacaceae*) es un árbol utilizado por varias tribus comunidades y habitantes del bosque para el tratamiento de una variedad de dolencias

La universidad de East West, Dhaka Bangladés que realizó una investigación farmacológica de las raíces de *Bombax ceiba*, en donde evaluaron las actividades antimicrobianas, antioxidantes y efectos citotóxicos del extracto de raíz de diclorometano de *Bombax ceiba*, el concentrado de la raíz en polvo de *Bombax ceiba* se extrajo con diclorometano.

La prueba antimicrobiana se realizó mediante el método de difusión de disco, luego se evaluó el extracto de diclorometano crudo para determinar antimicrobianos, antioxidantes y citotóxicos el cual fue probado como antimicrobiano mediante el método de difusión discal con las siguientes concentraciones 300 µg / disco y 600 µg / disco contra las siguientes bacterias *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aureus* y *Saccharomyces cerevisiae*, en dónde el rango de zona de inhibición fue de 7-10 mm, esto debido a su contenido de alcaloides y taninos presentes en el tallo de la raíz, corteza y hoja de *Bombax ceiba* muestra una actividad prometedora contra varios microorganismos, como la *Salmonella typhi resistente*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Klebsiella aerogenes*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Candida albicans*.

De igual manera el extracto acuoso mostró importante actividad antibacteriana con una zona de inhibición 13-15 mm así como actividad antifúngica y fuertes actividades anti-*Helicobacter pylori*.

La prueba de actividad antioxidante *In vitro* se realizó mediante el método colorimétrico de cloruro de aluminio, en el que se midió la concentración de flavonoides utilizando una curva estándar de quercetina la concentración de flavonoides encontrada fue de 7.847 ± 0.649 mg / L. La citotoxicidad se realizó utilizando camarones de salmuera incubados en el laboratorio. Lo diferente se utilizaron concentraciones de muestra: 400 μ g / mL, 200 μ g / mL, 100 μ g / mL, 50 μ g / mL, 25 μ g / mL, 12.5 μ g / mL, 6.25 μ g / mL, 3.125 μ g / mL, 1.5625 μ g / mL y un blanco con ambos positivos y prueba negativa controlada. El resultado de la prueba demostró un el efecto letal, dando como resultado de la prueba LC50 19.85 ± 0.89418 μ g / mL. (Mir Md Nakir Hossain y Colaboradores 2011).

Un segundo estudio realizado por F. Ruiz-Terán, en la Universidad Autónoma de México desarrolló un proyecto de investigación a partir de diferentes especies de plantas medicinales.

Las plantas son la primera fuente para preparar remedios en una forma de medicina alternativa, denominado medicina tradicional, un suceso muy extendido en México.

Las plantas medicinales poseen varios compuestos, como lo son los antioxidantes; los cuales son de particular importancia porque pueden servir como clientes potenciales para el desarrollo de nuevos fármacos.

Se seleccionaron veintidós especies de plantas medicinales recolectadas en el estado de Morelos para evaluar sus actividades antioxidantes y de eliminación de radicales libres. Los extractos de las partes aéreas de las plantas se obtuvieron utilizando hexano, acetona y metanol.

El cribado cualitativo inicial de antioxidantes se hizo usando dos métodos de TLC contra el DPPH estable (1,1-difenil-2- hidrato de picrilhidrazilo) y ensayo de blanqueo con ácido caroteno linoleico.

Todos los extractos mostraron actividad antioxidante. Sin embargo, fueron los extractos de metanol parecían tener la mayor actividad antioxidante, por lo que fueron analizados con mayor precisión.

Se realizó una segunda prueba con nuevos extractos fueron 9, los que mostraron las más altas actividades depuradoras y antioxidantes, lo que permitió considerar algunas de las plantas estudiadas como una fuente potencial de antioxidantes de origen natural, entre ellas *Pseudobombax ellipticum*. (Ruíz T, Medrano M.,2008)

Debido a la cantidad de antioxidantes presentes se considera evaluar el extracto acuoso de *Pseudobombax ellipticum*, como antimicrobiano.

1.2 Justificación.

Desde su origen, el hombre ha mantenido una estrecha relación con los recursos naturales; de éstos, las plantas han sido para el ser humano uno de los más importantes y utilizados principalmente por su disponibilidad, no sólo para obtener alimento, vestido, utensilios de uso doméstico y material de construcción, sino también para curar y/o aliviar enfermedades y lesiones físicas. A la fecha, se han reportado alrededor de 50.000 especies de plantas que tienen algún uso medicinal, correspondientes aproximadamente a un 10% de todas las que existen en el mundo. Aunque su uso nunca ha dejado de estar vigente, el avance de la ciencia y la tecnología ayudó a que los principios activos contenidos en esas plantas sean sintetizados químicamente, haciéndolos disponibles en las farmacias a precios accesibles y en dosis adecuadas para cada tratamiento. Sin embargo, cada vez es más común la preocupación por los efectos secundarios de los medicamentos químicos y la ineficacia de algunos de ellos para su uso a largo plazo. Es por eso se ha convertido en una alternativa novedosa es el uso de plantas medicinales, ya que han sido usadas por sus propiedades similares a la de los medicamentos farmacéuticos convencionales para curar o disminuir síntomas de diversas enfermedades a lo largo de la historia. (García, 2009)

La familia *Bombacaceae* por su abundancia en diversas partes del mundo ha sido identificada como medicinal por sus muchos efectos benéficos y terapéuticos para el ser humanos y animales.

En la región de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México la flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*) es muy utilizada para curar úlceras, problemas respiratorios y enfermedades ocasionadas principalmente por bacterias como lo son: La tifoidea y enfermedades gastrointestinales.

De Acuerdo con Ruiz-Terán, el uso de *Pseudobombax ellipticum*, está reportado como antimicrobiano, por tal motivo se propone analizar la eficiencia antimicrobiana de dicho extracto en las bacterias *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, para determinar si presenta actividad inhibitor

1.3 Objetivos.

1.3.1 Objetivo general.

Evaluar el efecto del extracto acuoso de flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*) como antimicrobiano.

1.3.2 Objetivos específicos.

- Determinar la concentración mínima inhibitoria.
- Comparar las concentraciones de los extractos con el control positivo.

1.4 Hipótesis.

El extracto acuoso de la flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*), presenta una actividad antimicrobiana en las cepas bacterianas *Escherichia coli* ATCC 11229 y ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Capítulo 2. Marco teórico.

El presente trabajo de tesis se sustenta de un conjunto de conceptos y tecnologías, las cuales respaldan al mismo. Parte de esta información es mostrada en este capítulo con la finalidad de sustentar el desarrollo del Análisis de extracto acuoso de flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*) cómo antimicrobiano. Ofreciéndole una mayor comprensión al lector del tema.

2.1 Plantas medicinales.

Una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal, la cual de acuerdo a su estructura química y composición estructural, pueden dar soluciones curativas para distintas lesiones que afecten al organismo humano, patologías como problemas de digestión, lesiones cutáneas, problemas respiratorios, así como también pueden ser utilizados para resolver los problemas de insomnio e intranquilidad.

Al ser empleadas para propósitos terapéuticos se emplean como materia prima, ya que su producción de metabolitos llamados “principios activos” sirve para la fabricación de fármacos semisintéticos más complejos y tales principios se pueden utilizar como marcadores taxonómicos en donde su utilidad primordial, es servir como droga o medicamento que alivie las enfermedades o restablezca la salud perdida. (Organización Mundial de la Salud [OMS] 1979).

2.1.2 Historia de las plantas medicinales en México.

La historia del hombre está estrechamente ligada con las plantas medicinales y aromáticas. Antes de conocer el fuego y domesticar a los animales, su subsistencia dependía en gran parte de las hierbas, el inicio de la utilización de las plantas medicinales en su mayoría fueron producto de la casualidad.

Nuestros antepasados tenían que buscar nuevos alimentos para su supervivencia y para ello probaban todas las especies botánicas que les ofrecía la tierra que habitaban para comprobar si eran comestibles o no, así pudieron determinar que muchas de ellas si lo eran, algunas les hacía sentir unos efectos especiales, como el que defecaban con más frecuencia, que les aliviaban algún dolor que padecían o cualquier otra sensación de bienestar, pero otras les producían efectos negativos, incluso mortales.

La herencia cultural de los pueblos del sur y sureste de México (Imagen 2.1) se puede apreciar en los códices, en los vestigios arqueológicos (estelas, murales, dinteles, pirámides), o en los restos vegetales, donde la flora medicinal tiene un papel preponderante. Los códices mixtecos y mayas nos hablan de los ritos, la agricultura, la astronomía y la medicina de estas civilizaciones que evolucionaron en un ambiente versátil, el cual fue motivador de diferentes desarrollos culturales, como la domesticación de plantas.



Imagen 2.1 Región sur y sureste de México. Retomado de INFRURAL

La medicina en los antiguos asentamientos humanos de la zona sur y sureste del territorio mexicano estaba relacionada con la magia y la religión, a la vez que se vinculaba con las leyes del cosmos; también se tenía un amplio conocimiento del entorno vegetal y su ciclo biológico. (Díaz, J. 1976).

2.2 Fitofármacos.

Los tratamientos con preparados de plantas medicinales han sido la base de los tratamientos médicos durante cientos de años, suelen considerarse medicina alternativa y el enfoque biológico original en la medicina.

El fitofármaco es un medicamento extraído de una planta medicinal. El término proviene del griego *phytos* planta y *pharmakon* remedio. Aunque el extracto obtenido de una especie vegetal se compone de toda una serie de principios activos, que la caracterizan para determinar su actividad curativa, éste es considerado como un solo fármaco, ya que su efecto radica en la acción combinada de sus componentes. (P, Kohler. 1999)

En los fitomedicamentos se reúne el conocimiento ancestral etnobotánico y etnomédico; a estos aspectos, se les suma el moderno conocimiento farmacológico básico y clínico. De esta forma, se continúa el uso de la planta medicinal, ahora en forma de extracto estandarizado y con el respaldo de toda la tecnología farmacéutica actual.

Los fitofármacos pueden aplicarse al tratamiento de enfermedades muy diversas, incluyendo tanto problemas agudos como crónicos. La elaboración de diversas formas farmacéuticas que pueden abarcar desde la infusión más simple hasta las más sofisticadas cremas, pomadas, geles, etc. Para llegar a ello se requiere un largo proceso con implicación de especialistas de diferentes ramas, pero sin lugar a dudas el punto de partida radica en la identificación y recolección correcta de la especie de estudio. La participación de botánicos o personal debidamente entrenado es esencial ya que no solamente es necesario conocer cada planta sino también se hace imprescindible el dominio de otros elementos que pueden modificar sus propiedades. Así, hay que tener en cuenta los factores que afectan la dinámica de acumulación de los principios activos. (Rodríguez, M.1998)

2.3 Principio activo natural.

Se conoce como principio activo a toda sustancia química responsable de la actividad farmacológica con uso terapéutico, que genera un efecto que puede medirse en el ser vivo y los beneficios aportados por ellos a la salud son múltiples.

Las plantas presentan una amplia gama de sustancias químicas, cuyos principios activos pueden o no ser de utilidad como medicamento y encontrarse en toda su estructura o sólo en algunas secciones, además de que su concentración y calidad dependen de diversos factores como la edad del vegetal, el clima, la época del año, entre otros. Un solo vegetal puede actuar como fitofármaco completo o como principios activos individualizados (Agápito, T. 2005)

Los principios activos se clasifican, según su estructura química, en grupos siendo unos productos resultantes del metabolismo primario (procesos químicos que intervienen en forma directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción): Glúcidos, lípidos, derivados de aminoácidos y otros productos derivados del metabolismo secundario (no son esenciales para el metabolismo, sino que son sintetizadas como defensa, adaptación, entre otros) son los más importantes como principios activos. (Biazzi, E. 2008)

2.3.1 Método de extracción.

Luego de recolectar y secar las plantas medicinales, se tiene que aislar el principio activo de la parte de la planta que tiene efectos terapéuticos. Hay varios métodos de extracción para obtener el mejor aprovechamiento de los principios activos de las plantas medicinales.

El método de extracción empleado depende del tipo de planta a utilizar (caracteres organolépticos), de la concentración de principios activos y de sus propiedades farmacológicas.

1. Extracción Mecánica: permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo.
2. Destilación: permite separar los componentes volátiles de una planta medicinal de aquellos activos que son menos o nada volátiles. En este método se utiliza una fuente de calor, por lo que no es aplicable a principios activos sensibles al calor. El líquido obtenido se compone de dos fases inmiscibles: aceite esencial (por encima, porque su densidad es <1) y la destilación de agua que es el hidrosol.
3. Extracción con gases: proceso selectivo, es relativamente sencillo eliminar el gas extractor, se puede controlar la temperatura y presión que se ejerce en la extracción
4. Extracción con disolventes: consiste en poner contacto la parte de la planta que contiene el principio activo, que es la droga medicinal con un disolvente que es capaz de solubilizar los principios activos. Los principios activos pasan de la droga al disolvente.
5. Nebulizadores o atomizadores: Producen una evaporación instantánea haciendo atomizar el líquido a través de una corriente de aire caliente. Así se obtienen los nebulizados.
6. Liofilizadores: Consiste en enfriar a muy bajas temperaturas, por medio de una potente fuente de vacío el disolvente solidificado por el frío, pasa directamente a vapor, sin pasar por estado líquido. A este proceso se le llama sublimación y así se obtienen los liofilizados. (Clara Valenzuela, 2019).

2.3.2 Extractos.

Los extractos son preparaciones todavía más concentrados que las tinturas. Se basan en el principio de que las sustancias como el agua o el alcohol pueden disolver las sustancias curativas de las plantas, así tenemos que hay extractos hidroalcohólicos y extractos puramente acuosos.

Los extractos hidroalcohólicos tienen la ventaja que se les puede calcular en dosis exactas. Así, 1 mL de extracto fluido representa un gramo de la droga en polvo. (Castillo, E 2007)

2.4 Antibióticos naturales.

Los antibióticos naturales son vegetales o minerales, que podemos encontrar en la naturaleza, que actúan inhibiendo el crecimiento de microorganismos. De esta manera, prevenimos, se controlan o curan diversas enfermedades.

2.4.1 Ventajas de los antibióticos naturales.

1. Por lo general carecen de efectos secundarios.
2. Rara vez causan alergias.
3. Eliminan únicamente microorganismos que son nocivos para el cuerpo
4. Precio barato y fáciles de encontrar. (Castillo, E 2007)

2.5 Flor de sospó *Pseudobombax ellipticum*.

La flor de sospó o *Pseudobombax ellipticum* (Imagen 2.2) es una especie fanerógama en la familia *Malvaceae*, subfamilia *Bombacoideae*. Es un árbol con flores de color rosado y blanco, las cuales se utilizan en la medicina tradicional.



Imagen 2.2 Flor de sospó. Retomada de Chiapas paralelo (2020).

2.5.1 Taxonomía.

La taxonomía de la flor de estudio se muestra a continuación en la Tabla 2.1.

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Dilleniidae</i>
Orden	<i>Malvales</i>
Familia	<i>Malvaceae</i>
Subfamilia	<i>Bombacoideae</i>
Genero	<i>Pseudobombax</i>
Especie	<i>ellipticum</i>

Tabla 2.1 Taxonomía de flor de sospó. Retomada de CONABIO (2020).

2.5.2 Historia natural.

El nombre del género significa “falso *Bombax* L.”, que a su vez se deriva de la palabra griega *bombyx*, que significa “seda”, aludiendo a los tricomas sedosos que rodean las semillas, Su nombre antiguo xiloxochitl, compuesto de xilotl, elote y xochitl, flor. (CONABIO 2019)

2.5.3 Descripción.

Son flores de árboles de los bosques húmedos subtropicales de hasta 30 m de alto, con tronco recto de hasta 1.5 m de diámetro. Corteza gris clara lisa con estrías longitudinales verdes sobre fondo rojizo. Copa globosa y follaje durante algunos meses. Hojas compuestas radiales de hasta 45 cm, con 3 a 6 hojuelas ovaladas de 4.5 x 4 hasta 25 x 15.5 cm. Fruto es una cápsula oblonga o elipsoide de hasta 25

cm de largo. Semillas inmersas en abundante fibra sedosa blanquecina. Flores de color rosado y blanco, de 15 a 30 m de alto y hasta 1,5 m de diámetro. (CONABIO,2019)

La floración regularmente sucede en marzo, aunque en algunos lugares inicia en enero y en otros hasta en junio, esta fase fenológica coincide con la ausencia de las hojas; el periodo de fructificación ocurre de abril a junio (Gispert, Rodríguez y González, 2002; Calderón y Nava, 2004; Orantes-García et al., 2015; Miranda 2015).

2.5.4 Nombres comunes.

Pseudobombax ellipticum tiene cerca de 60 nombres vernáculos, 33 de ellos en lenguas étnicas, en Chiapas es conocido como Amapola, Bote, Carolina, Chospó, Chucté, Coquito, Güigüi, Ococ, Sospó.

En otros estados es conocida como Amapola, Amapola blanca, Amapola colorada, Bailador, Bailarina, Cabellos de ángel, Ceiba, Clavellina, Clavellina roja, Coquito, Coquito blanco, Tambor, Tindusa, Yaco de costa (Calderón y Nava, 2004; Orantes-García et al., 2015; Miranda, 2015; CONABIO, 2016). Los nombres étnicos en diferentes lenguas son en Chontal (Fuibiku), Chinanteco (Liné;, Cocuche, Escobetillo, Escobetilla blanca, Huachilol, Mocoque, Pochote), Huasteco (Mócoc), Maya (Chak-k'uyché, Chack-k' uyché, Chack k'ux, Chak k' uuyche', Che', Chulté, K'uyche, K'uy-che, K' uj che',K' ux'ch'e, K' uuy che', K' ux che', Sak k' ux che´, Sak-k'uyche', X-kunché, Xk' uwal che', Xk' ux che'), Náhuatl (Titilamatl, Xiloxóchitl, Xiloxóchit), Popoloca (Shiushi, Shushpógoc), Popoluca (Chanacol, Chigüiza, Shiushi, Shush-gococ), Totonaco (Xanacol, Támpok); y Zapoteco (Chie-nita) (Calderón y Nava, 2004; Orantes-García et al., 2015; Miranda, 2015; CONABIO, 2016).

2.5.5 Distribución.

Se distribuye desde Norte América (Florida y México) hasta Centro América (Belice, Guatemala, El Salvador, Honduras, Cuba, Haití, República Dominicana y Puerto Rico). En México se encuentra en los estados de Campeche, Chiapas, Colima, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, 7 Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán y Zacatecas. En Chiapas hay registros en los municipios de Cacahoatán, Mapastepec, Ocosingo, Ocozocoautla de Espinosa y Tuxtla Gutiérrez.

Esta especie se localiza desde el nivel del mar hasta altitudes que alcanzan los 1600 msnm desde bosques tropicales caducifolios, subcaducifolios y perenifolios (Orantes-García et al., 2015; Calderón y Nava, 2004; Miranda, 2015; Trópicos, 2016; CONABIO, 2016; Villaseñor, 2016).

2.5.6 Usos.

Esta especie es frecuentemente plantada como árbol ornamental por sus vistosas flores en parques, calles y jardines. La pulpa del fruto inmaduro es comestible y la fibra algodonosa del fruto maduro se usa como el “kapok” de la ceiba, para rellenar almohadas. La madera es utilizada como leña, para fabricar chapas y para centros de madera terciada, tiene buenas cualidades para el torneado, aunque su alto 8 contenido de agua y la presencia de resinas dificultan su secado; además se usa para la fabricación de canoas y boyas. También tiene usos medicinales, las flores, se utilizan para curar enfermedades respiratorias, fiebres, úlceras, dolores en general; la corteza del tallo para “endurecer” las encías (Gispert, Rodríguez y González, 2002; Calderón y Nava, 2004; Orantes-García et al., 2015; Miranda, 2015; CONABIO, 2016)

2.6 Bacterias.

Las bacterias son organismos unicelulares muy pequeños y relativamente sencillos, cuyo material genético no está rodeado por una membrana nuclear especial, por ello se llaman procariontas. (Granados, R. 2003)

Son vitales para los ecosistemas del planeta. Algunas especies pueden vivir en condiciones realmente extremas de temperatura y presión. El cuerpo humano está lleno de bacterias, de hecho, se estima que contiene más bacterias que células humanas. La mayoría de bacterias que se encuentran en el organismo no producen ningún daño, al contrario, algunas son beneficiosas.

Una cantidad relativamente pequeña de especies son las que causan enfermedades. (National Human Genome Research Institute [NHGRI], 2019).

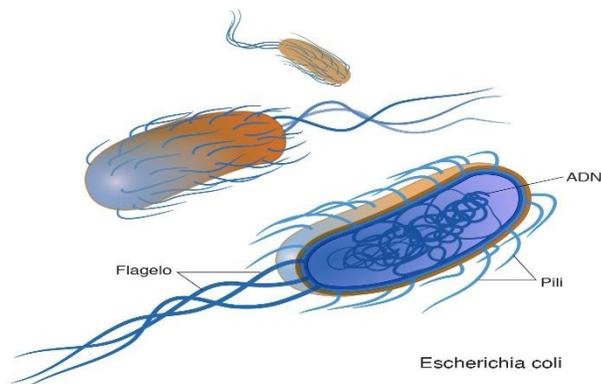


Imagen 2.3 Estructura Escherichia coli. Retomada de National Human Genome Research Institute.

2.6.1 Bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Las bacterias se pueden clasificar considerando cuatro aspectos: tamaño forma, disposición espacial y sus propiedades. Las bacterias cuentan con una pared celular compleja que las rodean, de las cuales existen dos formas, pared celular Grampositiva y Gramnegativa, la primera está formada por una capa gruesa de peptidoglucanos y la segunda por una capa más delgada, al igual que con una membrana externa. Un aspecto de algunas bacterias es que no cuentan con pared celular y ese aspecto lo cubren viviendo en el interior de células del organismo anfitrión. La tinción de Gram es un procedimiento de gran utilidad empleado en los laboratorios donde se manejan pruebas microbiológicas. Es definida como una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram positivas y negativas, fue desarrollada por el científico danés Hans Christian Gram en 1884, hoy en día sigue siendo una de las tinciones más utilizadas universalmente debido a lo económico sencillo y eficaz que resulta. (López, E.2014)

2.6.1.2 Importancia de su estudio.

Actualmente muchos agentes patógenos causantes de infecciones nosocomiales y comunitarias presentan resistencia a los diversos antimicrobianos, por lo que se han convertido en un grave problema en todo el mundo. Los laboratorios de microbiología clínica siempre han realizado pruebas de sensibilidad de los aislamientos bacterianos a los diferentes antimicrobianos, sin embargo, hoy en día su función es mucho más amplia, debe incluir la vigilancia de esta resistencia.

Los microorganismos aislados con mayor frecuencia son *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* En la vigilancia de resistencia es fundamental conocer los patrones de sensibilidad de los patógenos provenientes de la comunidad y de los hospitalarios. En el primer grupo están *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus*

aureus, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Shigella* y *Salmonella*. Y dentro del grupo de bacterias hospitalarias están *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterococcus spp*, *Serratia*, y *Proteus*. Son bacterias que pueden provocar infecciones graves y a menudo letales, como infecciones de la corriente sanguínea y neumonías. (Organización Mundial de la Salud [OMS] 2017).

2.6.2 Descripción de las bacterias de estudio.

En los siguientes subtítulos se describen las características generales de de nuestras cepas de estudio.

2.6.3 *Escherichia coli*.

Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*, coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos, entre ellos diarrea.

Hay descritos seis grupos de *E. coli* productora de diarrea: enterotoxigénica (ETEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y de adherencia difusa (DAEC). (Rodríguez, G. 2002).



Imagen 2.4 *Escherichia coli*. Autoría propia.

2.6.3.1 Taxonomía.

La taxonomía bacteriana de *Escherichia coli* se puede observar en la Tabla 2.2.

Reino	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteo bacteria</i>
Orden	<i>Enterobacteriales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genero	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>E.coli</i>

Tabla 2.2 Taxonomía de *Escherichia coli*. Retomada de ciencias médicas (2020)

2.6.3.2 Morfología.

Son bacilos de 1 a 3 μm por 0.5 μm , sus formas varían desde cocos a pequeños bastoncillos, que se presentan solos, en pares, en cortas cadenas, agrupados, en general móviles por flagelos peritricos, aunque existen variantes móviles no flageladas, no forman esporas; generalmente son no capsulados y Gram negativos. (Granados, R., 2003)

La temperatura óptima de crecimiento de *E. coli* toleran temperaturas hasta de 42 °C. De acuerdo con sus requerimientos de oxígeno son aeróbicas o anaeróbicas facultativas. Los requerimientos de nutrientes en el metabolismo de los miembros

de esta familia no son altamente exigentes y crecen de manera muy similar, cualquiera de sus especies, en la mayoría de los medios que se utilizan, por lo general, en el laboratorio de microbiología clínica diagnóstica, desde un agar nutriente, agar-sangre, agar-sangre-chocolate o caldo nutritivo. (Llop, A, 2001)

2.6.3.3 Propiedades bioquímicas.

Las propiedades bioquímicas de *Escherichia coli* se puede observar en la Tabla 2.3.

Glucosa	Positivo
Gas/ glucosa	Positivo
Lactosa	Positivo
SH ₂	Negativo
Citrato	Negativo
Fenilalanina desaminasa	Negativo
Indol	Positivo
Lisina descarboxilasa	Positivo
Manitol	Positivo
Movilidad	Positivo
Ureasa	Negativo

Tabla 2.3. Propiedades bioquímicas de *Escherichia coli*. Retomada de Alvares, V. (1995)

2.6.3.4 Patogenicidad.

Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales. En conjunto, la importancia de las enterobacterias en patología humana puede cuantificarse constatando que constituyen el 50% aproximadamente de todos los aislamientos clínicamente significativos en los laboratorios microbiológicos, y hasta el 80% de todos los bacilos Gram negativos identificados. (Koneman, E. 2003)

La infección por *E. coli* se transmite generalmente por consumo de agua o alimentos contaminados, como productos cárnicos poco cocidos y leche cruda.

Los síntomas de la enfermedad incluyen cólicos y diarrea, que puede ser sanguinolenta. También pueden aparecer fiebre y vómitos. La mayoría de los pacientes se recuperan en el término de 10 días, aunque en algunos casos la enfermedad puede causar la muerte. (Elmer, W. 2001)

TÉRMINO	FENOTIPO PATÓGENO	PATOLOGÍA
<i>E. coli</i> enterotoxigénica	Elaboración de toxinas secretorias que no dañan el epitelio mucoso	“Diarrea del viajero”. El síntoma predominante es una diarrea acuosa profunda, a menudo acompañada de contracciones abdominales leves. En algunos casos ocurren deshidratación y vómitos
<i>E. coli</i> enteropatógena	Se adhieren a las células epiteliales en microcolonias localizadas y causan lesiones de adhesión y borrado.	Usualmente ocurre en infantes. Se caracteriza por fiebre de bajo grado, malestar, vómitos y diarrea, con una cantidad prominente de moco, pero sin mucha sangre.
<i>E. coli</i> enteroinvasiva	Invaden células epiteliales	Disentería: las características sobresalientes son fiebre y colitis. Síntomas de tenesmo, sangre y moco y muchos leucocitos en materia fecal.
<i>E. coli</i> enterohemorrágica	Elaboración de citotoxinas (SLT)	Diarrea sanguinolenta con leucocitos. A menudo sin fiebre. Es común el dolor abdominal.
<i>E. coli</i> enteroagregativa	Se adhieren a células epiteliales en un patrón que hace recordar una pila de ladrillos	Diarrea acuosa, vómitos, deshidratación y con menor frecuencia dolor abdominal.
<i>E. coli</i> difusamente adherente	Se ha descrito una fimbria superficial que media el fenotipo de adhesión difusa designada como F 1845 y que está mediada por genes que pueden ser cromosomales o estar portados por un plásmido.	Diarrea en niños de 1-5 años. Heces líquidas sin sangre ni leucocitos

Tabla 2.4. Patologías *E.coli*. Retomado de Diagnóstico Microbiológico (2001).

2.6.4 *Pseudomonas aeruginosa*.

Etimológicamente, *Pseudomonas* significa falsa unidad, del griego *pseudo*, que significa falso, y *monas*, que significa unidad simple. El nombre fue usado inicialmente en la historia de la microbiología como sinónimo de gérmenes, *aeruginosa* es el nombre latino para el cardenillo u óxido de cobre. (Blanca E., Bravo R. 1988)

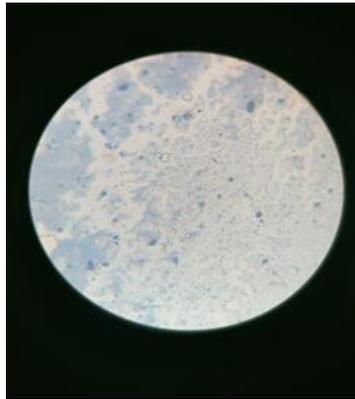


Figura 2.5 *Pseudomonas aeruginosa*. Autoría propia.

2.6.4.1 Taxonomía

La taxonomía de *Pseudomonas aeruginosa* bacteriana de se puede observar en la Tabla 2.5.

Reino	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Gramma proteobacteria</i>
Orden	<i>Pseudomonales</i>
Familia	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genero	<i>Pseudomonas</i>

Tabla 2.5 Taxonomía bacteriana de *Pseudomona aeruginosa*. Retomada de Bonilla, C.(2011)

2.6.4.2 Morfología.

Son bacilos Gram negativos pequeños bastoncillos delgados de 1.5 mm y 3 mm. Están unidos en pares y en cadenas cortas, posee un flagelo polar. Crece 30° a 37°, aerobio estricto y su fuente de energía: Oxidación de azúcares, no fermentadores, (no fermentan la glucosa), son oxidasa-positivos (la oxidación comprende del Transporte por citocromo "C"), es aeróbico, pero facultativamente anaeróbico y la mayoría de las especies producen pigmentos:

Piocianina: azul-oscuro

Pioverdinas: amarillo-verdoso o amarillo parduzco

Piomelanina: marrón-negro. (Jawetz, E.1983)

2.6.4.3 Propiedades bioquímicas.

Las propiedades bioquímicas de *Pseudomonas aeruginosa* bacteriana de se puede observar en la Tabla 2.6.

Piocianina	Positivo
Pioverdina	Positivo
Desarrollo o crecimiento a 42°C	Positivo
O-F glucosa	Oxidativo o inerte
Oxidasa	Positivo
Movilidad	Positivo
Arginina dehidrolasa	Positivo
Hidrólisis de la gelatina	Positivo
Reducción de nitrato (NO ₃)	Positivo
Gluconato	Positivo
Indol	Negativo
Citrato	Positivo
Catalasa	Positiva

Tablas 2.6. Propiedades bioquímicas de *Pseudomonas aeruginosa*. Retomado de Bonila, C. (2011)

2.6.4.4 Patogenicidad.

Este patógeno oportunista de individuos inmunocomprometidos, *P. aeruginosa* infecta los pulmones y las vías respiratorias, las vías urinarias, los tejidos, (heridas), y también causa otras sepsis (infecciones generalizadas en el organismo). *Pseudomonas* puede causar neumonías a grupos, lo que en ocasiones precisa ayuda mecánica para superar dichas neumonías, siendo uno de los microorganismos más frecuentes aislados en muchos estudios. La piocianina es un factor de virulencia de la bacteria y se ha conocido que puede hasta causar muerte en *C. elegans* por estrés oxidativo. Sin embargo, la investigación indica que el ácido salicílico puede inhibir la producción de piocianina. La fibrosis quística está también predispuesta a la infección con *P. aeruginosa* de los pulmones. *P. aeruginosa* es el causante de dermatitis, causada por disminución del control de la calidad del agua de bebida. El más común causante de altas fiebres en infecciones es *P. aeruginosa*. También ha estado involucrado en la fibrosis quística está también predispuesta a la infección con *P. aeruginosa* de los pulmones. *P. aeruginosa* es el causante de dermatitis, causada por disminución del control de la calidad del agua de bebida. El más común causante de altas fiebres en infecciones es *P. aeruginosa*. También ha estado involucrado en foliculitis de tinas de agua caliente, en especial aquellas sin un control higiénico continuo. (Bonilla, C. 2011)

La exudación de pus azulado, con olor a uvas producido por la piocianina, es característica de *P. aeruginosa* también produce infecciones del tracto urinario y del tracto respiratorio inferior; éstas últimas pueden ser graves e incluso amenazantes para la vida de huéspedes inmunocomprometidos. El m.o también produce infecciones oculares devastadoras. La queratitis por *Pseudomonas*, la infección de úlceras de la córnea y la endoftalmitis deben encararse como una emergencia médica que puede ser fulminante y que amenaza con la pérdida permanente de la visión. Con regular frecuencia aparecen en bibliografía casos aislados de endocarditis, meningitis, abscesos cerebrales e infecciones óseas por diseminación hemática. La mayoría de los casos de endocarditis requiere un remplazo valvular debido a que la infección es difícil de erradicar. (Elmer, W. 2001)

2.6.5 *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus, conocido como estafilococo áureo, es una bacteria anaerobia facultativa, grampositiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que unas de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella. (Naranjo, P.1983)

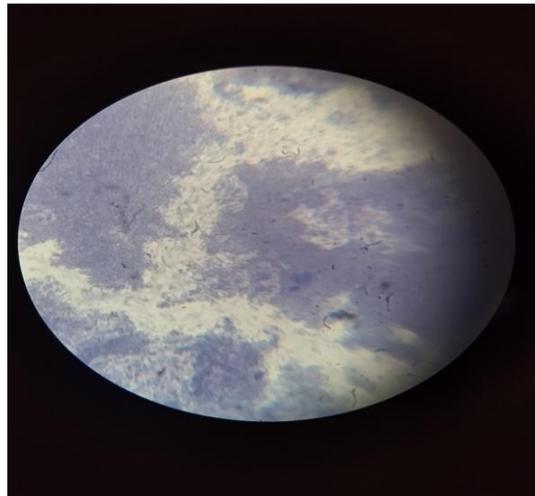


Imagen 2.6 *Staphylococcus aureus*. Autoría propia

2.6.5.1 Taxonomía

La taxonomía de *Staphylococcus aureus* se muestra a continuación en la tabla 2.7

Reino	<i>Bacteria</i>
Phillum	<i>Firmicutes</i>
Clase	<i>Bacilli</i>
Orden	<i>Bacillales</i>
Familia	<i>Micrococcaceae</i>
Genero	<i>Sthaphyloccocus</i>
Especie	<i>aureus</i>

Tabla 2.7 Taxonomía de *Staphylococcus aureus*. Retomada de Alvares, V. (1995)

2.6.5.2 Morfología.

Es un coco que crece agrupado en racimos (de ahí su raíz "Staphylo"), que responde positivamente a la tinción de Gram, es aerobio y anaerobio facultativo por lo que puede crecer tanto en una atmósfera con oxígeno y también sin el mismo, no presenta movilidad ni forma cápsula. Es capaz de crecer hasta con un 10 % de sal común. Por esto puede crecer en el agua del mar. Produce la fermentación láctica. Es catalasa positivo y coagulasa positivo. (Mensa, J. 2004)

2.6.5.3 Propiedades bioquímicas.

Las propiedades bioquímicas de *Staphylococcus aureus* se muestra a continuación en la tabla 2.8.

Catalasa	positivos
Producción de ácido a partir de glucosa	Condiciones aeróbicas y anaeróbicas
Manitol	positivo
Fosfatasa	positiva
Coagulasa	positivo
Reducción Nitrito a nitrato(2)	positivo

Tabla 2.8 Propiedades bioquímicas de *Staphylococcus aureus*. Retomada de Alvares, V. (1995)

2.6.5.4 Patogenicidad.

El *Staphylococcus aureus* es potencialmente patógeno, las infecciones estafilocócicas específicas son los forúnculos, el impétigo ampollar, la osteomielitis, la enteritis y la intoxicación alimentaria por enterotoxina. Se comprueba que éstos causan infecciones en muchos tejidos, órganos y tractos del cuerpo como: endocarditis, septicemia, meningitis, orzuelos, neumonía, cistitis y sepsis puerperal, etc. *S. aureus* puede producir una variedad de procesos infecciosos que van desde la infección cutáneas relativamente benignas hasta enfermedades sistémicas

potencialmente fatales. Las infecciones cutáneas incluyen foliculitis simple y el impétigo (infección superficial de la piel en niños).

En cuanto a infecciones profundas, se pueden desarrollar infecciones más extensas y profundas a partir de infecciones cutáneas, endógenas, o de una exposición a fuentes exógenas. Un recién nacido que es hospitalizado expuesto al estafilococo puede adquirir una neumonía o una septicemia fatal. Los ancianos que han experimentado un ataque de influenza pueden sucumbir a una neumonía estafilocócica. La osteomielitis, una infección del hueso y médula ósea que asume la forma de un absceso resulta difícil de erradicar.

También hay cepas de *S. aureus* que pueden producir intoxicaciones alimentarias debido a la elaboración de exotoxinas durante su desarrollo en alimentos contaminados. Dos a tres horas después de la ingestión de esta causa un cuadro caracterizado por vómitos violentos, calambres, diarreas y postración, raras veces es fatal, el paciente se recupera en un lapso máximo de 24-48 horas. (Pahissa, A. 2009).

2.7 Metodo Kirby-Bahuer.

El método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un. Este método comprende lo que se denomina un antibiograma o prueba de susceptibilidad bacteriana frente a antibióticos específicos.

2.7.1 Fundamento teórico.

Una de las pruebas utilizadas con mayor frecuencia para determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos es el método de difusión de discos de Kirby Bauer, en la cual las interpretaciones clínicas se deducen por correlación con la prueba de referencia. El antibiograma por disco difusión, basado en el trabajo de Kirby Bauer y colaboradores es un método cualitativo estandarizado por el Instituto

de Estándares clínicos y de Laboratorios (CLSI), el cual muestra las ventajas y flexibilidad en la elección de los antimicrobianos como son el bajo costo y la fácil realización. El procedimiento del método disco difusión consiste en depositar en una placa Petri con medio Müller Hinton, previamente inoculado con el microorganismo a estudiar, discos de papel impregnados con diferentes antibióticos a concentraciones previamente establecidas. Una vez que el sensidisco toma contacto con la superficie húmeda del agar, absorbe agua y permite que el antibiótico se difunda por el agar, logrando así una gradiente de concentración alrededor del disco. La sensibilidad del disco estará determinada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano (Sahuanay, 2015).

2.8 Antibióticos.

Dentro del amplio espectro que comprenden los medicamentos, se encuentran los antibióticos, compuestos que en pequeñas concentraciones del orden de $\mu\text{g/mL}$, son capaces de inhibir el crecimiento o producir la muerte de los microorganismos. (Laborda, R 2002)

Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico, ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función del microorganismo, tiene elevada potencia biológica actuando a bajas concentraciones y la toxicidad es selectiva, con una mínima toxicidad para las células de nuestro organismo. El objetivo de la antibioticoterapia es controlar y disminuir el número de microorganismos viables, de modo que el sistema inmunológico sea capaz de eliminar la totalidad de los mismos. Los antibióticos se dividen en bacteriostáticos y bactericidas.

- 1) Bacteriostáticos. Bloquean el desarrollo y la multiplicación de las bacterias, pero no las lisan, por lo que, al retirar el antibiótico, su efecto es reversible. Éste es el caso de las sulfamidas, trimetropim, cloranfenicol, macrólidos y lincosamidas.

2) Bactericidas. Provocan la muerte bacteriana y, por consiguiente, el proceso es irreversible. Comprenden los siguientes: β -lactámicos, aminoglúcidos, fosfomicina, nitrofurantoínas, poli péptidos, quinolonas, rifampicina y vancomicina.(Lorenzo, F.2008)

2.8.1 Nitrofurantoina.

Nitrofurantoina es un nitrofurano sintético que se utiliza para el tratamiento y la profilaxis de infecciones urinarias. Posee múltiples mecanismos de acción, ninguno totalmente conocido. La forma activa se produce dentro de la de bacteria mediante enzimas reductoras, nitroreductasas, que producen metabolitos intermedios activos. Éstos se unen a los ribosomas bacterianos e inhiben enzimas bacterianas vinculadas a la síntesis de ADN, ARN y otras vías metabólicas. (Ramos, Telechea, Araújo & Vignoli, 2016).

Está incluida en la Lista de Medicamentos Esenciales de la Organización Mundial de la Salud.

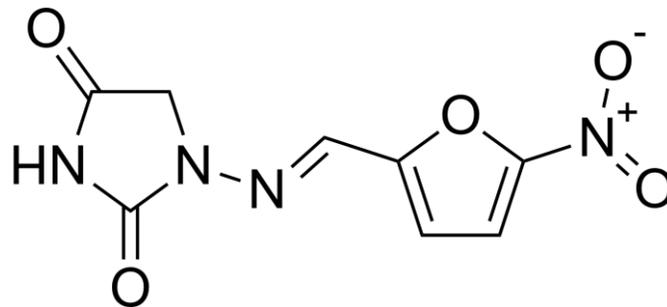


Imagen 2.7 Estructura de Nitrofurantoina. Autor desconocido

La nitrofurantoina es un antibiótico perteneciente a la familia de los nitrofuranos. El mecanismo de acción bactericida no está bien establecido, aunque se ha demostrado que actúa inhibiendo varios sistemas enzimáticos bacterianos en bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. (Ministerio de Sanidad Política Social e Igualdad [MSPSI] 2020).

2.8.2 Ceftriaxona.

Antibiótico beta-lactámico, del grupo de las cefalosporinas, con acción bactericida prolongada. Inhibe la síntesis y reparación de la pared bacteriana. Amplio espectro. Activa frente a una amplia gama de microorganismos patógenos, tanto Gram+ como Gram-, especialmente sobre esos últimos y sobre todo frente Enterobacterias. Presenta leve acción frente anaerobios y es poco activa frente a *Pseudomonas*.

Es activa frente:

- Aerobios Gram negativos: *Acinetobacter calcoaceticus*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Providencia sp.*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, y frente a muchas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.
- Aerobios Gram positivos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus agalactiae*.
- Anaerobios: *Bacteroides fragilis*, *Clostridium sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Bacteroides bivius*, *Bacteroides melaninogenicus*.

La ceftriaxona tiene una farmacocinética no lineal dependiente de la dosis a causa de la unión a proteínas plasmáticas en un 85 y 95%. Se distribuye ampliamente en los tejidos y líquidos corporales.

Atraviesa las meninges, inflamadas ó no, alcanzando niveles terapéuticos en el LCR. Atraviesa la barrera placentaria y se detectan bajas concentraciones en la leche materna. Se detectan altas concentraciones en la bilis. La semivida de eliminación plasmática no depende de la dosis y varía entre 6 y 9h; puede prolongarse en recién nacidos, en insuficiencia renal grave, especialmente si

existen trastornos hepáticos. Entre el 40 y 65% se excreta inalterada por la orina, el resto por la bilis. (Asistencia sanitaria, 2019)

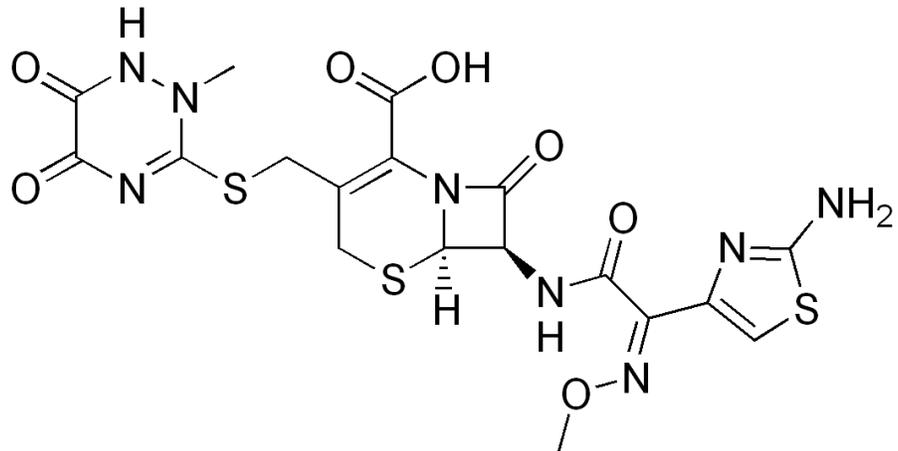


Imagen 2.8 Estructura de Ceftriaxona. Autor desconocido.

Capítulo 3. Metodología.

En este capítulo se muestra paso a paso el desarrollo para la comprobación de la hipótesis, el extracto acuoso de la flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*), presenta una actividad antimicrobiana en las cepas bacterianas *Escherichia coli* ATCC 11229 y ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

3.1 Materiales, equipos y reactivos.

En la tabla 3.1 se muestran los materiales, equipos y reactivos empleados en la presente investigación.

Materiales y equipo	Reactivos
Cajas Petri estériles Hisopos estériles Gasas Tubos de ensayo Asa bacteriológica Incubadora Campana de flujo laminar Micropipeta Puntas azules y amarillas estériles. Autoclave Centrífuga	Medio de cultivo MacConkey Agua inyectable (estéril)

Tabla 3.1 Materiales, equipo y reactivos

3.2 Las cepas bacterianas utilizadas.

Estas cepas bacterianas fueron proporcionadas por la MTA. Gabriela Bárcena Vicuña, docente del Instituto Tecnológico de Atlixco.

- Cepa de *Escherichia coli* ATCC 11229
- Cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922
- Cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

3.3 Diagrama del proceso.

Para la realización de la presente investigación se llevó a cabo el siguiente diagrama.

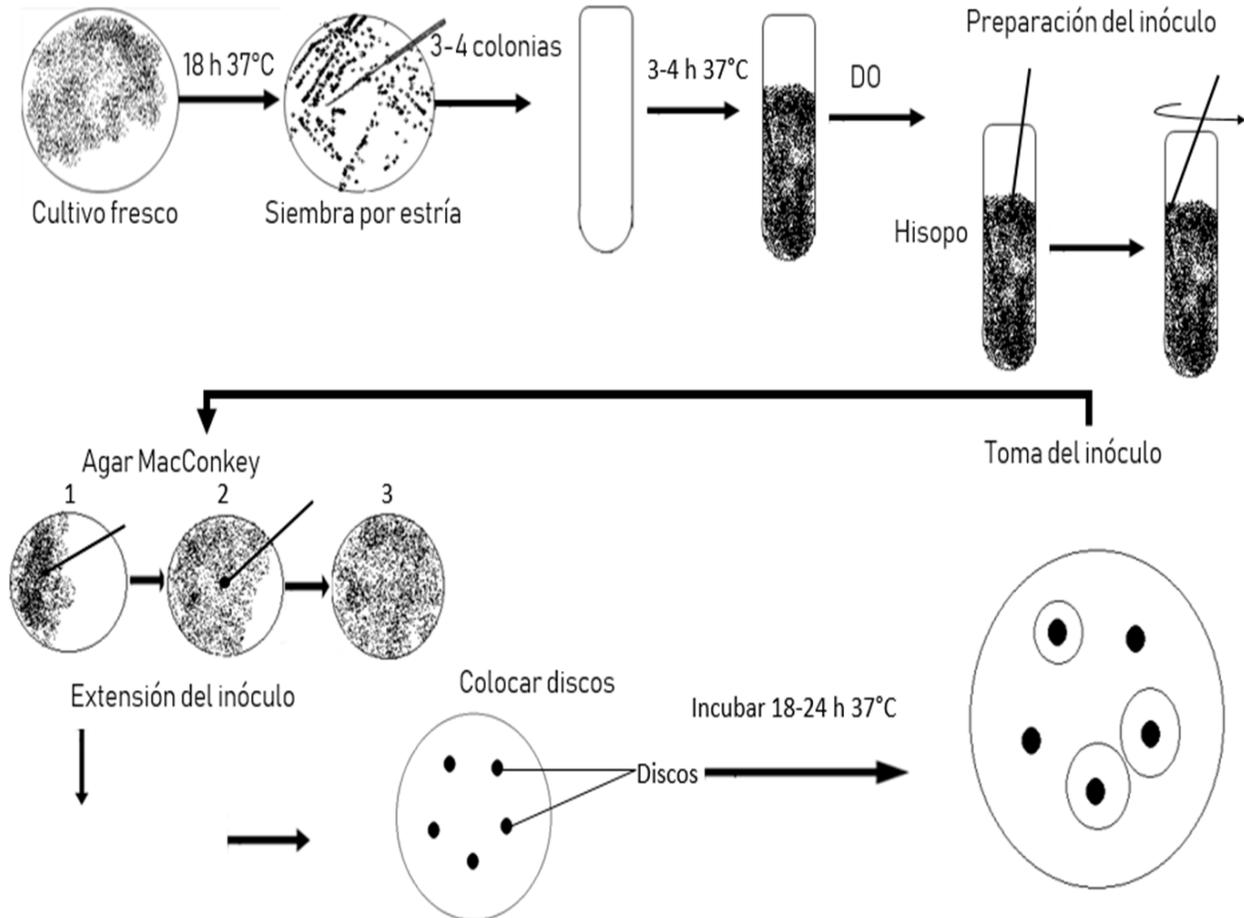


Imagen 3.1 Diagrama de proceso experimental. Autoría propia.

3.4 Proceso experimental.

3.4.1 Recolección de la planta.

Con ayuda de la bibliografía, se recolectaron las flores de *Pseudobombax ellipticum* en la zona de Tuxtla, Chiapas, México.



Imagen 3.2 Flor de Pseudobombax ellipticum. Autoría propia.

3.4.2 Preparación del material vegetal.

Las flores de sospó (*Pseudobombax ellipticum*) después de ser recolectadas se lavaron, secaron y trituraron

3.4.3 Obtención de extracto.

Para la obtención del extracto se prepararon cartuchos a partir de la flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*) en papel filtro. Por medio del método Soxhlet se realizó la separación de sus componentes empleando como disolvente agua a una temperatura de 80 °C durante 3 días. Finalmente, la muestra se liofilizó.



Imagen 3.3 Cartucho de Pseudobombax ellipticum. Autoría propia

El punto 3.4.1 al 3.4.3 se realizó en colaboración con la Universidad Autónoma de Chiapas UNACH, en el laboratorio experimental de farmacología dirigido por el Dr. José de Carmen Rejón.

3.4.4 Preparación de las diluciones.

Del extracto stock se prepararon diluciones con las siguientes concentraciones: 300 µg /mL, 400 µg /mL, 500 µg /mL, 600 µg / mL y 700 µg /mL.



Imagen 3.4 Extracto final para diluciones. Autoría propia.

3.4.5 Prueba del extracto.

La prueba antimicrobiana para el extracto se realizó mediante el método de Kirby –Bauer (Bernal M. 1984), con las siguientes cepas: *Escherichia coli* ATCC 11229 y ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

3.4.5.1 Preparación de inóculo.

Una vez reactivadas las cepas mencionadas anteriormente, para obtener colonias aisladas de cultivos jóvenes se hizo siembra por estría por triplicado, dejando en la incubadora por un periodo de 16-18 horas.

Después se tomaron de 3 a 4 colonias aisladas, para colocarlos en 10mL de medio líquido Müller Hilton, por triplicado para cada cepa y dejar incubando por un tiempo de 3-4 horas según la cepa hasta que alcance su densidad óptica (DO) que va de

700 a 900 nm de acuerdo a la cepa en donde garantizamos que el microorganismo se encuentra en etapa exponencial para poder realizar la prueba.



Imagen 3.5 Toma de colonias aisladas. Autoría propia

3.5.2 Inoculación de las placas.

Una vez alcanzada la DO de cada cepa, se inoculó en placas con medio de cultivo MacConkey, con un hisopo estéril se tomó el microorganismo y se distribuyó uniformemente.



Imagen 3.6 Inoculación de cepas bacterianas. Autoría propia.

3.5.3. Aplicación de sensidiscos.

Con ayuda de una pinza estéril, en sensidiscos teniendo como control negativo (-) agua estéril y como control positivo (+) antibiótico que fue de acuerdo a su cepa nitrofurantoina para las dos cepas de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* y ceftriaxona para *Staphylococcus aureus*.

Colocando los sensidiscos de manera uniforme y con espacios considerables.



Imagen 3.7 Colocación de sensidiscos por método Kirby-Bauer. Autoría propia

Posteriormente se incubaron 16-18 horas a 37°C permitiendo el crecimiento máximo de los microorganismos.

Capítulo 4. Resultados y discusión.

4.1 Resultados.

La actividad antimicrobiana de prueba extracto acuoso de flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*) se determinó midiendo la zona de inhibición expresada en milímetros, con la ayuda de un vernier digital, el cual es mostrada en tablas por cepa de estudio, mostrando los promedios, desviación estándar y gráficas de comparación para su mayor interpretación.

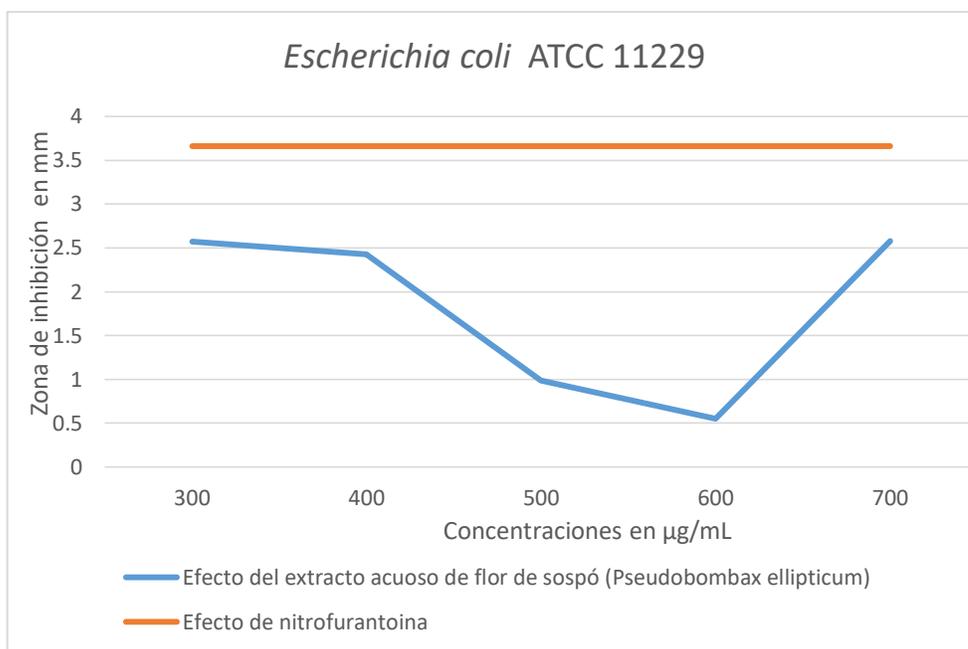
4.1.1 Medidas de los halos del efecto antimicrobiano en *Escherichia coli* ATCC 11229.

Los resultados de las medidas de los halos fueron los siguientes:

Concentraciones	300 µg/m L	400 µg/m L	500 µg/m L	600 µg/m L	700 µg/mL	Control + Nitrofurantoin a	Control - Agua estéril
Promedio(mm)	2.575	2.430	0.985	0.550	2.5280	3.460	0
Desviación estándar (mm)	0.495	0.640	0.215	0.250	0.100	0.120	0

Tabla 4.1 Resultados de *Escherichia coli* ATCC 11229.

Como se puede observar en la Tabla 4.1, la concentración de 300 µg/mL fue la que presentó la mayor actividad antimicrobiana para los tres ensayos, con un promedio de 2.575 mm y una desviación estándar de 0.495, la cual no supera al control positivo del cual solo tiene 0.885 mm de diferencia, como se presenta en la Gráfica 4.1 en donde podemos observar el comportamiento antimicrobiano de las diferentes concentraciones comparadas con el control positivo.



Grafica 4.1 Comparación del efecto del extracto y antibiótico en *Escherichia coli* ATCC 11229.

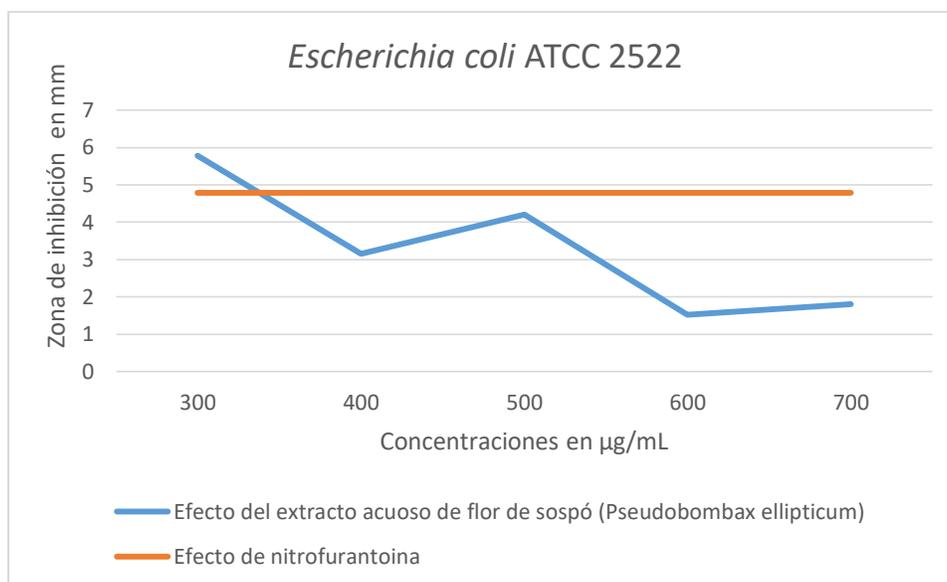
4.1.2 Medidas de los halos del efecto antimicrobiano en *Escherichia coli* ATCC 25922.

Los resultados de las medidas de los halos fueron los siguientes:

Concentraciones	300 µg/mL	400 µg/mL	500 µg/mL	600 µg/mL	700 µg/mL	Control + Nitrofurantoina	Control - Agua estéril
Promedio(mm)	5.785	3.160	4.200	1.515	1.805	4.7816	0
Desviación estándar (mm)	0.215	0.230	0.200	0.115	0.2950	0.178	0

Tabla 4.2 Resultados de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Como se puede observar en la Tabla 4.2, la concentración de 300 µg/mL fue la que presentó la mayor actividad antimicrobiana para los tres ensayos, con un promedio de 5.758 mm y una desviación estándar de 0.215, superando el promedio del control positivo el cual fue Nitrofurantoina, como se puede observan en la Gráfica 4.2, en donde se muestra el comportamiento del extracto a diferentes concentraciones comparado con el efecto del control positivo.



Grafica 4.2 Comparación del efecto del extracto y antibiótico *Escherichia coli* ATCC 25922.

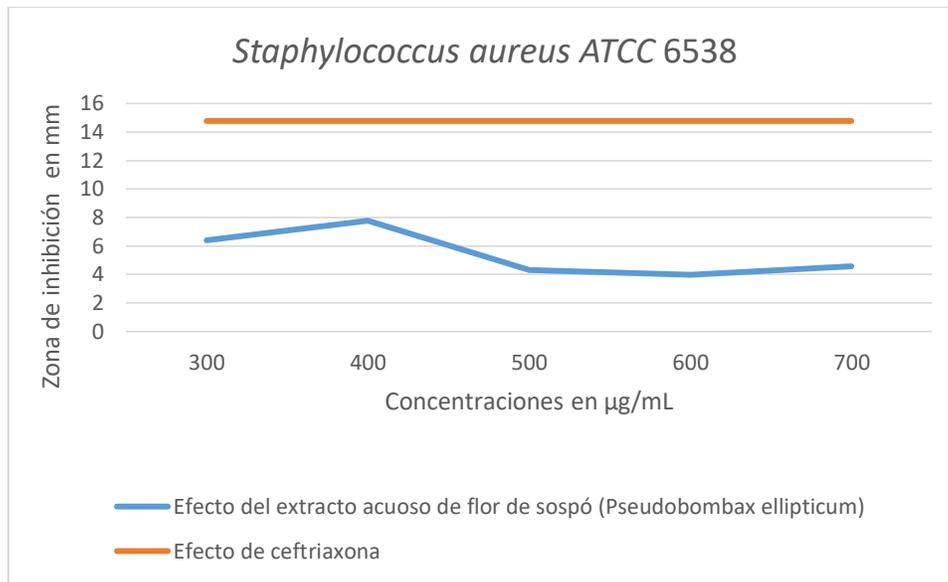
4.1.3 Medidas de los halos del efecto antimicrobiano en *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Los resultados de las medidas de los halos fueron los siguientes:

Concentraciones	300 µg/m L	400 µg/m L	500 µg/m L	600 µg/mL	700 µg/m L	Control + Nitrofurantoina	Contro l – Agua estéril
Promedio(mm)	6.395	7.785	4.320	3.955	4.58	14.785	0
Desviación estándar (mm)	0.275	0.405	0.060	0.0.215	0.550	0.156	0

Tabla 4.3 Resultados de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

Como se puede observar en la Tabla 4.3, la concentración de 400 µg/mL fue la que presentó la mayor actividad antimicrobiana para los tres ensayos, con un promedio de 7.785 mm y una desviación estándar de 0.405 el cual no supera promedio del control positivo el cual fue Ceftriaxona, como se puede observan en la Grafica 4.3, en donde se muestra la comparación del comportamiento del extracto a diferentes concentraciones comparado con el efecto del control positivo.



Grafica 4.3 Comparación del efecto del extracto y antibiótico *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

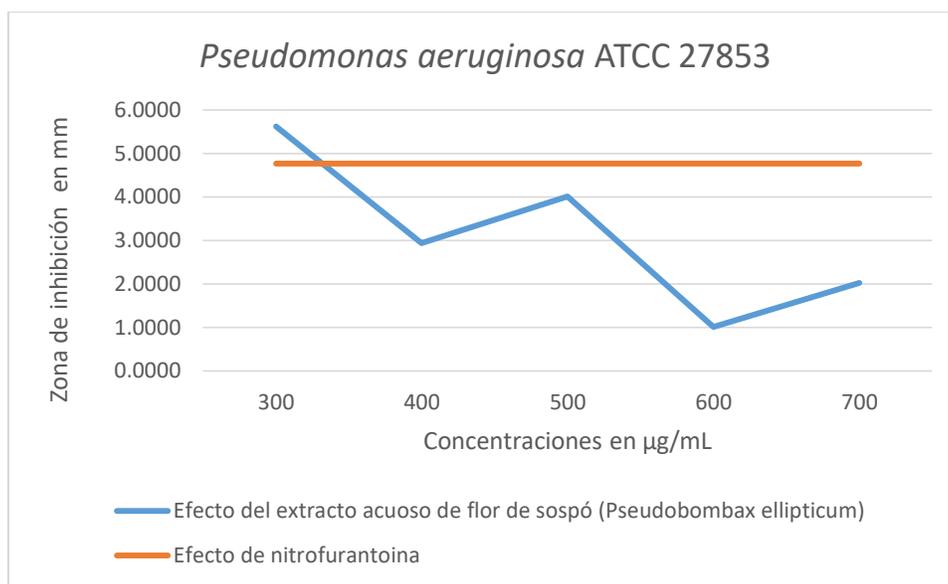
4.1.4 Medidas de los halos del efecto antimicrobiano en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Los resultados de las medidas de los halos fueron los siguientes:

Concentraciones	300 µg/mL	400 µg/mL	500 µg/mL	600 µg/mL	700 µg/mL	Control + Nitrofurantoina	Control - Agua estéril
Promedio(mm)	5.115	2.940	4.010	1.005	2.020	4.46	0
Desviación estándar (mm)	0.365	0.140	0.340	0.065	0.750	0.090	0

Tabla 4.4 Resultados de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Como se puede observar en la Tabla 4.4, la concentración de 300 µg/mL fue la que presentó la mayor actividad antimicrobiana para los tres ensayos, con un promedio de 5.115 mm y una desviación estándar de 0.365, superando el promedio del control positivo el cual fue Nitrofurantoina, como se puede observar en la Grafica 4.4, en donde se muestra la comparación del comportamiento del extracto a diferentes concentraciones comparado con el efecto del control positivo.



Grafica 4.4 Comparación del efecto del extracto y antibiótico *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

4.2 Discusión de los resultados.

En 2011 Hossain y col. observaron una actividad prometedora a bajas concentraciones (300 µg/mL) contra diferentes microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, donde evidenciaron un diámetro de 10 mm de zona de inhibición, empleando kanamicina como control positivo obteniendo un halo de 24 mm de inhibición.

De acuerdo a los resultados de esta investigación *Pseudomonas aeruginosa* 27853, éstos presentaron un mayor impacto en la inhibición empleando el extracto acuoso de flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*) a una concentración de 300 µg/mL con un halo 5.11 mm de inhibición, en comparación del control positivo nitrofurantoina que tiene un diámetro 4.46 mm de zona de inhibición, lo cual indica que esta concentración tiene mayor eficiencia que el antibiótico empleado.

En 2019 Piscil, G.P observó que a bajas concentraciones (300-500 µg/mL) se tienen halos de inhibición de 2.178-2.30 mm, empleando como control positivo Nitrofurantoina obteniendo un halo de inhibición de 3.6 mm.

La cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 a igual que en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 el extracto sobrepasó al control positivo, en la concentración de 300 µg/mL se obtuvieron 5.785 mm de halo de inhibición y en control positivo nitrofurantoina con 4.78 mm, lo cual indica que a esta concentración tiene mayor eficiencia que el antibiótico empleado.

De acuerdo a los resultados obtenidos con la cepa *Escherichia coli* ATCC 11229 se observó que, las concentraciones más prometedoras son 300 µg/mL con un diámetro de 2.57 mm y 700 µg/mL con un diámetro 2.52mm, mostrando 1 mm de diferencia en comparación del control positivo nitrofurantoina con un diámetro de 3.66 mm, en la investigación realizada en 2019 por Piscil, G.P se observaron resultados más prometedoras a una concentración de 700 µg/mL con un halo de 2.16 mm de diámetro de inhibición, el cual es menor al halo de inhibición del control positivo el cual fue bencilpenicilina el cual presentó 2.72mm de diámetro de inhibición.

En 2020 Pérez, G.Y empleando la *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 en el extracto etanólico de *Pseudobombax ellipticum*, la concentración que tuvo mayor diámetro de inhibición fue 600 400 µg/mL con 6.47 mm y el control positivo ceftriaxona tuvo un diámetro de 16.20 mm .En *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 en esta investigación la actividad antimicrobiana no sobrepasó al control positivo el cual fue ceftriaxona con un diámetro de 14.78 mm, la concentración en la que tuvo mejor efecto a fue de 400 µg/mL con un diámetro de 7.85 mm de diámetro.

Capítulo 5. Conclusiones y recomendaciones.

Conclusiones.

La presente tesis tuvo como objetivo comprobar el efecto del extracto acuoso de la flor se sospó (*Pseudobombax ellipticum*) como antimicrobiano, de acuerdo con los resultados obtenidos e interpretados en las tablas y gráficas presentadas anteriormente, se comprueba que, en las cuatro cepas bacterianas, el extracto presenta efecto antimicrobiano.

Evaluando cada uno de los resultados obtenidos en las cuatro cepas de estudio se obtienen las siguientes conclusiones.

En *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 se notó que en todas las concentraciones se tuvo actividad, la de mejores resultados en halos de inhibición fueron los originados por la concentración 400 µg/mL del extracto con un promedio de 7.785 mm.

En *Escherichia coli* ATCC 11229 el promedio de la concentración 300 µg/mL, fue de 2.575 mm y una desviación estándar de 0.495, la cual no supera al control positivo del cual solo tiene 0.885 mm de diferencia.

La concentración que mejor efecto antimicrobiano tuvo para cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 la fue de 300 µg/mL, con un promedio de 5.758 mm y una desviación estándar de 0.215, superando el promedio del control positivo el cual fue Nitrofurantoina.

Finalmente, para la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 se identificó que todas las concentraciones mostraron inhibición. Mostrando mayor efecto antimicrobiano en la concentración de 300 µg/mL y 500µg/mL, ya que como se observó en la Gráfica 4.4 fueron los halos de inhibición de mayor tamaño. El promedio de la concentración 300 µg/mL fue de 5.115 mm mostrando mayor inhibición al halo formado por el control positivo con una medida de 4.46 mm.

La cepa bacteriana más sensible al extracto de es la de *Pseudomonas eruginosa* ATTC 27853, ya que los halos de inhibición formados por la concentración de 300 µg/mL mostraron mayor diámetro en comparación con las medidas de los halos formados por el antibiótico.

La cepa que mostró mayor resistencia en esta investigación fue la de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, la concentración en la que tuvo mejor efecto a fue de 400 µg/mL con un diámetro de 7.85mm ya que como se muestra en las gráficas la actividad no superó al control positivo el cual fue ceftriaxona con un diámetro de 14.78 mm por 7mm de diferencia, de lo cual podemos concluir que en esta cepa se presenta la menor actividad antimicrobiana del extracto

Recomendaciones.

De acuerdo con análisis de los resultados obtenidos se tienen las siguientes recomendaciones:

Continuar el estudio de actividad antimicrobiana por el método Kirby-bauer a concentraciones menores a 300 µg/mL para determinar cuál es la concentración más baja en la que tiene efecto el extracto, ya que aún se desconoce el comportamiento a concentraciones más bajas.

Realizar estudio con más cepas bacterianas que no sean *Escherichia coli* ATCC 11229 y ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Referencias y fuentes bibliográficas.

1. Álvarez., V., y otros., Manual de Técnicas en Microbiología Clínica., s.ed., Madrid-España., s.edt., 1995., Pp. 28, 70-78, 111.
2. Asistencia sanitaria 2019. Ficha técnica de ceftriaxona recuperado de: <https://www.sergas.es/Asistenciasanitaria/Documents/174/CEFTRIAXONA.pdf>
3. Blanca E, Bravo R.Texto de Microbiología. Universidad Central del Ecuador, s.ed., Quito-Ecuador., Facultad de ciencias químicas., 1988., Pp. 193, 222, 224, 245, 347.
4. Bonilla, C. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de carrasquilla (*Berberis hallii*) sobre *Escherichia coli* ATCC N° 9637, *Candida albicans* ATCC N°10231, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC N° 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC N°6538.,Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2011., Pp. 83-94.
5. Castillo, E. Manual de Fitoterapia., s.ed., Madrid España.,Elsevier Masson., 2007., Pp. 214-217
6. Calderón, P. E. M. y Nava, F. R. 2004. La Familia Bombacaceae en la cuenca del río balsas, México. Polibotánica. México. 17: 71-102.
7. Clara Valenzuela 2019 recuperado de: <https://www.claravalenzuela.com/blogs/cosmetica-natural/plantas-medicinales-como-extraer-sus-principios-activos>.
8. Comisión Nacional para el Conocimientos y uso de la biodiversidad [CONABIO] 2019, (*Pseudobombax ellipticum*) Recuperado:<https://www.biodiversidad.gob.mx/Difusion/cienciaCiudadana/aurbanos/ficha.php?item=Pseudobombax%20ellipticum>.
9. Ciencias Médicas 2020 recuperado de [:https://blog.ciencias-medicas.com/archives/1373](https://blog.ciencias-medicas.com/archives/1373)
10. Cruz, L. Guzmán, M. (2014) Traditional Medicinal Plants Used for the Treatment of Gastrointestinal Diseases in Chiapas, México. Pp. 509-511.

11. CONABIO (1998). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad[CONABIO](1998).
12. CONABIO (1998). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad[CONABIO](1998).
13. Eleazar Carranza González For a del bajío y de regiones adyacentes noviembre de 2000.
14. Elmer W., y otros., Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas Color., 5ta.ed. Panamericana-Argentina., 2001., Pp. 171, 190, 198, 202, 209, 528-535, 818-825, 955, 1015-1017.
15. García-Jiménez, A. L. (2009) "Introducción a las plantas medicinales en México"
16. Granados., R., Microbiología: Bacteriología. Características y clasificación Bacteriana, Virología. Características y Técnica Bioquímicas., Tomo I., Madrid- España., Editorial Paraninfo S.A., 2003., Pp. 1-10.
17. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Bacteria>
18. Jawetz, E., y otros., Microbiología Médica Manual Moderno., s.ed., México D.F-México., s.edt., 1983., Pp. 213.
19. Koneman., E., y otros., Diagnóstico Microbiológico., 5ta.ed., Buenos Aires- Argentina., Editorial Médica Panamericana., 2004 Pp. 238,239, 245-256.
20. Laborda, R. Conceptos microbiológicos. Principios básicos de la farmacoterapia antibacteriana. En: Argentina CF, editor. Farmacología de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Capital Federal: Alfa Beta; 2002.
21. López, E., Hernández, M., Colín, C.A., Ortega, S., Cerón. G., Franco, R., Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación en discapacidad.* 2014 Pp.10-18. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/invdiss/ir-2014/ir141b.pdf>
22. Llop., A., y otros., Microbiología y Parasitología Médicas., s.ed., La Habana- Cuba., s.edt., 2001. Pp. 9, 37, 38, 45-50.
23. Lorenzo F. Farmacología: Básica y Clínica. 6ª ed. Buenos Aires: Medica Panamericana. 2008.
24. Mensa., J.y otros., Guía terapéutica antimicrobiana., 14ava. ed., Barcelona- España., Editorial Masson S.A., 2004., Pp 35-39

25. Pahissa., A., Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* ., 1ra. ed., Valencia-España., Editorial Soto., 2009., Pp. 21-30.
26. Pérez, G.Y, Determinación de la eficiencia antimicrobiana de extracto del etanólico de la flor de sospó (*Pseudobombax ellipticum*) en las bacterias *Escherichia coli* ATCC 11229, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.,2020., Pp.41-43.
27. Piscil, G.P, Evaluación de la eficiencia antimicrobiana del extracto de cornezuelo (*Acacia cornígera*).,2019., Pp 36-38.
28. Naranjo., P., Etnomedicina y mitología., s.ed., Quito-Ecuador., Editorial Libri Mundi., 1983., Pp. 44
29. Bernal, M. (1984) BIOMEDICA El antibiograma de discos.Normalización de la técnica de Kirby –Bauer pp.112-125.
30. Mir, N. (2011) "Pharmacological Investigations of Roots of Bombax ceiba" East West University pp. 73-90.
31. Miranda, F. 2015. La vegetación de Chiapas. 4ª edición. Editorial Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH). Tomo II. Pp. 187
32. Ministerio de Sanidad Política Social e Igualdad[MSPSI] 2020recuperado de: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/22974/22974_ft.pdf
33. García-Jiménez, A. L. (2009) "Introducción a las plantas medicinales en México".
34. Gispert, C.M., Rodríguez, G. H., González, E. A.R. 2002. Los diversos y floridos árboles de los parques de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Editorial UNAM. Pp. 87.
35. Orantes-García, C., Moreno-Moreno, A. R., Verdugo-Valdez, A. G. y Farrera-Sermiento, O. 2015. Plantas útiles en comunidades campesinas de la selva Zoque-Chiapas. Editorial Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Pp. 115-116.
36. Organización Mundial de la Salud[OMS] 2017 Lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos, Recuperado de:

<https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.

37. Ramos, C. Telechea, H., Araújo, L., Vignoli, R. (2016). Nitrofurantoína macrocristales para el tratamiento empírico de la cistitis aguda no complicada en mujeres. Departamento de Farmacología y Terapéutica Hospital De Clínicas “Dr. Manuel Quintela”. Recuperado de: http://www.boletinfarmacologia.hc.edu.uy/images/stories/boletin/nitrofurantoína_macrocrisales.pdf
38. Rodríguez G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud pública. Vol. 44. México. 2002.
39. Ruíz T, Medrano M. Antioxidant and free radical scavenging activities of plant extracts used in traditional medicine in Mexico. African Journal of Biotechnology. 2008; 7(12): 1886-1893.
40. Villaseñor, J. L. 2016. Catálogo de las plantas vasculares nativas de México. Revista Mexicana de Biodiversidad. 87: 559–902
41. Yanet Cabrera Cao,¹ Alejandro Fdragas Fernández¹ y Lázaro Gregorio Guerrero Guerrero ² Rev Cubana Med Gen Integr v.21 n.3-4 Ciudad de La Habana may.-ago. 2005.
42. Sahuanay, Z (2015). Evaluación del método directo para la identificación y antibiograma de enterobacterias en urocultivo de pacientes con bacteriuria significativa atendidos en el hospital docente madre niño san Bartolomé 2013-2014. Recuperado de <https://pdfs.semanticscholar.org/e4e0/f966c7acdaf383d02d7c6da3e2b821973517.pdf>

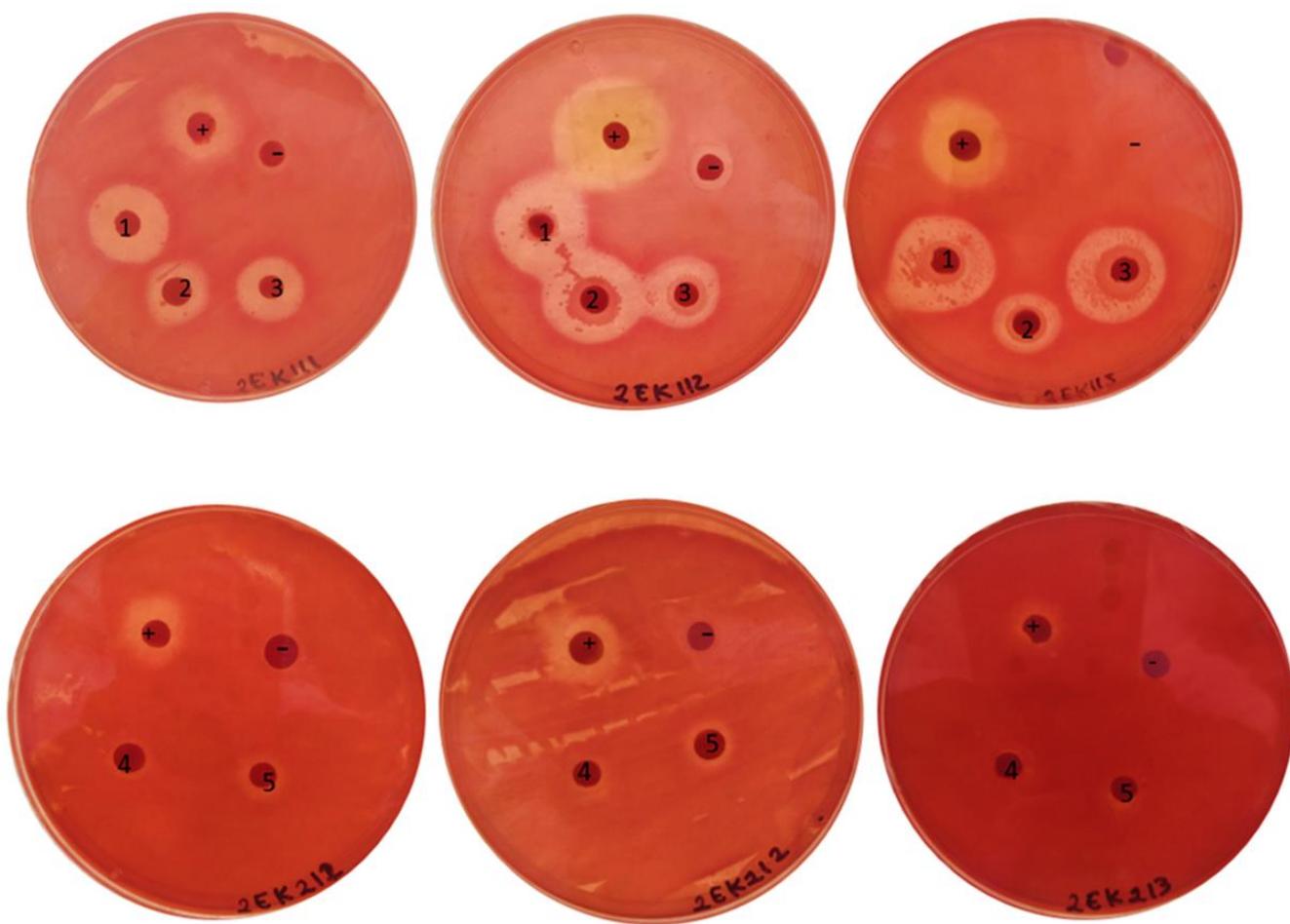
Anexos.

Anexo 1. Cajas Petri de la prueba antimicrobiana a *Escherichia coli* ATCC 11229.



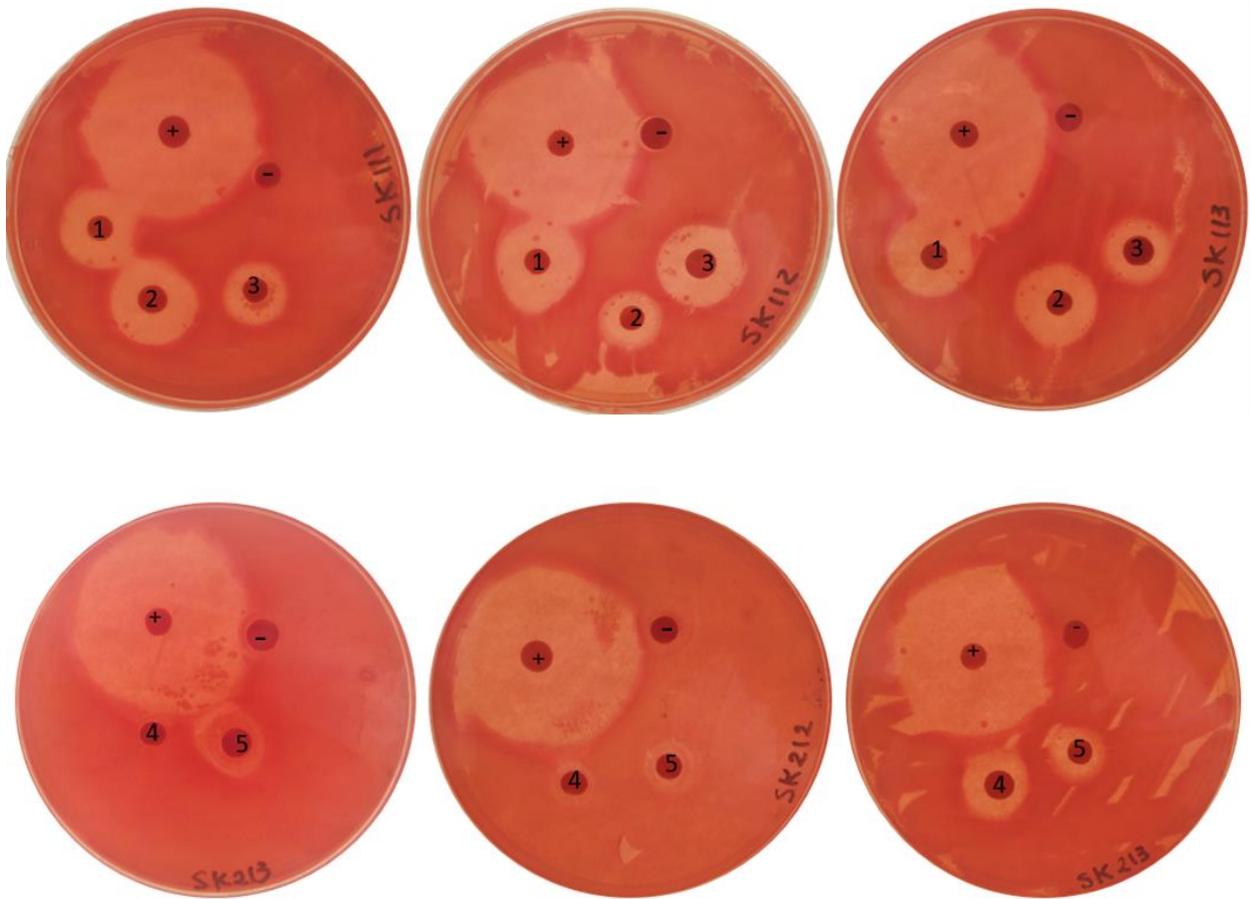
1	2	3	4	5	+	-
300 µg/mL	400 µg/mL	500 µg/mL	600 µg/mL	700 µg/mL	Control + Nitrofurantoina	Control – Agua estéril

Anexo 2. Cajas Petri de la prueba antimicrobiana a *Escherichia coli* ATCC 25922.



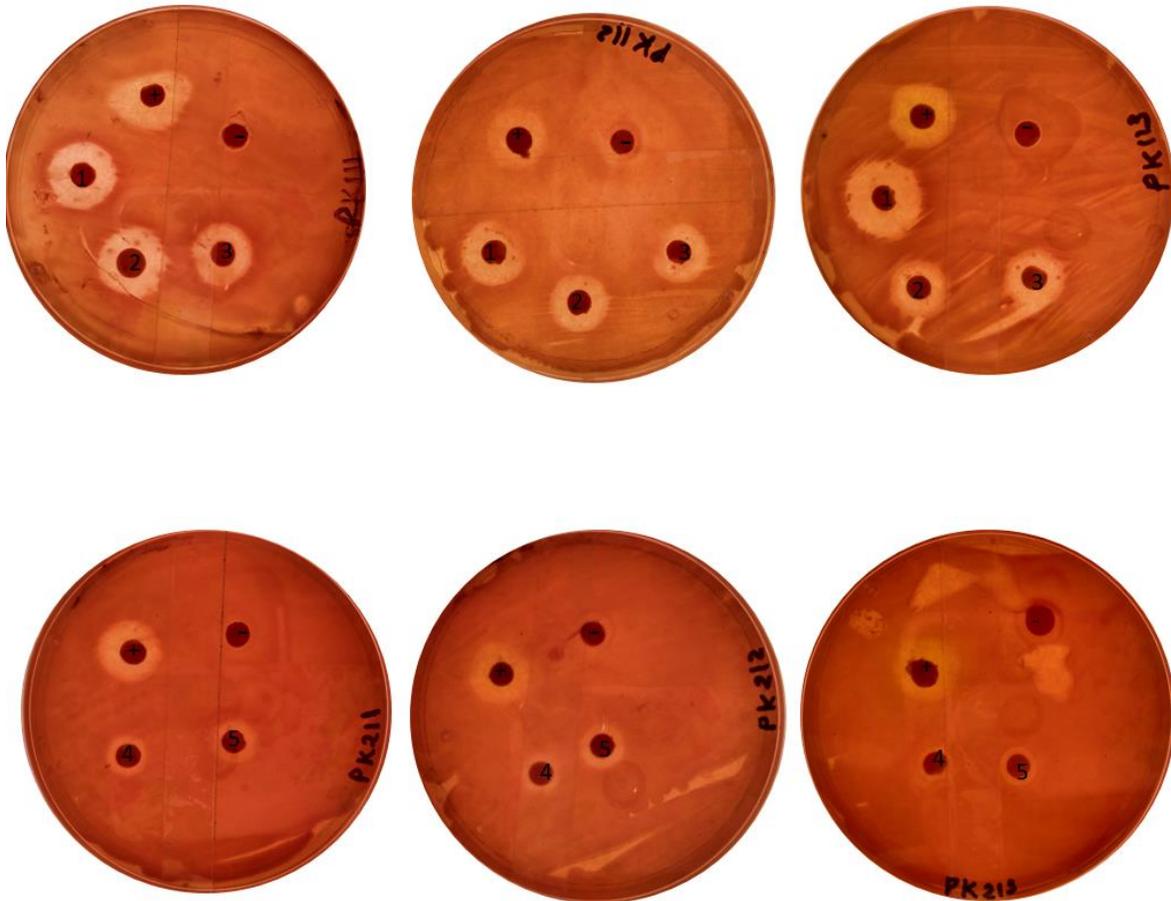
1	2	3	4	5	+	-
300 µg/mL	400 µg/mL	500 µg/mL	600 µg/mL	700 µg/mL	Control + Nitrofurantoina	Control - Agua estéril

Anexo 3. Cajas Petri de la prueba antimicrobiana a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.



1	2	3	4	5	+	-
300 µg/mL	400 µg/mL	500 µg/mL	600 µg/mL	700 µg/mL	Control + Ceftriaxona	Control - Agua estéril

Anexo 4. Cajas Petri de la prueba antimicrobiana a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.



1	2	3	4	5	+	-
300 µg/mL	400 µg/mL	500 µg/mL	600 µg/mL	700 µg/mL	Control + Nitrofurantoina	Control – Agua estéril