

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Comparación de tres metodologías tradicionales para la obtención de extractos vegetales con potencial actividad antimicrobiana en dos plantas de uso terapéutico (*Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl. y *Odontonema callistachyum* (Schltdl. & Cham.) Kuntze) utilizadas por terapeutas tradicionales Maya - Q'eqchi' del Consejo ACGERS en Poptún, Petén

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por María Alejandra España Capilla

para optar al grado académico de Licenciada en Biología

Guatemala,

2022

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Excelencia que trasciende

DEL VALLE
GRUPO EDUCATIVO

Comparación de tres metodologías tradicionales para la obtención de extractos vegetales con potencial actividad antimicrobiana en dos plantas de uso terapéutico (*Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl. y *Odontonema callistachyum* (Schltdl. & Cham.) Kuntze) utilizadas por terapeutas tradicionales Maya - Q'eqchi' del Consejo ACGERS en Poptún, Petén


Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por María Alejandra España Capilla

para optar al grado académico de Licenciada en Biología

Guatemala,


2022

Vo. Bo.

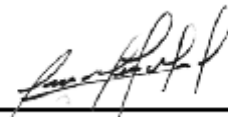
(f) 

(Licda. Ana Isabel García Ambrosy)


Tribunal Examinador

(f) 

(Licda. Ana Isabel García Ambrosy)

(f) 

(M.Sc. José Miguel Morales Santiago)

(f) 

(Licda. Daniela María Ochaita Santizo)

Fecha de aprobación: Guatemala, 09 diciembre 2022.

PREFACIO

Esta investigación surgió como una extensión del proyecto “Green Health: Improving Indigenous Participation in the Nagoya Protocol 2019-2022 UVG/UCL” de la Unidad de Antropología Médica de la Universidad del Valle de Guatemala en donde inicié realizando horas de práctica profesional.

Agradezco a la Asociación de Consejos de Guías Espirituales Releb’aal Saq’e’ (ACGERS), por accederme a trabajar con la información de las plantas de uso terapéutico usadas por sus terapeutas y a quienes tuve la oportunidad de conocer en Poptún, Petén.

Le agradezco a mis padres, quiénes han permitido mi crecimiento profesional y personal. A mi hermano, por ser un apoyo constante en mi vida. A todos mis amigos que de alguna u otra forma aportaron en esta investigación como fuente de inspiración y de ánimo.

Agradezco a la Fundación Educación por su acompañamiento y apoyo económico durante todos los años de la carrera, sin ellos este estudio no sería posible.

Le agradezco a la Licda. Ana Isabel García por permitirme realizar mis prácticas profesionales en el proyecto Salud Verde y darme un espacio de investigación para realizar mi trabajo de graduación. Gracias por los consejos y todo el conocimiento compartido, agradezco también el seguimiento a este estudio.

A M.Sc. José Miguel Morales Santiago agradezco todo el acompañamiento durante la realización de esta investigación. Gracias por el apoyo y paciencia en el laboratorio.

Agradezco a los colaboradores del Departamento de Biología, quienes siempre con mucha disposición, hicieron más fácil la realización de mi trabajo.

CONTENIDO

| | |
|---|-----|
| PREFACIO | ii |
| LISTA DE CUADROS | v |
| LISTA DE FIGURAS | vi |
| RESUMEN | vii |
| ABSTRACT | vii |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| A. Antecedentes (Marco contextual) | 1 |
| 1. Plantas de uso terapéutico en Guatemala | 2 |
| 2. Proyecto <i>Green Health</i> | 3 |
| 3. Uso de las plantas en el Consejo ACGERS | 4 |
| B. Justificación | 4 |
| C. Objetivos | 5 |
| 1. Objetivo general..... | 5 |
| 2. Objetivos específicos | 5 |
| D. Hipótesis | 5 |
| E. Marco teórico | 6 |
| 1. Familia Acanthaceae | 6 |
| 2. <i>Aphelandra aurantiaca</i> (Scheidw.) Lindl. | 6 |
| 3. <i>Odontonema callistachyum</i> (Schlecht. & Cham.) Kuntze | 7 |
| 4. Métodos de extracción | 8 |
| 5. Soluciones extractivas..... | 9 |
| 6. Bacterias..... | 9 |
| 7. Hongos | 10 |
| 8. Bioensayos | 12 |
| III. MARCO METODOLÓGICO | 14 |
| A. Área de estudio | 14 |
| B. Selección de plantas de uso terapéutico | 14 |
| 1. Colecta de material | 15 |
| 2. Preparación de recetas tradicionales | 15 |
| C. Bioensayos | 15 |
| 1. Efecto inhibitorio de bacterias | 15 |

| | | |
|--------------|---|-----------|
| 2. | Efecto inhibitorio de hongos | 16 |
| 3. | Pruebas de crecimiento microbiano | 17 |
| 4. | Ensayos en medio líquido (Trypticase de soya)..... | 18 |
| 5. | Desinfección de material vegetal | 18 |
| IV. | RESULTADOS | 19 |
| V. | DISCUSIÓN | 31 |
| A. | Documentación del conocimiento tradicional | 31 |
| 1. | Plantas de uso fitoterapéutico en el Consejo ACGERS | 31 |
| 2. | Visibilización del conocimiento tradicional | 31 |
| B. | Contaminación biológica | 31 |
| C. | Evaluación de actividad inhibitoria de bacterias y hongos: Bioensayos | 32 |
| 1. | Ensayo Kirby-Bauer..... | 33 |
| 2. | Ensayo en medio líquido tripticase de soya | 33 |
| 3. | Extracciones..... | 33 |
| 4. | Informes farmacológicos sobre los géneros <i>Aphelandra</i> y <i>Odontonema</i> | 34 |
| 5. | Metabolitos volátiles | 35 |
| 6. | Curva de crecimiento bacteriano..... | 36 |
| D. | Importancia del estudio en Guatemala | 36 |
| 1. | Salud pública..... | 36 |
| 2. | Protocolo de Nagoya..... | 37 |
| E. | Implicaciones del estudio para el proyecto Salud Verde y el Consejo ACGERS | 37 |
| VI. | CONCLUSIONES | 39 |
| VII. | RECOMENDACIONES | 40 |
| VIII. | LITERATURA CITADA | 41 |
| IX. | APÉNDICES | 49 |

LISTA DE CUADROS

| Cuadro | | Página |
|--------|--|--------|
| 1. | Tratamientos para evaluación del efecto inhibitorio por planta..... | 17 |
| | Densidades ópticas a 600nm (OD 600) de los ensayos de cuatro cepas (<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. tropicalis</i> y <i>C. krusei</i>) en medio tripticasa de soya para los extractos tradicionales de <i>Aphelandra aurantiaca</i> | 29 |
| 3. | Densidades ópticas a 600nm (OD 600) de los ensayos de cuatro cepas (<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>C. tropicalis</i> y <i>C. krusei</i>) en medio tripticasa de soya para los extractos tradicionales de <i>Odontonema callistachyum</i> | 30 |

LISTA DE FIGURAS

| Figura | | Página |
|--------|---|--------|
| 1. | Mapa de las zonas de vida del municipio de Poptún, Petén..... | 14 |
| 2. | Diagrama de caja Petri para prueba de actividad antimicrobiana..... | 17 |
| 3. | Extracciones vegetales de <i>Aphelandra aurantiaca</i> y <i>Odontonema callistachyum</i> | 19 |
| 4. | Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de <i>Aphelandra aurantiaca</i> frente a una cepa de <i>E. coli</i> | 20 |
| 5. | Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de <i>Odontonema callistachyum</i> frente a una cepa de <i>E. coli</i> | 21 |
| 6. | Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de <i>Aphelandra aurantiaca</i> frente a una cepa de <i>S. aureus</i> | 22 |
| 7. | Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de <i>Odontonema callistachyum</i> frente a una cepa de <i>S. aureus</i> | 23 |
| 8. | Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de <i>Aphelandra aurantiaca</i> frente a una cepa de <i>C. tropicalis</i> | 24 |
| 9. | Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de <i>Odontonema callistachyum</i> frente a una cepa de <i>C. tropicalis</i> | 25 |
| 10. | Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de <i>Aphelandra aurantiaca</i> frente a una cepa de <i>C. krusei</i> | 26 |
| 11. | Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de <i>Odontonema callistachyum</i> frente a una cepa de <i>C. krusei</i> | 27 |
| 12. | Prueba de extracciones de <i>Aphelandra aurantiaca</i> en agar Müller-Hinton (bacterias) y agar YPD (hongos)..... | 28 |
| 13. | Prueba de extracciones de <i>Odontonema callistachyum</i> en agar Müller-Hinton (bacterias) y agar YPD (hongos)..... | 28 |
| 14. | Prueba de crecimiento de microorganismos con muestra de paredes del secador del aula C-107 de la Universidad del Valle de Guatemala..... | 29 |

RESUMEN

Esta investigación se basó en el conocimiento y uso tradicional sobre plantas de uso terapéutico por terapeutas tradicionales Maya Q'eqchi' miembros de la Asociación de Consejos de Guías Espirituales Mayas Releb'aal Saq'e' (ACGERS) con sede en Poptún, Petén. Para esto, se hizo uso de los datos etnobotánicos obtenidos del proyecto "Salud Verde: Mejorando la participación indígena en mecanismos de Acceso y Beneficios compartidos del Convenio de Diversidad Biológica" en el área de influencia del consejo, abarcando los departamentos de Izabal, Alta Verapaz y principalmente el sur de Petén. Se determinará el efecto antifúngico y antibacteriano de tres métodos de aplicación tradicionales para *Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl. y *Odontonema callistachyum* (Schltdl. & Cham.) Kuntze. Con base en la información obtenida en las entrevistas con los terapeutas mayas, se categorizó las plantas de mayor a menor importancia, tomando las más importantes según los terapeutas. A partir del proceso de selección de plantas, se hicieron los bioensayos con dos tipos de bacterias relacionadas a las afecciones que tratan las dos especies de plantas. Bajo los mismos criterios se hizo los bioensayos para medir la actividad antifúngica. Los resultados no son determinantes de la verdadera actividad antibacteriana y antifúngica de las plantas de uso terapéutico estudiadas debido a la presencia de contaminación biológica en el material vegetal, por lo que se requiere más estudios que establezcan su eficacia.

ABSTRACT

This research it's based on the knowledge and traditional use of plants for therapeutic use by traditional Maya Q'eqchi' therapists, members of the Association of Councils of Mayan Releb'aal Saq'e' Spiritual Guides (ACGERS) based in Poptún, Petén. For this, use is made of the ethnobotanical data obtained from the project "Green Health: Improving indigenous participation in mechanisms of Access and Shared Benefits of the Biological Diversity Agreement" in the area of influence of the Council, covering the departments of Izabal, Alta Verapaz and mainly the south of Petén. The antifungal and antibacterial effect of three traditional application methods is determined for *Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl. and *Odontonema callistachyum* (Schltdl. & Cham.) Kuntze. Based on the information obtained in the interviews with the Mayan therapists, the plants were categorized from most to least important, taking the most important according to the therapists. From the plant selection process, bioassays were made with two types of bacteria related to the conditions that the two plant species treat. Under the same criteria, bioassays were made to measure antifungal activity. The results are not determinative of the true antibacterial and antifungal activity of the therapeutic use plants studied due to the presence of biological contamination in the plant material, so more studies are required to establish their efficacy.

I. INTRODUCCIÓN

La etnobiología es la disciplina que une estudios etnocientíficos (etnobotánica, etnozooloía, etnoveterinaria, etnoecología, etnomedicina, etnoagroecología, etnometeorología o etnoedafología), que se enfocan en aspectos tanto biológicos como físicos y los que enfatizan en la cultura y la interrelación de todos ellos. Es una ciencia integradora e importante ya que toma en cuenta los conocimientos adquiridos de muchas generaciones dentro de los manejos de los ecosistemas (Pardo de Santayana, et al. 2012).

La etnobotánica es una disciplina derivada de la etnobiología que busca estudiar el lugar de las plantas en la cultura y la interacción directa de las personas con las plantas (Ford, 1978). Para lograr un estudio que comprenda la complejidad de la etnobotánica se necesita una perspectiva interdisciplinaria; al unir objetivos y metodologías de ciencias como la antropología, la etnografía, la botánica, la farmacología, la ecología o la toxicología y así obtener una comprensión profunda del fenómeno cultural estudiado. La mayor cantidad de estudios etnobotánicos se concentran en las propiedades farmacológicas de las plantas (Pardo de Santayana y Gómez Pellón, 2003).

Este trabajo busca evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica de *Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl. y *Odontonema callistachyum* (Schltdl. & Cham.) Kuntze. Las hojas secas de ambas plantas se usaron en métodos tradicionales de extracción, con el producto se hicieron bioensayos para determinar si existe algún tipo de inhibición contra bacterias y hongos relacionados a afecciones en la piel.

A. Antecedentes (Marco contextual)

La utilización de plantas como fuente medicinal, conocida como medicina herbaria/botánica, fitoterapia o fitomedicina, es la forma más antigua de atención médica que se ha conocido en la humanidad. La práctica de la medicina herbaria se basa en el uso terapéutico de las plantas como sustitutas de las medicinas farmacéuticas o en combinación. De las plantas, se usan sus extractos en diversas formas de preparación para mejorar el estado de salud. Según la OMS, los medicamentos herbarios toman en cuenta a las hierbas, material herbario, preparaciones y productos herbarios acabados, que contienen como principios activos partes de plantas u otros materiales vegetales, o combinaciones de esos elementos, y su uso está bien establecido y ampliamente reconocido como inocuo y eficaz (Gallegos Zurita, 2016).

De acuerdo con el Instituto de Investigación y Proyección sobre Ambiente Natural y Sociedad (Iarna-URL, 2011, 2018), en Guatemala pueden identificarse 16 zonas de vida, 14 ecorregiones, 10 regiones fisiográficas, 7 biomas y 66 ecosistemas (41 naturales y 25 intervenidos con actividades antropogénicas), por lo que el país cuenta con una gran diversidad de plantas y animales. Además, posee una gran diversidad cultural ya que en el país se encuentran 22 comunidades etnolingüísticas mayas, siendo las más representativas las etnias K'iche', Q'eqchi', Kaqchikel y Mam (PNUD 2005). Esto hace a Guatemala un centro enriquecido de estudio para la etnobotánica.

1. Plantas de uso terapéutico en Guatemala

El estudio de las plantas de uso terapéutico en la región data de 1552, con el título “*Libellus de medicinalibus indorum herbis*” (Figuroa, 1984). El cronista Fray Francisco Ximénez, en 1722, en su obra “Historia Natural del Reino de Guatemala” capítulos X y XI (De los árboles; De las flores) habla de 104 plantas mencionando datos sobre su uso. Hace mención del “palo de la vida” (*Smilax* sp.) y sus propiedades curativas, del “chilindrón” *Thevetia* sp. usado como contraveneno a mordeduras de serpientes venenosas y del “guayacán” *Guaiacum sanctum* contra el “mal gálico” y otras dolencias (Pöll, 2007).

En los siglos XIX y XX se presentan los primeros trabajos sobre plantas de uso terapéutico: “Dos plantas notables: Ixbut y Cibogio” (Molina, 1902); “Plantas de uso terapéutico propias y exóticas, de la flora médico-guatemalteca” (Roque, 1909); “Apuntes para la Flora Médica guatemalteca: el Vuélvete Loco y la Floripundia” (Tejeda, 1913). Entre los años 1960-1990 los estudios etnobotánicos tomaron auge, y con ello el conocimiento actual de la diversidad de plantas de uso terapéutico en Guatemala (Quezada, s.f.).

En 1991 Armando Cáceres, Blanca Samayoa y Ligia Fletes realizaron una investigación titulada “Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones”, este consistió en un tamizaje antibacteriano de 154 plantas seleccionadas por encuestas o revisión literaria usadas medicinalmente en Guatemala sobre infecciones de los sistemas digestivo, respiratorio y dérmico.

Otro estudio hecho en 2012 por Torres Hernández determinó el espectro de inhibición de extractos etanólicos de cinco plantas utilizadas popularmente en la población y que han demostrado actividad antimicrobiana preliminarmente: *Byrsonima crassifolia* (Nance), *Litsea guatemalensis* (Laurel), *Psidium guajava* (Guayaba), *Sambucus mexicana* (Sauco) y *Simarouba glauca* (Aceituno) sobre bacterias aisladas de muestras clínicas. La actividad antimicrobiana *in vitro* y el método de dilución para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM), se realizaron por medio de tamizaje propuesto por Mitscher y colaboradores. En el mismo año se evaluó la actividad inhibitoria *in vitro* de cinco especies del género *Vernonia* de uso popular en Guatemala contra cinco bacterias, una levadura y tres hongos para comprobar su actividad antibacteriana y antimicótica (Canel Monterroso, 2012).

También se han hecho análisis etnobotánicos y fitofarmacológicos donde se eligieron extractos de acetona y metanol de 73 especies de plantas de uso terapéutico comúnmente utilizadas por las comunidades rurales en Chiquimula, Guatemala, para bioensayos de dilución en micropocillos contra cuatro líneas de células cancerosas, cuatro bacterias patógenas y una levadura infecciosa. De las 73 especies examinadas, los extractos de 13 especies (17,8 %) dieron como resultado un nivel de inhibición del 60 % o más contra al menos una línea de células cancerosas (Cates, et al. 2013).

2. Proyecto *Green Health*

El proyecto “Green Health: Improving Indigenous Participation in the Nagoya Protocol 2019-2022 UVG/UCL” es una iniciativa con perspectiva transdisciplinaria que junta grupos indígenas por medio de la Asociación de Consejos de Guías Espirituales Releb’aal Saq’e’ (ACGERS), al gobierno, por medio del Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP), a la academia, con investigadoras expertas en antropología y botánica, de la Unidad de Antropología Médica del CES en la Universidad del Valle de Guatemala y la UCL School of Pharmacy y al sector privado, con el donante Darwin Initiative-Darwin Foundation y los socios internacionales: Indígena Biodiversity Limited y CITES International (ONU). Salud Verde investiga la biodiversidad en la etnomedicina y fitoterapia de forma colaborativa, por medio de estrategias que protegen el conocimiento y que se enfocan en aumentar el acceso, evaluar el potencial y determinar mecanismos que distribuyan los beneficios que permiten mejorar la salud y la prosperidad de poblaciones vulnerables y en condiciones de exclusión (CES, 2019).

Así mismo, el proyecto genera un lugar para el diálogo transdisciplinario con el propósito de que la protección a la biodiversidad esté asegurada y que además su acceso sea sostenible. Con la documentación del uso de plantas de uso terapéutico en tratamientos por terapeutas Maya Q’eqchi’ se busca crear protocolos de investigación que cumplan con el modelo ABS: acceso y participación en los beneficios. De esta manera se promueve la salud a poblaciones indígenas marginadas y protege la propiedad intelectual tradicional. El proyecto también es relevante dentro del contexto multicultural del país ya que genera herramientas para incurrir en políticas públicas sobre diversidad biológica y conocimiento tradicional (CES, 2019).

Los objetivos de Salud Verde se enfocan en contribuir al Convenio sobre Diversidad Biológica (CBD), artículos 10, 15 y 8-j. Al fomentar un marco de implementación del capital natural y el conocimiento tradicional basado en el uso sostenible, acceso y distribución de beneficios de las especies biológicas de Guatemala gracias al consenso e integración de grupos indígenas, gobierno, academia y la industria para mantener medios de vida saludables (CES, 2019).

El proyecto incide en la investigación botánica de plantas de uso terapéutico usadas y referidas por terapeutas del área Maya Q’eqchi’ para la protección, generación de evidencia, estudio y desarrollo de un jardín botánico a cargo del Consejo Q’eqchi’ donde la biodiversidad se mantenga sostenible y accesible a la población.

Esta investigación se centra en médicos tradicionales Q’eqchi’ de las tierras bajas y altas centrales de Petén, sitio que enfrenta el aumento en la pérdida de biodiversidad a costa de la urbanización, plantaciones de palma africana y ganado, además de otros departamentos como lo son Alta Verapaz e Izabal. Estas acciones generan un impacto negativo a los medios de vida de las poblaciones empobrecidas y vulnerables de la zona, las cuales dependen de la fitoterapia tradicional Maya (CES, 2019).

3. Uso de las plantas en el Consejo ACGERS

Esta investigación se centra en los usos terapéuticos de las plantas identificadas como *Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl. y *Odontonema callistachyum* (Schlecht. & Cham.) Kuntze registrados en el proyecto “Green Health”, las cuales son utilizadas para tratar afecciones relacionadas a la piel por los terapeutas Maya Q’eqchi’ pertenecientes al Consejo ACGERS.

A. aurantiaca se conoce como Xwa xul, Xb'ol chakmut, Jolom chakmut, K’ojal pim y May q’een en idioma Q’eqchi’. Se utiliza para mordedura de serpiente barba amarilla, enfermedades ponzoñosas, piquetes en el cuerpo, derrame facial, para curar granos, dolor por hinchazón, enrojecimiento, *rash* en la piel y para prevenir absceso muscular.

El nombre común en Q’eqchi’ de *O. callistachyum* es Rax q’een y/o Jolom Ipu’. Es usada para dolor en los huesos del pie (inflamación), ponzoña, enrojecimiento de piel, hechizo enviado (energético) y a veces para dolores de cabeza.

AVISO LEGAL: Con base en lo establecido en el código de Acceso y Distribución de Beneficios del Protocolo de Nagoya (ABS) para la defensa y promoción de los derechos sobre el conocimiento asociado a los pueblos indígenas se aclara que: los conocimientos tradicionales aquí mencionados y todos los resultados derivados de estos, pertenecen única y exclusivamente al Consejo de terapeutas tradicionales Q’eqchi’ Releb’aal Saq’e’ – ACGERS- bajo los acuerdos establecidos en el proyecto “Salud Verde”. Se solicita tomar las medidas necesarias para la obtención de los permisos correspondientes en caso se desee continuar con la investigación o utilizar la información aquí mencionada.

B. Justificación

En el caso de Guatemala, un estudio realizado por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) indica que “los recursos físicos y humanos para atender la salud se encuentran desigualmente distribuidos en el territorio nacional y se observa una menor concentración de esos recursos en los espacios territoriales con mayor pobreza”. Adicionalmente notificó que, aunque se haya implementado el Modelo Incluyente de Salud que buscaba brindar y tener alcance para toda la población del país, tomando en cuenta sus creencias y costumbres, no se puede asegurar que los sistemas biomédicos hayan incorporado las soluciones y les hayan dado continuidad con el fin de generar así más equidad en el acceso a salud (MSPAS, OPS Guatemala, 2016).

El proyecto fue eliminado debido a razones políticas (Álvarez, 2017), por lo que para acceder a servicios de salud, la medicina convencional, biomédica u occidental se sustituya con conocimientos tradicionales sobre plantas de uso terapéutico.

Para el caso de las poblaciones mayas en general (México y Guatemala) se ha demostrado que el uso de plantas de uso terapéutico es una práctica importante, y que en la medicina maya tradicional se emplean plantas comúnmente como parte de los tratamientos. El rol que se le ha dado a las plantas de uso terapéutico es debido a la cultura y tradición maya, sin embargo, su importancia podría radicar en factores sociales y étnicos que empujan al uso de sistemas alternativos como única opción al acceso a servicios de salud (Singer y Baer, 2012). Adicionalmente, se debe tomar en cuenta que estos sistemas alternativos atienden a comunidades de escasos recursos y donde los esfuerzos de salud estatal se encuentran de manera mínima o ausente.

Con base en lo anterior, el propósito del estudio es enriquecer la información sobre las plantas de uso terapéutico utilizadas por los terapeutas tradicionales Maya Q'eqchi' del Consejo ACGERS en Poptún, Petén, que colaboran en el proyecto Salud Verde de la Universidad del Valle de Guatemala y la Universidad de Londres UCL a través de la Darwin Initiative. El aporte principal de este trabajo de graduación es visibilizar el uso de las plantas de uso terapéutico como una alternativa a la medicina occidental y brindar nueva información fitofarmacológica.

En Guatemala los estudios sobre plantas de uso terapéutico abordan principalmente la parte descriptiva de los diversos usos en las comunidades Mayas, pero no se presenta una fase secuencial con descripciones fitofarmacológicas. Esta investigación es una extensión del Proyecto Salud Verde, con el que se pretende dar continuación a un proceso etnobotánico.

Debido a lo mencionado anteriormente, se busca comparar tres métodos de extracción tradicional: infusión, decocción y maceración de dos especies de plantas de uso tradicional terapéutico en la fitoterapia Maya Q'eqchi' para determinar cuál promueve una mayor actividad antibacteriana y antifúngica por medio de bioensayos.

C. Objetivos

1. Objetivo general

Comparar tres métodos de extracción tradicional en dos plantas de uso terapéutico [*Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl. y *Odontonema callistachyum* (Schltdl. & Cham.) Kuntze] utilizadas por los terapeutas tradicionales Maya- Q'eqchi' del Consejo ACGERS en Poptún, Petén.

2. Objetivos específicos

1. Determinar el efecto inhibitorio de bacterias de tres métodos de extracción tradicional de dos plantas de uso terapéutico.
2. Evaluar la actividad antifúngica de tres métodos de extracción tradicional de cada planta.
3. Identificar cuál método de aplicación tradicional aporta mayor actividad antibacteriana y antifúngica.

D. Hipótesis

Ha: Hay presencia de actividad antibacteriana y/o antifúngica en por lo menos una de las formas de preparación tradicional de cada planta (infusión, maceración o decocción).

Ho: No hay presencia de actividad antibacteriana y/o antifúngica en por lo menos una de las formas de preparación tradicional de cada planta (infusión, maceración o decocción).

E. Marco teórico

1. Familia Acanthaceae

La familia Acanthaceae, cuenta con alrededor de 4750 especies y 190 géneros, siendo una de las 12 familias de angiospermas más diversas en el mundo (Tripp y Fatimah 2012, Daniel y McDade 2014). En toda la región del Neotrópico, Acanthaceae posee una gran riqueza de especies, principalmente en México y Centro América (Tripp y Luján 2018).

Las plantas dentro de esta familia poseen flores conspicuas y un follaje llamativo. Son muy solicitadas en invernaderos, lo que les aporta un gran valor ornamental. Asimismo, Acanthaceae realiza un rol ecológico importante al contar con un rango amplio de adaptaciones ecológicas y formas florales para la polinización (Schmidt-Lebuhn et al. 2007, Daniel y Lott 2016).

Existen diversas investigaciones sobre los usos medicinales de las plantas pertenecientes a la familia Acanthaceae, sin embargo, no hay estudios de sensibilidad antimicrobiana para las especies de este estudio.

Se han reportado usos medicinales para tratar afecciones en la piel dentro de la familia Acanthaceae; *Andrographis paniculata* se usa para aliviar picaduras de insectos y reptiles venenosos (Muthu, et al. 2006). Las infusiones de hojas de *Asystasia schimperi*, *Dyschoriste radicans*, *Acanthus eminens*, *Dyschoriste thumbergiiflora*, *Lepidagathis scariosa* y *Thunbergia alata* se utilizan para la tos, enfermedades de la piel, heridas, infecciones oculares, antidiarreicos, edemas, neumonía y dolor de espalda. La pasta de hojas de *Barberia grandicalyx* se usa para las mordeduras de serpientes (Jeruto, et al. 2008). De *Blepharis maderaspatensis* se toman las hojas y se mezclan con bulbos de cebolla, formando una pasta que sirve para cortes y heridas. Las hojas de *Justicia tranquebariensi* se usa para mordeduras venenosas (Sandhya, et al. 2006).

En relación con la actividad antibacteriana se sabe que el extracto acuoso de *Andrographis paniculata* posee una actividad antibacteriana significativa contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* en comparación con algunos antibióticos conocidos (Singha, Roy y Dey, 2003).

Los reportes de estas plantas respaldan la idea que existe actividad antimicrobiana en la familia, por lo que es altamente probable que *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callystachyum* tengan una respuesta similar ante los microorganismos.

2. *Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl.

Esta planta es común dentro de los bosques mixtos, húmedos o muy húmedos. Se puede encontrar hasta los 1.300 m sobre el nivel del mar, pero generalmente está a 350m o menos. Su ubicación va desde el sur de México hasta la costa atlántica de Panamá y el norte de América del Sur. Común en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, Huehuetenango y Petén (Nash y Williams, 1976).

Descripción botánica: Hierbas erectas, a veces sufrutescentes, generalmente sin ramificar, a veces de un metro de alto pero generalmente la mitad de alto, glabras o casi glabras excepto en la inflorescencia; hojas cortas-pecioladas, las láminas lanceoladas a elípticas, en su mayoría de 10-30 cm. de largo y 3,5-8 cm. ancha, aguda o acuminada, aguda en la base o entera; inflorescencias terminales; espigas solitarias, en su mayoría de 6-23 cm. de largo, muy densamente florecido; brácteas verdes, adpresas, ovado-lanceoladas, acuminadas, pectinadas-dentadas, finamente puberulentas o glabras, de 2-3 cm. de largo y hasta 1 cm. amplio; bractéolas y segmentos del cáliz lanceolados tardíos, puberulentos, ciliados, el cáliz 8-12 mm. largo; corola amarillo-naranja a rojizo-naranja, puberulenta por fuera, de 5-6 cm. de largo, el labio superior erecto, agudo, entero, el labio inferior trilobulado, los lóbulos laterales la mitad del largo del medio; cápsula 12-15 mm. de largo, puberulentas, conteniendo de 2 a 4 semillas escasamente pubescentes. Estas plantas varían mucho en tamaño, algunas de ellas florecen cuando solo tienen 15 cm. Alto (Nash y Williams, 1976).

Anteriormente se hizo una evaluación fitoquímica de las hojas y tallos por medio del aislamiento e identificación de compuestos: una cumarina (escopoletina), cuatro flavonoides (crisina, eucaliptina, nevadensina y gnafalina) y ácido p-cumárico que se encontró con un éster de glucosa (Bratoeff y Pérez-Amador, 1994). Las cumarinas son importantes dentro de la química medicinal ya que presentan actividad para ser usadas como antimicrobianos, bactericidas, antifúngicos, antioxidantes, antitumorales, retrovirales, antisépticos, analgésicos, antiinflamatorios y en medicamentos para tratar hipertensión, arritmia y osteoporosis (Detsi, Kontogiorgis, y Hadjipavlou-Litina, 2017).

En Panamá *A. aurantiaca* es utilizada en infusión para mujeres antes del alumbramiento (Joly, et al, 1987). Las hojas frescas en México son utilizadas para tratar la dismenorrea, menorrea, hemorragia entre menstruación (Browner, 1985). En Las Guayanas usan la planta contra el tabaquismo (González, 2013).

3. *Odontonema callistachyum* (Schlecht. & Cham.) Kuntze

Planta que puede encontrarse en matorrales húmedos o húmedos y bosques mixtos. Está entre los 75 a 2.800 metros sobre el nivel del mar. Su distribución está desde el Sur de México a Panamá. En Guatemala se encuentra en los departamentos de Alta Verapaz, Chimaltenango, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Izabal, El Progreso, Quetzaltenango, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez, Totonicapán y Petén (Nash y Williams, 1976).

Descripción botánica: Arbustos delgados, usualmente erectos, ocasionalmente subescandentes, comúnmente de 1-2 m. de altura, rara vez a 4 o 5 m.; generalmente escasamente ramificado, las ramas teretes o oscuramente tetrágonas, pubescentes o glabras; hojas en pecíolos cortos, las hojas superiores a veces sésiles, las láminas ovado-oblongas, lanceoladas, elípticas u obovadas oblongas, en su mayoría de 8-30 cm. de largo, 4-14 cm. anchas, acuminadas a largamente acuminadas, agudas o atenuadas en la base, rara vez bruscamente contraídas y decurrentes en el pecíolo, más o menos pubescentes o cortovellosas en los nervios o casi glabras; inflorescencias pedunculadas, simples y racemiformes o a veces con ramas ascendentes y tornándose paniculadas, los racimos a menudo muy alargados y superando a las hojas, generalmente más o menos interrumpidos,

el raquis generalmente pubescente o puberulento, raramente casi glabro; flores pediceladas, generalmente 2 o más en un fascículo sésil, pero a veces dispuestas en címulos pedunculados, los pedúnculos de 2-10 mm. largo; brácteas generalmente estrechamente triangulares o subuladas, carinadas, a menudo cuspidadas, cilioladas, generalmente de 2-4 mm. de largo, rara vez las brácteas involucrales más externas alcanzan los 6-8 mm. largo; lóbulos del cáliz 2-5 mm. de largo, lanza-subulado, ciliolado, a menudo teñido de rojo o púrpura; corola generalmente roja o púrpura, a veces rosada, lavanda o rojo salmón pálido, rara vez beige con lóbulos lavanda, 1.5-2.8 cm. de largo, los lóbulos 4-6 mm. de largo, redondeado en el ápice y generalmente ciliolado; estambres de las flores cortas estilo casi igualando la corola; las de las flores longistilas mucho más cortas; anteras 2-3 mm. largo; cápsula de unos 2 cm. de largo, glabras, conteniendo 4 semillas más o menos verrugosas, lenticulares (Nash y Williams, 1976).

Para el género *Odontonema* se han hecho varios estudios sobre sus características medicinales; Las hojas de *Odontonema tubiforme* (Bertol.) Kuntze son utilizadas por los indígenas como antiinflamatorio y para inducir el parto (Caballero-George y Gupta, 2011). Los extractos acuosos de las hojas de *Odontonema strictum* se utilizan en Burkina Faso para el tratamiento de la hipertensión (SERME, 2001).

Investigadores de África central han evaluado la actividad antibacteriana de la especie *O. strictum* (hojas) utilizando cinco cepas bacterianas (*Klebsiella*, *Shigela*, *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*). Los resultados mostraron que *O. strictum* es cuatro veces más bactericida que el antibiótico estándar en *Klebsiella* (Luhata, et al. 2015). Se encontró que la concentración inhibitoria mínima (MIC) de estigmasterol, uno de los fitoesteroides antibacterianos aislados de *O. strictum* en *Staphylococcus aureus*, (cepas microbianas predominantes que ocurren en pacientes con heridas infectadas) oscilaban entre 1,84 y 3,68 mg/ ml. La actividad total mostró claramente que la cantidad de estigmasterol contenida en 1 g de extracto vegetal se puede diluir 12,63 veces y todavía podrá inhibir el crecimiento de *Staphylococcus aureus* (Luhata y Cheuka, 2021).

Para el caso específico de *Odontonema callistachyum* se sabe que las hojas molidas y el tallo se aplican sobre heridas abiertas para curarlas en la Sierra Mazateca en México (Giovannini y Heinrich, 2009).

4. Métodos de extracción

Los productos obtenidos de las plantas suelen poseer gran variedad de sustancias potencialmente terapéuticas, dichas sustancias son llamadas productos bioactivos. En base a la especie y la parte de la planta de la que provienen, los productos bioactivos se presentan en diferentes proporciones, purezas y concentraciones, así como la época del año en que se cultivó y se recolectó (López Naranjo, 2013).

Una extracción se refiere a la separación de una mezcla de sustancias por medio de una disolución de cada componente, en donde por medio de uno o varios disolventes, se obtienen al menos dos componentes: la solución extraída en su disolvente y el residuo. Al mezclar el material vegetal con el líquido de extracción se pasa a disolver las sustancias a las que el disolvente puede llegar sin problema. Por medio de la trituración del material vegetal se destruye mecánicamente varias células, ayudando al disolvente en la disolución

mientras ocurre la difusión celular (Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, 2013).

5. Soluciones extractivas

Se constituyen de principios activos solubles contenidos en material vegetal o animales, que son separados del residuo de la extracción (residuos inactivos) por medio de la acción del disolvente. Es importante separar los residuos ya que contiene los principios inactivos que son fácilmente alterables y afectan la conservación de la solución (Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, 2013).

6. Bacterias

La piel constituye el órgano más grande del cuerpo, al estar todo el tiempo en contacto con el exterior se expone a diversos microorganismos, dentro de ellos están las bacterias. A pesar de esto, la piel intacta y sana es suficiente para contrarrestar posibles invasiones y sólo se infecta bajo condiciones que alteren la barrera cutánea y la flora normal de la piel, ya que esto ayuda a la colonización e infección con bacterias patógenas (Roth y James, 1989).

Las infecciones cutáneas causadas por bacterias conforman un gran grupo de cuadros clínicos de diferentes etiologías, patogenias y pronósticos. Las enfermedades pueden encontrarse en la epidermis, dermis o tejido celular subcutáneo. Dependiendo de la capacidad invasiva de las bacterias la posibilidad de generar una infección varía, los medios para que ocurra una infección son medidos con la colonización de un tejido, proliferación e invasión, lo cual depende de la capacidad de adherirse a células epiteliales y de escapar a la fagocitosis de las células inflamatorias del huésped. La adhesión celular ocurre de manera más frecuente cuando las bacterias están recubiertas de adhesinas microbianas; moléculas que se unen específicamente a diferentes glucoproteínas y gangliósidos de la membrana citoplasmática de las células epiteliales (Ochaita, 2003).

a. *Escherichia coli*

Escherichia coli pertenece a la familia Enterobacteriaceae, de la tribu Escherichia. Este bacilo Gram-negativo coloniza el intestino del hombre momentos después del nacimiento, habitando la flora intestinal sin ningún problema. Sin embargo, hay cepas que pueden ser patógenas y provocar distintos cuadros clínicos, como la diarrea (Rodríguez Ángeles, 2002).

La foliculitis es una enfermedad que afecta al folículo pilosebáceo, se presenta como la presencia de un sólido punto planteado en la piel que es de menos de un centímetro de ancho en el orificio folicular. Ocurre en regiones de la piel donde hay mucho pelo, como el cuero cabelludo, el mentón, la parte superior del tronco, axilas, nalgas, región inguinal y muslos (Wolff, et al. 2008). Esta enfermedad suele ser causada por gramnegativos como *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* (pústulas pequeñas) y *Proteus* (nódulos y quistes) (Sánchez-Saldaña y Sáenz-Anduaga, 2006).

Las infecciones urinarias son comúnmente producidas por *Escherichia coli*, y al haber un impedimento en el tracto urinario, la infección urinaria se puede complicar con el surgimiento de bacteriemia, es decir, la presencia de bacterias en el torrente sanguíneo. Las infecciones bacterianas sistémicas, así como las bacteriemias, pueden resultar en manifestaciones cutáneas (Córdoba López, Monterrubio Villar y Alzugaray Fraga, 2002).

b. *Staphylococcus aureus*

La característica más sobresaliente de los estafilococos son las agrupaciones parecidas a racimos de uva (Harris, Foster y Richards R, 2002). El género *Staphylococcus* posee una alta capacidad de adaptación, dándole ventaja para infectar mamíferos. Además, su fácil propagación les permite transmitirse de una especie a otra, haciendo frecuentes los casos de humano-animales o viceversa (Fox, et al. 2007).

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram-positiva que pertenece al grupo de los estafilococos, el diámetro de estas bacterias varía desde 0.5 a 1.5 micras, es β hemolítico, catalasa y coagulasa positivo. La bacteria se encuentra normalmente en la flora de la piel en los humanos, en la zona nasofaríngea, en pliegues inguinales y en las axilas (Pasachova Garzón, Ramirez Martinez y Muñoz Molina, 2019).

Referente a las patologías que provoca *Staphylococcus aureus*, las enfermedades de la piel y tejidos blandos son las principales. Las IPTB (Infecciones de piel y tejidos blandos) se refiere a cambios inflamatorios en la epidermis, dermis, tejido subcutáneo, fascia profunda o músculo que son producidos por un microorganismo infeccioso (Lozano, et al. 2011). Dichas infecciones se deben a la ruptura del equilibrio entre el hospedero, los microorganismos que se encuentran en la piel y el ambiente (Bassetti, et al. 2014).

Las infecciones por *S. aureus* ocurren en: neonatos, niños y adultos que portan el microorganismo generalmente en fosas nasales, en la piel y ropa. A partir de estos lugares colonizados por *S. aureus*, la bacteria es capaz de transmitirse a otras áreas en la piel o las membranas mucosas, ya que es un patógeno oportunista y puede llegar al tejido provocando una lesión local. Gracias a su versatilidad, es la responsable de enfermedades de amplio espectro: bacteriemia, infecciones del sistema nervioso central, osteomielitis, infecciones del tracto respiratorio, infecciones del tracto urinario y síndrome de choque tóxico (Lowy, 1998).

7. Hongos

El Reino Fungi cuenta con más de 250.000 especies conocidas, estos organismos existen en diferentes formas y tamaños, pero todos son eucariotes (Solomon, Vilee & Davis, 1987). Los hongos más conocidos con las especies grandes, donde se encuentran los champiñones, que a pesar de ser comestibles tienen una gran similitud con los mohos negros que crecen en el pan viejo y los tizones que descomponen las cortinas y las telas húmedas. Sin embargo, la mayoría de los hongos son pequeños, a escala microscópica y de apariencia filamentosa, ramificada y sin clorofila. Sus paredes celulares se componen de quitinas y glucanos, dentro de una matriz de polisacáridos y glicoproteínas (Agrios, 1992).

Se reproducen por medio de esporas producidas por mecanismos sexuales o asexuales y las hifas generan enzimas sobre el sustrato que permiten la hidrólisis de los nutrientes, que, al ser transformados a material soluble, son absorbidos y transportados en la membrana para usarse en procesos metabólicos del crecimiento y desarrollo del hongo (Isaac, 1992). Alrededor de 100.000 especies de hongos son saprofitos, es decir, viven en organismos muertos y ayudan a su descomposición. Más de 50 especies causan enfermedades en los humanos y muchos más provocan patologías en los animales (Garcés de Granada, *et. al.*, 2003).

Las infecciones fúngicas en la piel son enfermedades que no implican riesgo para la vida del paciente; el calor, la humedad y una higiene deficiente son las responsables de incidencias en este tipo de micosis (Granada, 2002). Las micosis se dividen en tres grupos: Superficiales, subcutáneas y profundas o sistémicas (Sánchez, Matos y Kumakawa, 2009). Las micosis superficiales son la patología con más incidencia en Dermatología. Se producen por dos grupos de hongos: las levaduras y los dermatofitos. El primer tipo se da por alteraciones en la microbiota, lo que promueve una proliferación del hongo. Las segundas son infecciones exógenas conocidas como tiñas y son contagiadas por transmisión de un animal a otro (Gubelin, de la Parra y Giesen, 2011).

a. *Candida tropicalis*

Es un hongo que pertenece al filo Ascomycota y se reproduce de forma asexual por gemación. *Candida tropicalis* tiene una morfología redonda u ovalada con un diámetro de 2-10µm. Produce pigmentos coloreados en los medios de cultivo, de color rojo, rosa o naranja. Es dimórfico, formando blastoconidios unicelulares. Se reproduce por gemación unipolar o bipolar. Los brotes de blastoconidios se forman en tallos, que tienen forma de aguja. Los brotes son pigmentados y septados que forman pseudohifas (Kothavade, et al. 2010).

Candida tropicalis es una de las especies de *Candida* más comunes que colonizan al huésped humano causando infecciones patógenas en la piel humana, en el tracto gastrointestinal y también en el tracto genitourinario femenino. El modo de transmisión más común es la transmisión nosocomial entre los trabajadores de la salud y los pacientes. El hongo, que se encuentra predominantemente en pacientes inmunocomprometidos con VIH/SIDA, cáncer, leucemia, trasplante de órganos, causa una infección fúngica conocida como candidiasis en varios sistemas de órganos del cuerpo (Kothavade, et al. 2010).

Este hongo causa diferentes tipos de infecciones, clasificadas en dos grupos: mucosas y sistémicas. Las infecciones mucosas ocurren normalmente en mujeres como candidiasis vulvovaginal (aftas). Se calcula que un 75% de mujeres adultas experimenta una vez en su vida esta infección. También está el caso de la colonización en la cavidad oral (candidiasis oral) que se da en los recién nacidos y en la vejez (De Bedout y Gómez, 2010).

En el caso de la infección sistémica o candidiasis diseminada, sucede cuando un paciente está inmunocomprometido a causa de inmunosupresores, quimioterapia o neutroterapia, por lo que *C. tropicalis* invade tejidos y entra en el torrente sanguíneo. La invasión de este hongo en las paredes del intestino por medio de úlceras o heridas es un medio para el inicio de la candidiasis (De Bedout y Gómez, 2010).

En el caso específico de la candidiasis cutánea, se da en áreas del cuerpo que se mantienen húmedas o tibias en donde dos superficies de piel se frotan o se presionan entre sí, provocando una inflamación en los pliegues de la piel (axilas, muslos, etc.) Las causas suelen ser el calor, la humedad, la obesidad y la diabetes. El cuadro clínico incluye piel eritematosa, macerada, pruriginosa y dolor. En algunas ocasiones se presentan áreas con vesículo-pústulas satélite, o sea, placas eritematoescamosas con bordes sobrepasan el área del pañal (Palacios, Gómez y Cardona, 2011).

La candidiasis cutánea es una infección oportunista que surge, en la mayoría de los casos, de blastosporas de *Candida* endógenas saprofitas que colonizan selectivamente el epitelio oral, gastrointestinal, vaginal y cutáneo. *Candida albicans* ha sido considerada como el agente causal más común en las infecciones fúngicas humanas. Sin embargo, otras especies de *Candida* se han convertido en una causa importante de infección, entre ellas *Candida tropicalis* y *Candida krusei* (*Issatchenkia orientalis*) (Guarana y Nucci, M, 2018, Sanz Santaefemia, et al. 2015).

8. Bioensayos

Actualmente, las investigaciones se enfocan en terapias alternas por medio del uso de extractos microbianos, plantas, aceites esenciales, metabolitos secundarios y nuevas moléculas sintetizadas con potencial antimicrobiano (Nazzaro *et al.*, 2013). Existen diferentes métodos de laboratorio para evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* de un extracto o un compuesto puro; bioensayos con la difusión en disco, la difusión de pozos y la dilución en caldo o en agar. Su popularidad es gracias a que no se necesita equipo especializado y una evaluación extra para su reproducción y estandarización (Balouri *et al.*, 2015).

Un bioensayo se refiere al uso de un organismo vivo como un agente de prueba para determinar la presencia o concentración de un compuesto químico o un efecto ambiental. La importancia de este tipo de experimentación se debe a que es un método de detección simple y que puede usarse para monitorear causas y efectos de tipo ambiental y farmacológico. A pesar de que los métodos analíticos son refinados para la evaluación de un nivel o concentración de compuesto o causa de daño, sus datos no indican el efecto biológico al ecosistema u organismo de prueba (Correa-Díaz, 2006).

a. Método de Kirby-Bauer

Es un antibiograma (estudio de la sensibilidad a fármacos de bacterias y hongos) disco-placa utilizado para la determinación de sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El método consiste en colocar en la superficie de agar de una placa Petri anteriormente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante empapado con diferentes antibióticos. Cuando los discos entran en contacto con la superficie del agar, el filtro absorbe el agua y el antibiótico se dispersa en el agar radialmente por medio del espesor del agar a través del disco, haciendo que se forme un gradiente de concentración. Al pasar 18-24 horas de incubación, los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas es llamada “concentración crítica” y se acerca a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por los métodos de dilución (García, et al. 2000).

Este método se usa cuando está aislada una bacteria u hongo responsable de un proceso infeccioso y no puede predecirse su sensibilidad, puntualmente si es de conocimiento general que dicho microorganismo puede presentar resistencia a los antibióticos más comunes. Estas pruebas de sensibilidad sirven en estudios epidemiológicos ya que el resultado se considera como el primer marcador epidemiológico del que se dispone. El método disco-placa es fácil de realizar debido a su rapidez y bajo presupuesto. La metodología puede aplicarse a una gran variedad de bacterias como a las pertenecientes a Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* spp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter* spp., *Staphylococcus* spp. y *Enterococcus* spp. (García, et al. 2000).

III. MARCO METODOLÓGICO

A. Área de estudio

Poptún es un municipio de Petén que cuenta con una extensión de 1,716 kilómetros cuadrados. Está ubicado en la región sur del departamento, limita al norte con el municipio de Dolores, al sur con San Luis, al oeste con Sayaxché y al este con el territorio de Belice. La temperatura alcanza una máxima de 32° y una mínima de 10°, con clima ambiental de 30°. Los meses con mayor temperatura son de marzo a junio, y los más lluviosos de julio a octubre. Posee una humedad relativa de 90%, con precipitaciones en un rango de 1,500 a 2,000 milímetros de agua. Cuenta con alturas de 400 a 600 msnm (Batres Granados, et al. 2017).

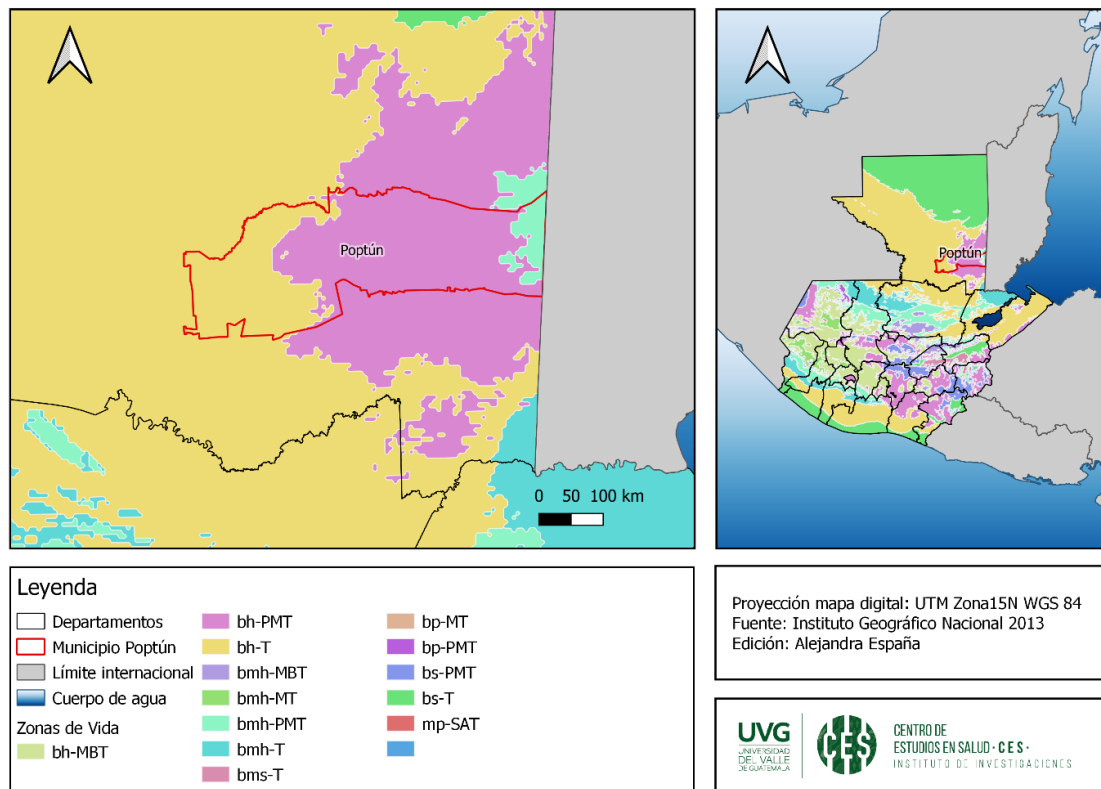


Figura 1. Mapa de las zonas de vida del municipio de Poptún, Petén.

B. Selección de plantas de uso terapéutico

Por medio de entrevistas sistematizadas con los terapeutas Maya Q'eqhí que forman parte del Consejo ACGERS se obtuvo la información sobre las plantas, las afecciones que tratan y la dosis utilizada durante la fase de campo del proyecto Salud Verde de la Unidad de Antropología Médica del Centro de Estudios en Salud de la Universidad del Valle de Guatemala. Se generó un listado etnobotánico y posteriormente se realizó un taller participativo que consistió en presentar el listado de plantas utilizadas por los mismos terapeutas y en divididos en grupos, se les solicitó que valoraran cada planta de menor a mayor uso o importancia para ellos en una escala de 1 a 3: 3 muy importante, 2 medianamente importante y 1, no tan importante. para ser incluidas en el vivero del Consejo.

Las plantas con mayor valor de importancia se escogieron con los siguientes criterios: (I) plantas con recetas completas (II) plantas de fácil acceso, es decir, que tuvieran disponibilidad en las comunidades del municipio de Poptún o estuvieran en el vivero perteneciente al Consejo ACGERS.

1. Colecta de material

De las dos plantas elegidas se colectaron aproximadamente dos libras de tejido específico usado por los terapeutas: hojas (jóvenes y adultas). Se obtuvieron del vivero del Consejo ACGERS y de áreas indicadas por los terapeutas. Cada especie fue almacenada en bolsas de colecta y transportadas en hielera de Petén a la Ciudad de Guatemala. Fueron limpiadas y secadas en un horno a aproximadamente 40-50°C durante una semana.

2. Preparación de recetas tradicionales

Las recetas tradicionales se elaboraron tomando distintos tipos de preparaciones tradicionales para tratamientos las especificaciones de los terapeutas entrevistados (infusiones, decocciones, maceraciones).

Se redujo a polvo el material vegetal.

Infusión: Se vierte 5 g de material vegetal en el agua caliente hasta el punto de ebullición, tapando y dejando en maceración durante unos 3-5 minutos. Después se cuela y la solución resultante con papel filtro (López Luengo, 2002).

Maceración: Se prepara colocando 5 g de material vegetal en un recipiente opaco con la cantidad de agua necesaria a temperatura ambiente. Se deja reposar en un lugar fresco y oscuro por 12 horas. Pasado este tiempo se cuela el líquido resultante con papel filtro (López Luengo, 2002).

Decocción: sobre 5 g de material vegetal seco y reducido a polvo se agregaron 100 ml de agua destilada hirviendo manteniéndose a ebullición suave durante 5 min. El extracto obtenido fue esterilizado por filtración (Davicino, et al. 2007).

Extracto etanólico: a 5 g de material vegetal seco y reducido a polvo se le adicionaron 100 ml de etanol al 96% dejando a temperatura ambiente durante 12 h. El extracto obtenido fue filtrado a través de papel filtro (Davicino, et al. 2007).

Las preparaciones fueron hechas una semana antes de ser utilizadas y se almacenó a 4°C.

C. Bioensayos

1. Efecto inhibitorio de bacterias

a. Cultivo de bacterias

Se utilizarán bacterias provenientes del cepario de la Universidad del Valle de Guatemala. Se tomó la muestra de las bacterias de una colonia aislada.

Para la preparación del cultivo, con un asa bacteriológica, se picará una colonia del cultivo a evaluar, se transferirá a un tubo cónico estéril con 3.5 mL de caldo tripticasa soya y se incubarán a 36°C durante toda la noche (overnight) en incubadora con agitación constante. A partir de cada cultivo, se preparará una dilución según estándar 0.5 McFarland agregando solución salina estéril al 0.9%, con esto se asegurará que el número de bacterias llegaran a un rango establecido (625nm).

b. Preparación de medio de cultivo (Müller-Hinton)

Suspender 37 g del polvo Müller-Hinton en 500 mL de agua purificada. Se dejó embeber de 10 a 15 minutos y luego se calentó con agitación frecuente, hirviendo durante 1 minuto para disolución total. Luego se esterilizó a 121°C durante 15 minutos en autoclave. Después de enfriar a 45°-50°C, se distribuyó en placas de Petri estériles, en volumen apropiado para que el espesor sea de aproximadamente 4 mm (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009).

c. Ensayo por difusión en agar (Método Kirby-Bauer)

Se prepararán discos de papel filtro nitrato de celulosa estériles agregando 10 µL de los extractos.

Para la evaluación del efecto inhibitorio se tomarán como base las metodologías de Cates et al. (2013) y Rojas et al. (2005). En cajas Petri con agar Müller-Hinton se inocularán 100 µL del cultivo diluido de la bacteria correspondiente y se distribuirá homogéneamente con aplicadores de plástico estériles. Se hará triplicado por cada bacteria y planta.

2. Efecto inhibitorio de hongos

a. Cultivo de hongos

Se utilizarán cepas de hongos provenientes del cepario de la Universidad del Valle de Guatemala.

Los hongos se cultivarán en agar extracto de levadura-peptona-dextrosa (YPD), después de los días necesarios para la especie (aprox. 2 días) serán cosechados y suspendidos en solución estéril de cloruro de sodio 0,9% p/p. Se estandarizó la concentración del inóculo en 0.5 unidades según el patrón de McFarland, por medio de un espectrofotómetro (Rojas, García y López, 2005).

b. Ensayo por difusión en agar

Se hará el frotis sobre cada una de la superficie del agar extracto de levadura-peptona-dextrosa (YPD). Luego se verterán 10 µL de cada uno de los extractos y controles en cada uno de los discos de papel filtro de nitrato de celulosa estéril, por triplicado y se colocarán sobre las superficies de cada agar. Las placas se incubarán invertidas a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas. Después se medirán los halos de inhibición (Prado y Rizzo, 2011).

Cuadro 1. Tratamientos para evaluación del efecto inhibitorio por planta

| Tratamiento | Sustancia |
|-------------------------|--------------------------------------|
| Control negativo acuoso | Agua destilada |
| Control positivo | Antibiótico/antifúngico comercial |
| Extracto etanólico | Preparación con etanol al 95% |
| Infusión | Preparación tradicional de la planta |
| Decocción | Preparación tradicional de la planta |
| Maceración | Preparación tradicional de la planta |

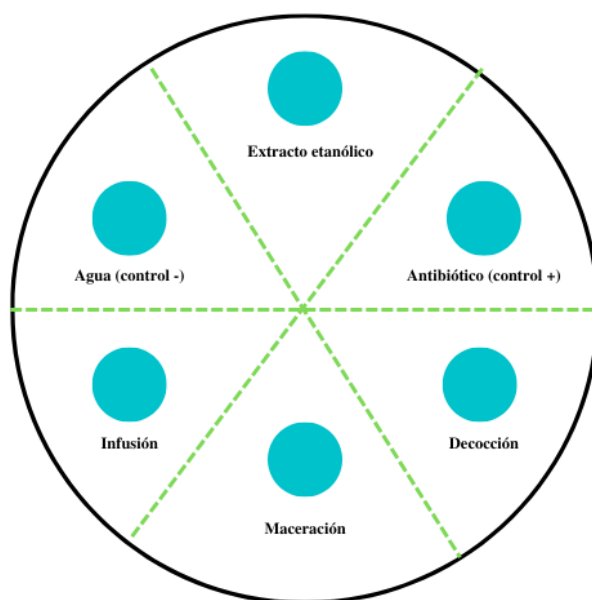


Figura 2. Diagrama de caja Petri para prueba de actividad antimicrobiana.

3. Pruebas de crecimiento microbiano

a. Extractos obtenidos de plantas

En cajas Petri se colocaron medios de cultivo Müller-Hinton y YPD. Se agregó 10 μ L de cada extracto utilizado en los bioensayos sobre círculos de papel filtro estéril. Se incubó durante 18h a 35°C y se observó el crecimiento de microorganismos (hongos y bacterias) presentes en cada extracto.

b. Secadores

Con hisopo estéril se raspó la superficie de las paredes y estantes de los secadores donde se deshidrataron las hojas de ambas plantas estudiadas. El hisopo se raspó inmediatamente después en cajas Petri con medios de cultivo Müller-Hinton y YPD. Se incubó por 18h a 35°C y se observó crecimiento microbiano.

4. Ensayos en medio líquido (Trypticasa de soya)

En tubos de ensayo de 10mL se colocó 1mL de caldo tripticasa de soya y la misma cantidad de extracto. Se agregaron 100 µL de las cepas a ensayar. Para el control positivo se agregó 100 µL de antibiótico. Cada planta contó con cuatro tubos solo de medio y extracto, cuatro tubos con medio, extracto y bacteria, cuatro tubos con medio, extracto, bacteria y antibiótico. Para control el ensayo también contó con cuatro tubos en los que se agregó las cepas utilizadas (*E.coli*, *S.aureus*, *C.tropicalis* y *C.krusei*) en los ensayos y el medio de tripticasa de soya.

Todos los tubos se incubaron por 18h a 35°C y se realizó la lectura de densidad a 600nm (OD 600) en un espectrofotómetro para determinar si el crecimiento de la bacteria aumentó o disminuyó con los extractos.

5. Desinfección de material vegetal

En 100mL de agua estéril se agregaron tres gramos de metil-4-hidroxibenzoato (antimicótico). Con la solución se realizó un lavado del material vegetal de *Aphelandra aurantiaca*, dejando reposar las hojas por cinco minutos. Posteriormente se hizo un lavado con agua estéril para eliminar el resto de antimicótico y se procedió a hacer las extracciones.

IV. RESULTADOS

La Unidad de Antropología Médica de la Universidad del Valle de Guatemala dentro del proyecto “Salud Verde” logró documentar 102 especies de plantas usadas por médicos tradicionales Q’eqchi’s de Petén, Alta Verapaz e Izabal de las cuales se mencionan 253 especímenes con distintas aplicaciones terapéuticas.

Para realizar la valoración se tomó en cuenta la importancia y frecuencia de uso por un grupo de terapeutas tradicionales del Consejo ACGERS, con una escala de 0 a 9, siendo especies más importantes aquellas con un valor más elevado. Este listado fue compartido a los médicos tradicionales del Consejo ACGERS para evaluar la disponibilidad de material vegetal.

Del listado resultante se seleccionaron *Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl. y *Odontonema callistachyum* (Schltdl. & Cham.) Kuntze para realizar las recetas de aplicación tradicionales y los bioensayos de actividad antibacteriana y antifúngica.

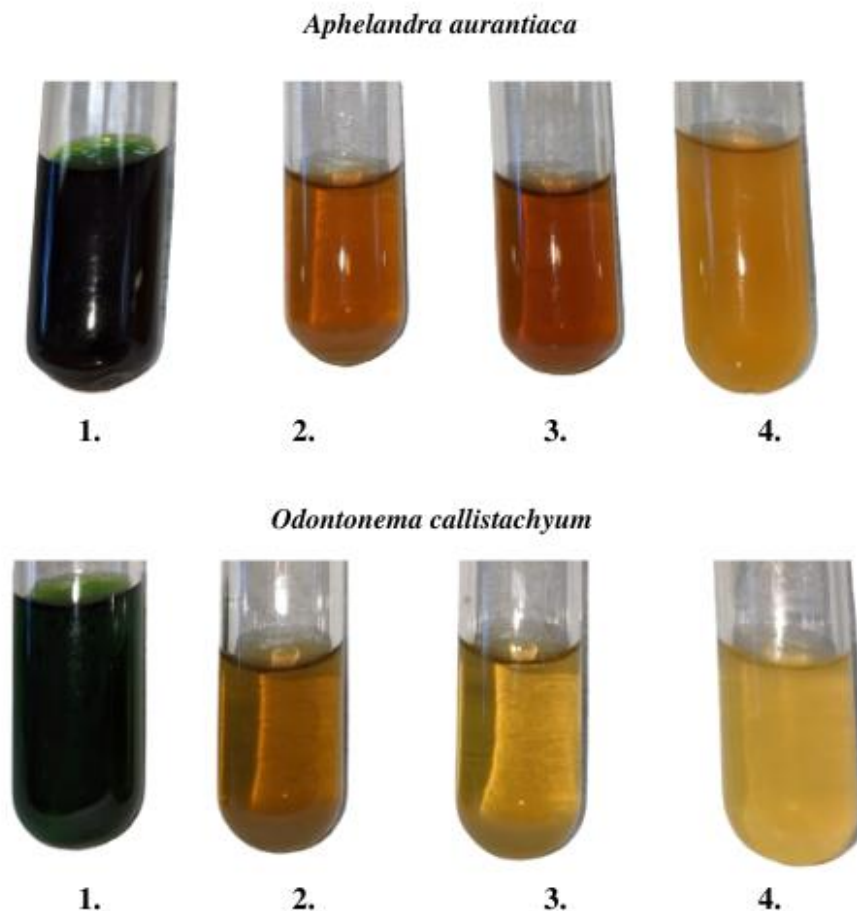


Figura 3. Extracciones vegetales de *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callistachyum* obtenidas por medio de las siguientes metodologías: (1) Extracción etanólica, (2) Decocción, (3) Infusión, (4) Maceración.

La apariencia de los extractos es cualitativamente diferente para cada método utilizado, lo que sugiere que podrían potenciarse diferentes metabolitos secundarios y responder de forma distinta a los microorganismos.

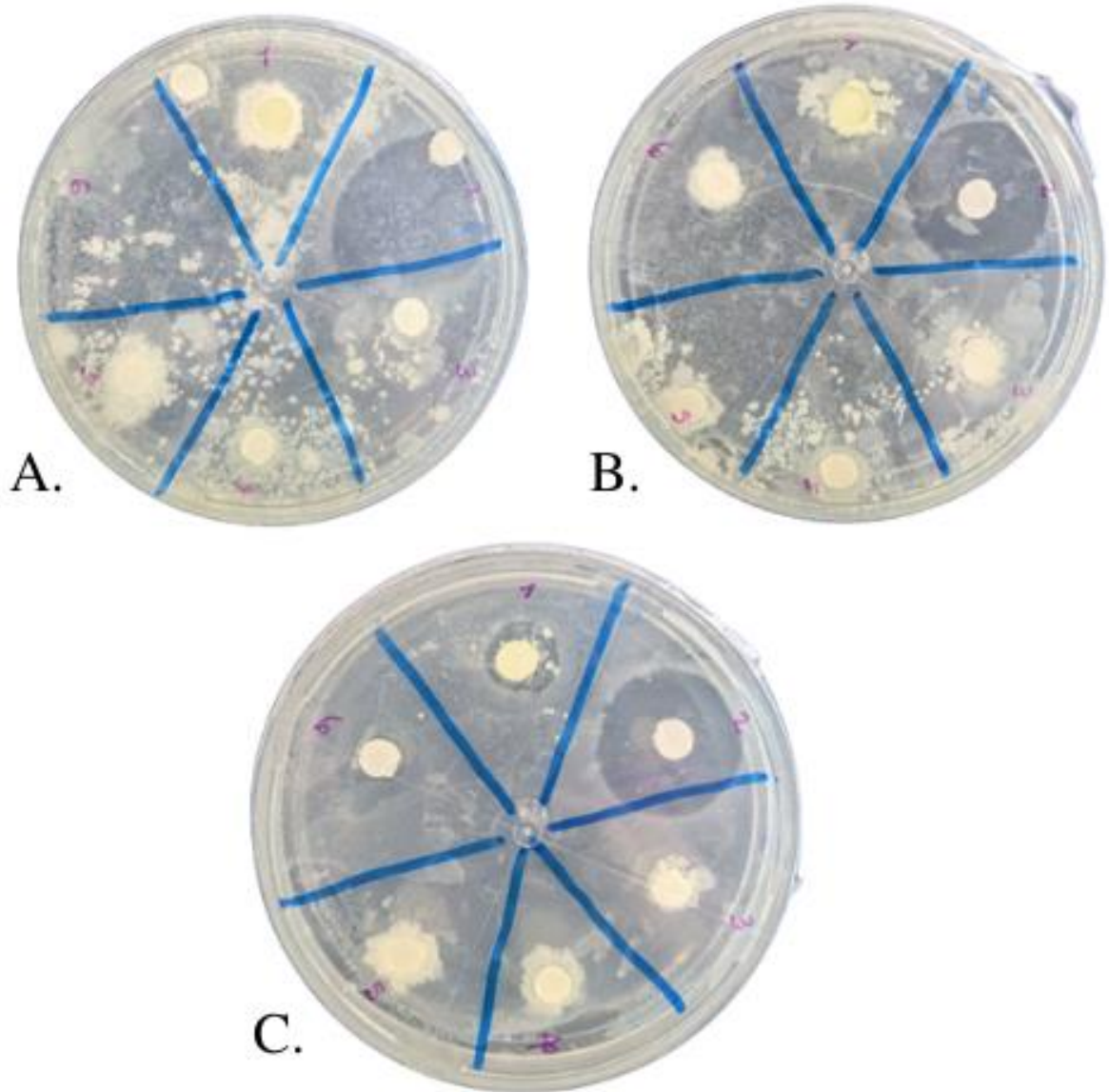


Figura 4. Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de *Aphelandra aurantiaca* frente a una cepa de *E. coli*. (1) Agua, (2) Antibiótico, (3) Decocción, (4) Maceración, (5) Infusión, (6) Extracto etanólico.

En todos los casos se observa contaminación por un hongo. En las tres réplicas, las extracciones obtenidas por métodos tradicionales (infusión, decocción y maceración) no mostraron efecto inhibitorio.

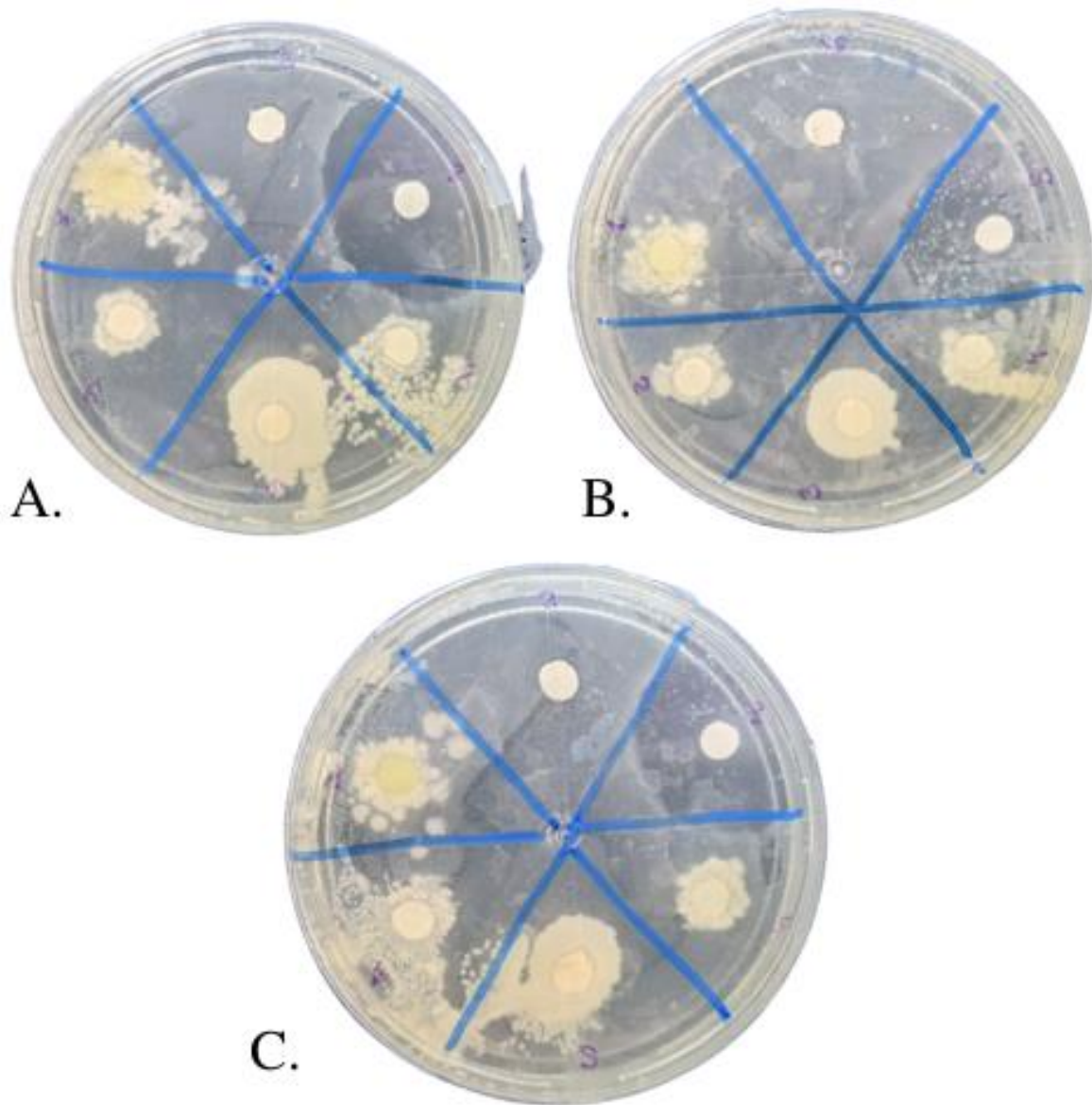


Figura 5. Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de *Odontonema callistachyum* frente a una cepa de *E. coli*. (1) Agua, (2) Antibiótico, (3) Decocción, (4) Maceración, (5) Infusión, (6) Extracto etanólico.

En todos los casos se observa contaminación por un hongo. En las tres réplicas, las extracciones obtenidas por métodos tradicionales (infusión, decocción y maceración) no mostraron efecto inhibitorio.

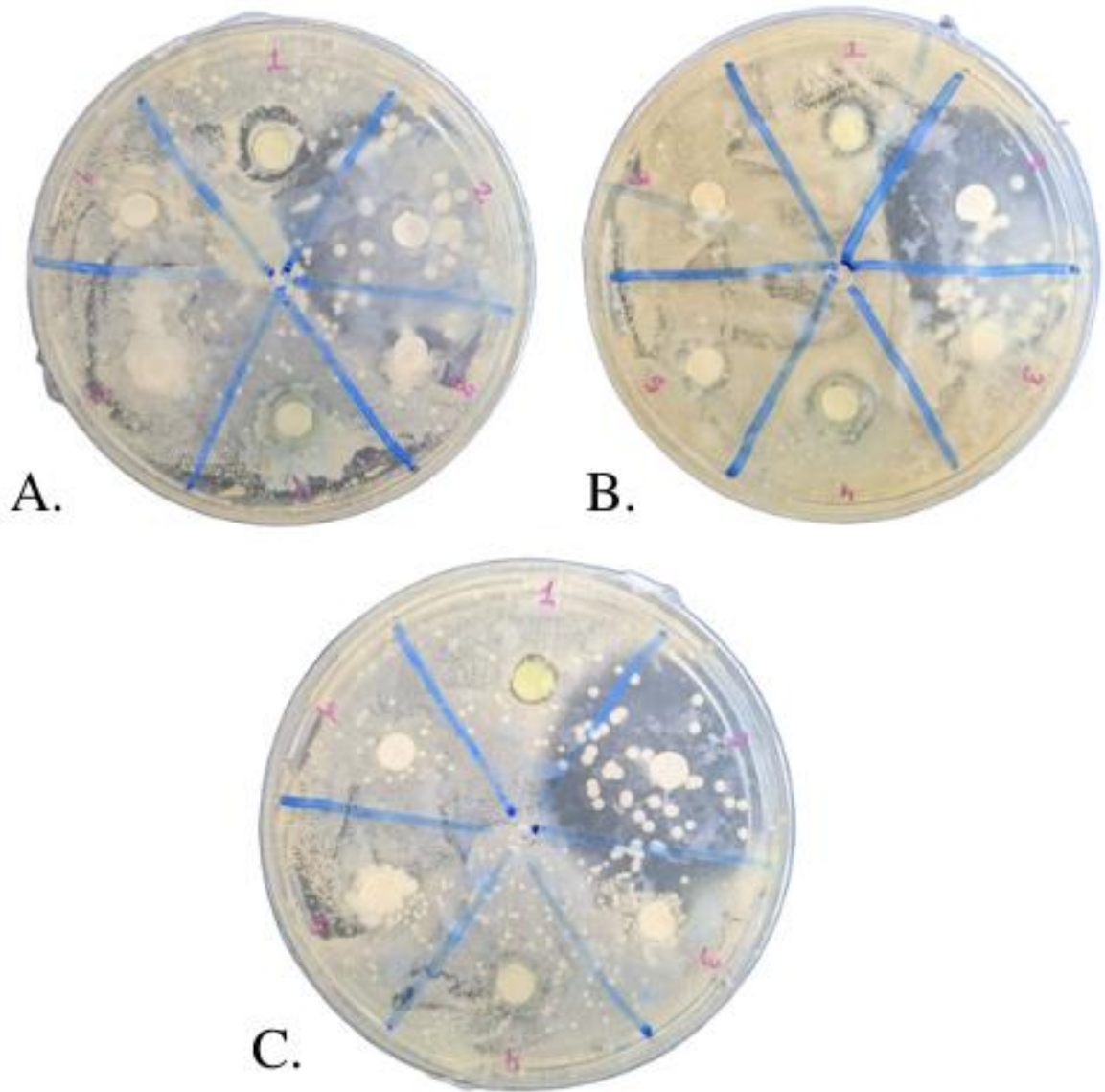


Figura 6. Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de *Aphelandra aurantiaca* frente a una cepa de *S. aureus* (1) Agua, (2) Antibiótico, (3) Decocción, (4) Maceración, (5) Infusión, (6) Extracto etanólico.

En todos los casos se observa contaminación. En las tres réplicas, las extracciones obtenidas por métodos tradicionales (infusión, decocción y maceración) no mostraron efecto inhibitorio.

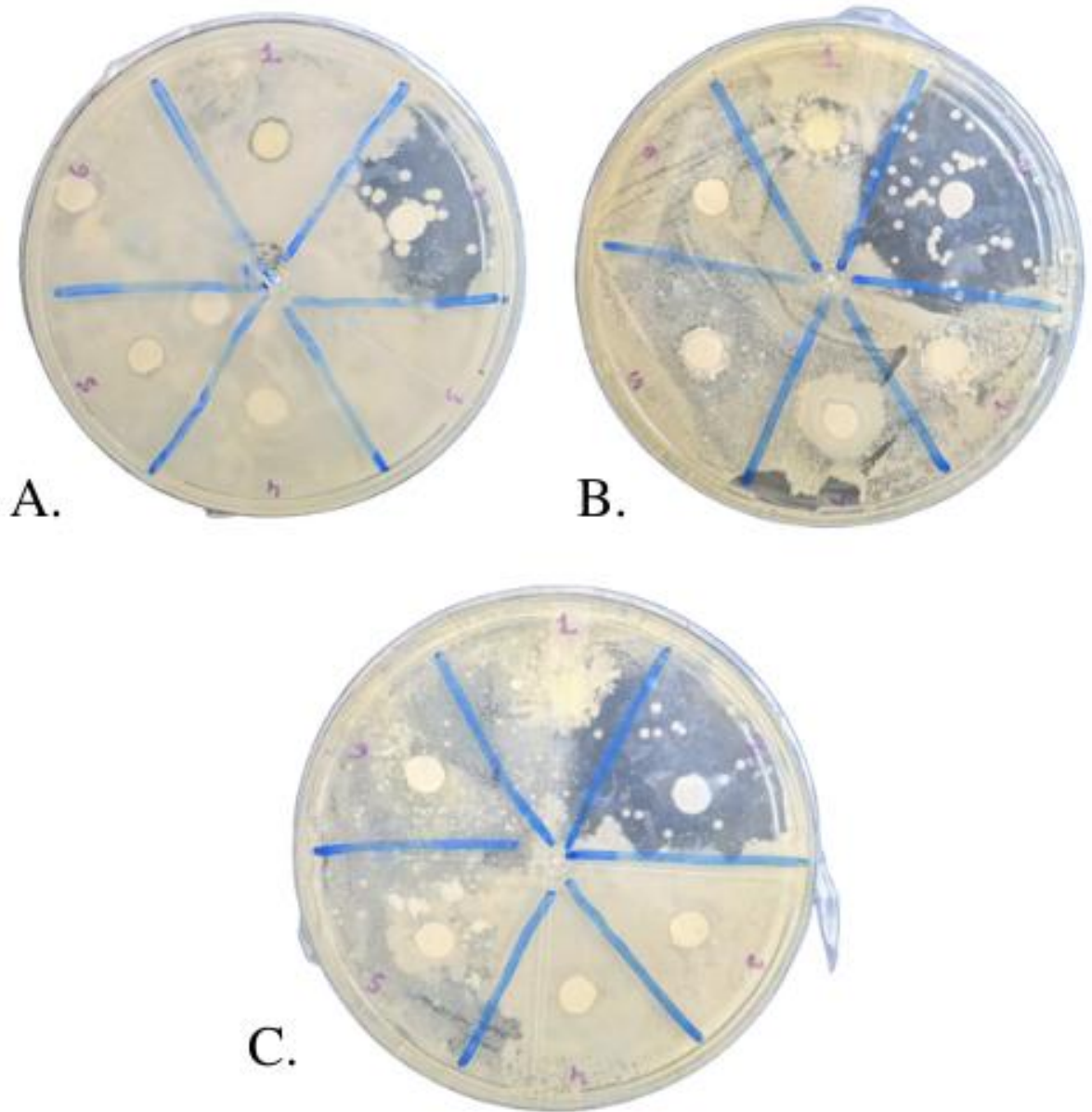


Figura 7. Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de *Odontonema callistachyum* frente a una cepa de *S.aureus* (1) Agua, (2) Antibiótico, (3) Decocción, (4) Maceración, (5) Infusión, (6) Extracto etanólico.

En todos los casos se observa contaminación por hongos y bacterias externas a las cepas ensayadas. En las tres réplicas, las extracciones obtenidas por métodos tradicionales (infusión, decocción y maceración) no mostraron efecto inhibitorio.

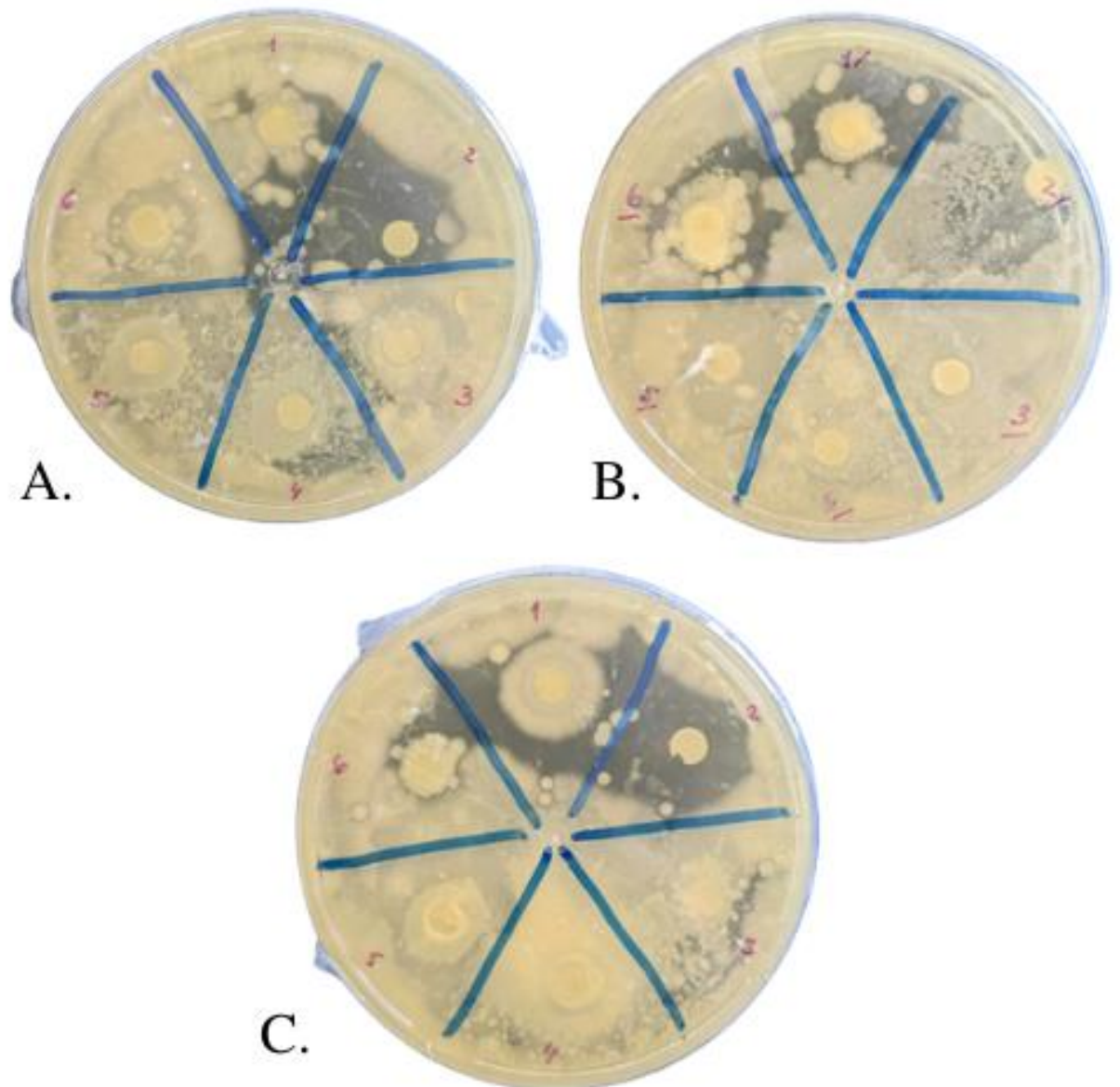


Figura 8. Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de *Aphelandra aurantiaca* frente a una cepa de *C.tropicalis* (1) Agua, (2) Antibiótico, (3) Decocción, (4) Maceración, (5) Infusión, (6) Extracto etanólico.

En todos los casos se observa contaminación. En las tres réplicas, las extracciones obtenidas por métodos tradicionales (infusión, decocción y maceración) no mostraron efecto inhibitorio.

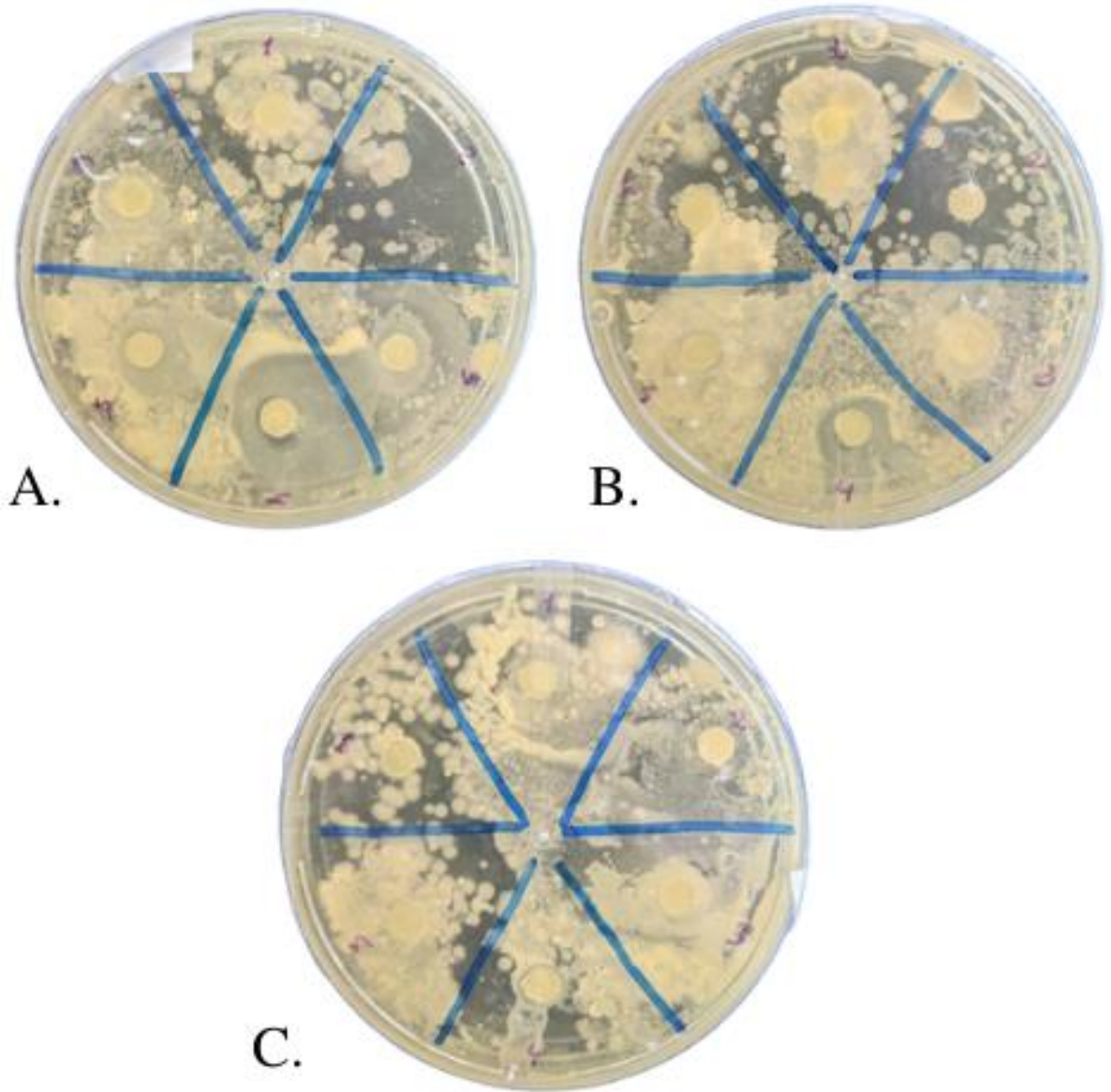


Figura 9. Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de *Odontonema callistachyum* frente a una cepa de *C. tropicalis* (1) Agua, (2) Antibiótico, (3) Decocción, (4) Maceración, (5) Infusión, (6) Extracto etanólico.

En todos los casos se observa crecimiento de diversas colonias de hongos y bacterias externas a las cepas ensayadas. En las tres réplicas, las extracciones obtenidas por métodos tradicionales (infusión, decocción y maceración) no mostraron efecto inhibitorio.

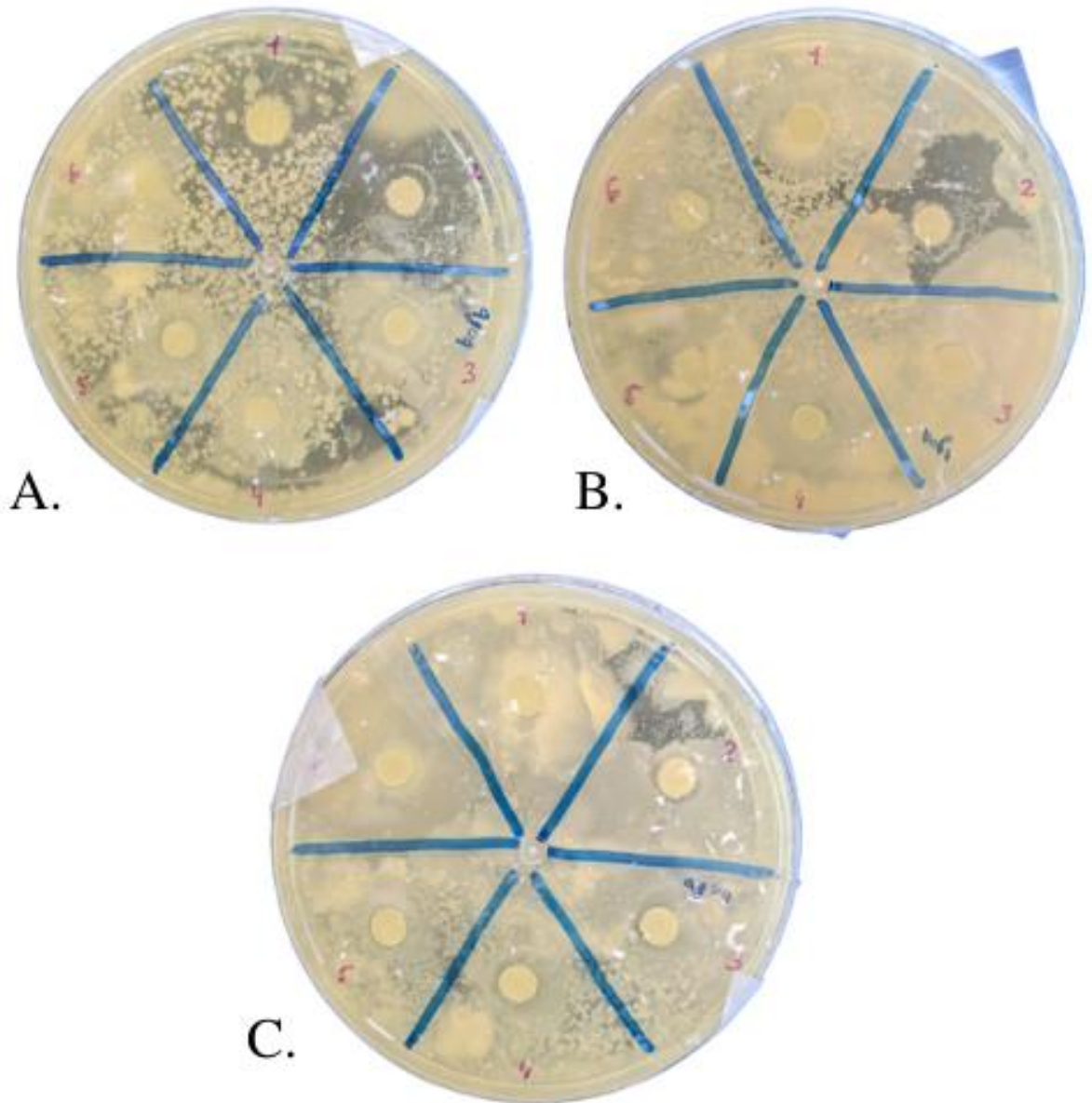


Figura 10. Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de *Aphelandra aurantiaca* frente a una cepa de *C.krusei* (1) Agua, (2) Antibiótico, (3) Decocción, (4) Maceración, (5) Infusión, (6) Extracto etanólico.

En los agares se observa un crecimiento denso de hongo. En las tres réplicas, las extracciones obtenidas por métodos tradicionales (infusión, decocción y maceración) no mostraron efecto inhibitorio.

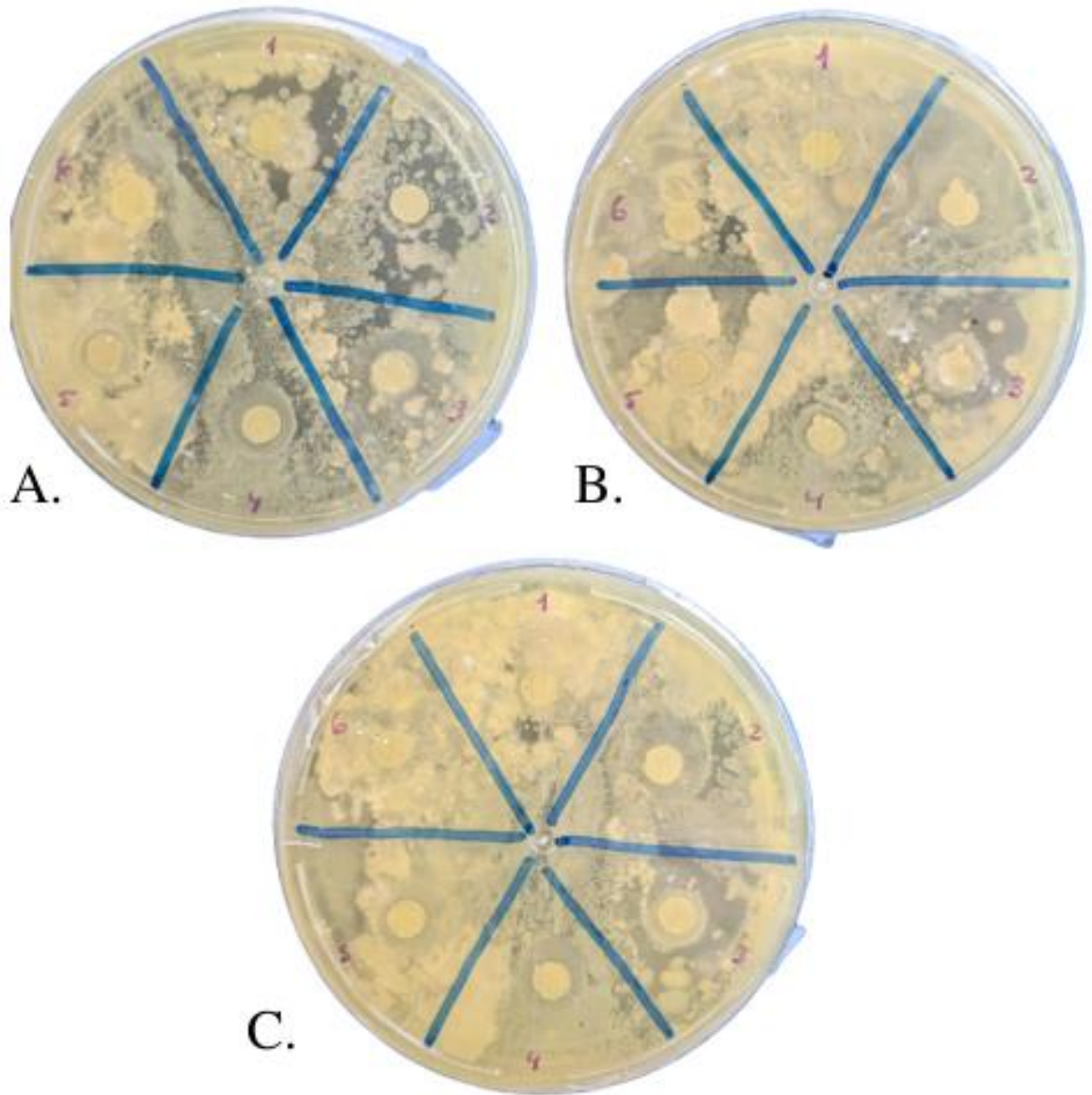


Figura 11. Actividad antimicrobiana (método Kirby-Bauer) del extracto de *Odontonema callistachyum* frente a una cepa de *C. krusei* (1) Agua, (2) Antibiótico, (3) Decocción, (4) Maceración, (5) Infusión, (6) Extracto etanólico.

En todos los casos se observa crecimiento de diversas colonias de hongos y bacterias externas a las cepas ensayadas. En las tres réplicas, las extracciones obtenidas por métodos tradicionales (infusión, decocción y maceración) no mostraron efecto inhibitorio.

Debido a la persistente contaminación de hongos y bacterias en los bioensayos se procedió a realizar una prueba de las extracciones sin incluir las cepas que se ensayaron.

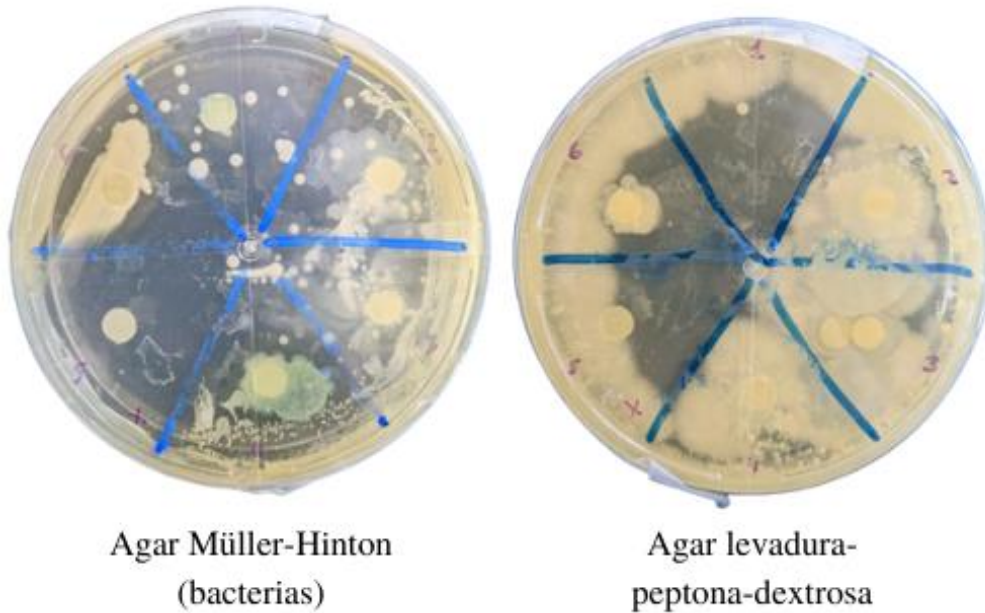


Figura 12. Prueba de extracciones de *Aphelandra aurantiaca* en agar Müller-Hinton (bacterias) y agar YPD (hongos) (1) Agua, (2) Antibiótico, (3) Decocción, (4) Maceración, (5) Infusión, (6) Extracto etanólico.

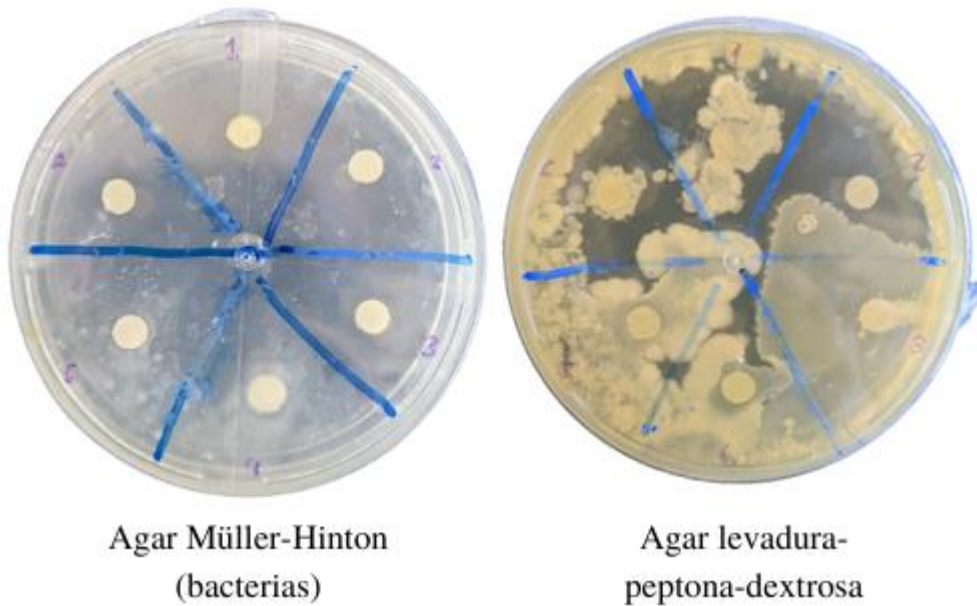


Figura 13. Prueba de extracciones de *Odontonema callistachyum* en agar Müller-Hinton (bacterias) y agar YPD (hongos) (1) Agua, (2) Antibiótico, (3) Decocción, (4) Maceración, (5) Infusión, (6) Extracto etanólico.

Las pruebas indican que los microorganismos responsables de la contaminación en los ensayos se encuentran en los extractos obtenidos del material vegetal de ambas plantas.

Para determinar el foco de infección de las plantas, se llevó a cabo un muestreo de las paredes y ambiente de los secadores donde se deshidrataron las hojas tanto de *Aphelandra aurantiaca* como de *Odontonema callistachyum*.

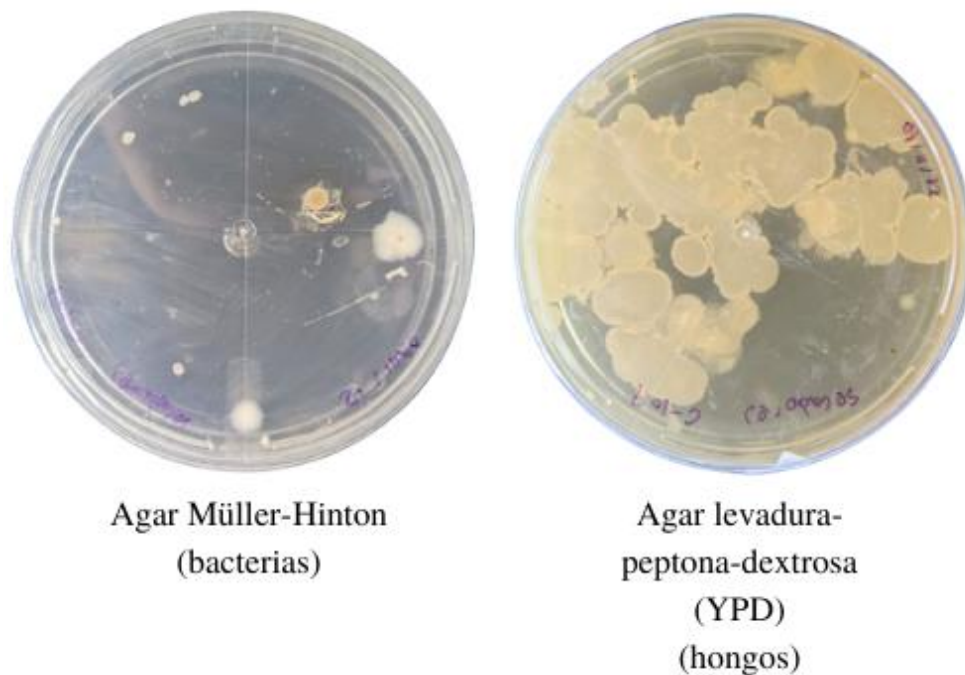


Figura 14. Prueba de crecimiento de microorganismos con muestra de paredes del secador del aula C-107 de la Universidad del Valle de Guatemala.

Se produjo un crecimiento de colonias desconocidas en el agar Müller-Hinton y de hongos desconocidos en el agar YPD. La apariencia de las colonias de hongos presentes es cualitativamente similar a los hongos contaminantes en los bioensayos.

Debido a que los resultados obtenidos de los ensayos Kirby-Bauer son poco concluyentes con respecto a la actividad antibacteriana y antifúngica de las plantas se hicieron ensayos en medio líquido de tripticasa de soya.

Cuadro 2. Densidades ópticas a 600nm (OD 600) de los ensayos de cuatro cepas (*E. coli*, *S. aureus*, *C. tropicalis* y *C. krusei*) en medio tripticasa de soya para los extractos tradicionales de *Aphelandra aurantiaca*.

| Bioensayo | OD 600 | | | |
|----------------------|------------|------------|----------|-----------|
| | Solo medio | Maceración | Infusión | Decocción |
| <i>E. coli</i> | 1.445 | *** | 0.706 | 0.691 |
| <i>S. aureus</i> | 2.553 | 1.974 | 1.079 | 1.255 |
| <i>C. tropicalis</i> | 0.849 | 1.379 | 0.71 | 0.623 |
| <i>C. krusei</i> | 1.17 | 2.161 | 1.054 | 0.661 |

*** indica una densidad muy alta para poder ser leído por el espectrofotómetro.

Los resultados anteriores describen una disminución de densidad para los ensayos con infusión y decocción. En el caso de la maceración solo presenta una disminución para *C. tropicalis*, para el resto de los organismos su densidad es más alta que la lectura del crecimiento solo con el medio de tripticasa de soya.

Cuadro 3. Densidades ópticas a 600nm (OD 600) de los ensayos de cuatro cepas (*E. coli*, *S. aureus*, *C. tropicalis* y *C. krusei*) en medio tripticasa de soya para los extractos tradicionales de *Odontonema callistachyum*.

| Bioensayo | OD 600 | | | |
|----------------------|------------|------------|----------|-----------|
| | Solo medio | Maceración | Infusión | Decocción |
| <i>E. coli</i> | 1.445 | *** | 2.303 | 1.475 |
| <i>S. aureus</i> | 2.553 | *** | 2.047 | *** |
| <i>C. tropicalis</i> | 0.849 | 2.075 | *** | 2.222 |
| <i>C. krusei</i> | 1.17 | *** | 1.549 | 2.246 |

*** indica una densidad muy alta para poder ser leído por el espectrofotómetro.

Para el caso de *O. callistachyum* se presenta una disminución únicamente en la infusión con el ensayo de *S. aureus*. Se muestra un aumento de densidad en el resto de los casos, con seis lecturas que sobrepasaron la capacidad del espectrofotómetro para poder ser leídas en OD 600.

V. DISCUSIÓN

A. Documentación del conocimiento tradicional

1. Plantas de uso fitoterapéutico en el Consejo ACGERS

Como resultado de la priorización de las plantas de uso terapéutico por parte de los terapeutas tradicionales se obtuvo un listado de 40 especies. Dentro de Salud Verde se considera como las plantas con mayor importancia para el tratamiento de afecciones en la comunidad Maya Q'eqchi' pertenecientes al Consejo ACGERS. La importancia de esta información se refleja en la amplia variedad de usos medicinales que se les otorgan a las plantas del listado, desde enfermedades fisiológicas hasta sanaciones espirituales.

2. Visibilización del conocimiento tradicional

Del listado de las plantas más importantes se llevó a cabo una revisión bibliográfica para obtener información previa sobre sus usos medicinales, sin embargo, muchas de las especies no contaban con investigaciones previas que describieran sus características medicinales. En general, la falta de datos sobre las propiedades curativas de las plantas de uso fitoterapéutico en comunidades mayas son resultado de un marco histórico complejo y falta de apoyo al conocimiento tradicional.

Esta investigación se enfocó en las propiedades antibacterianas y antifúngicas de *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callistachyum* con el motivo de aportar más información al proyecto Salud Verde y visibilizar el conocimiento tradicional del Consejo ACGERS.

B. Contaminación biológica

Dentro de los contaminantes biológicos se encuentran las bacterias, los mohos, levaduras, virus, algas, protozoos, invertebrados, lo cual facilita la contaminación cruzada por otras líneas celulares. La contaminación por microorganismos se propaga por medios físicos; al usar pipetas destapadas, manipulación y uso inadecuados de reactivos no estériles, compartir medios y reactivos, derrame accidental o contacto anormal con un objeto inanimado. También puede contaminarse al contacto de directo o indirecto con las manos. En cualquier laboratorio existe la vulnerabilidad de contaminarse biológicamente, los microorganismos transportados por aire pueden transferirse fácilmente, ingresar y crecer más que las células en el cultivo y/o ensayo. La presencia de estos contaminantes biológicos se debe a una alta carga microbiana y que además no se siguen buenas prácticas en el cultivo (Mahmoudabadi, 2007).

Las extracciones contienen los compuestos bioactivos que sirven en procesos terapéuticos, pero también cuentan con nutrientes esenciales para que otros organismos vivos puedan alimentarse, tal es el caso de los hongos y bacterias descomponedores o parásitos oportunistas (Deveau, et al. 2018). Las plantas que pertenecen en Acanthaceae tienen un rol ecológico como polinizadores; mariposas, abejas, colibríes, polillas, murciélagos y algunas aves se alimentan de su polen y néctar. Distintas especies de plantas de la familia pueden ser usadas como bioindicadores para señalar la distribución espacial de comunidades vegetales (Fongod, Modjenpa y Veranso, 2013). Debido a esto se sugiere

que las extracciones obtenidas de *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callistachyum* pueden contener nutrientes que propicien el crecimiento de microorganismos y promover su crecimiento.

Al realizar los ensayos los resultados indicaron contaminación biológica por bacterias y hongos, por lo tanto, se llevó a cabo una prueba de las extracciones (Figura 13) que confirmó la presencia de contaminantes. Con el objetivo de hacer ensayos con material vegetal no contaminado se pretendió conseguir nuevas hojas de las plantas, no obstante, la disponibilidad de las plantas en este estudio fue limitada debido a razones de tiempo, presupuesto y accesibilidad, pues las utilizadas por los médicos mayas del Consejo ACGERS se encuentran en el departamento de Petén, y la investigación fue realizada en el departamento de Guatemala.

Con el propósito de repetir los ensayos a partir de nuevas hojas se obtuvo *Odontonema callistachyum* proveniente del departamento de Amatitlán. *Aphelandra aurantiaca* no logró colectarse en departamentos aledaños debido a que crece en alturas más bajas, por lo que el material vegetal del que ya se disponía se desinfectó con metil-4-hidroxibenzoato (antimicótico) antes de realizar nuevas extracciones. En el caso de *A. aurantiaca* persistió la contaminación, pues el antimicótico usado estaba vencido y a pesar de usarse una cantidad más alta, no fue lo suficientemente efectivo para eliminar los hongos contaminantes. El material vegetal de *O. callistachyum* era de un área distinta, pero volvió a presentarse la contaminación, por lo que se estableció como posible fuente de infección el equipo utilizado para secar las hojas.

El secador utilizado en este estudio consiste en una caja de madera, en la base están colocados dos focos de luz y una repisa de madera en la que se coloca el material que desea secarse. Este secador se encuentra dentro de una mega aula de la Universidad del Valle de Guatemala en la que se reciben laboratorios, clases y otras actividades más. Su uso es de libre acceso, por lo que suele ser utilizado para las clases de biología, secando muestras de hongos, tierra y plantas. Debido a su constante uso antes de colocar las hojas de *A. aurantiaca* y *O. callistachyum* se desinfectó con etanol 70% sobre las superficie de la repisa y paredes de la caja. A pesar de la desinfección, durante los bioensayos prevaleció la contaminación de hongos y bacterias externas, por lo que se llevó a cabo un muestreo de las paredes del secador. En la Figura 14 se observa un crecimiento de colonias de bacterias desconocidas, igualmente crecieron colonias de hongos muy similares cualitativamente a las colonias que se presentan en los ensayos Kirby-Bauer, por lo que se determinó que el secador es el foco de infección del material vegetal, afectando los resultados de todo el estudio.

C. Evaluación de actividad inhibitoria de bacterias y hongos: Bioensayos

El efecto inhibitorio de *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callistachyum* no es posible de concluir con las pruebas realizadas en esta investigación ya que los resultados presentan contaminación biológica, sin embargo, el proceso demuestra puntos importantes a tomar en cuenta para estudios futuros.

1. Ensayo Kirby-Bauer

Los resultados de los ensayos de discos de difusión Kirby-Bauer (Figura 4-11) son inconclusos debido a la presencia de hongos y bacterias externas indefinidas a las cepas utilizadas para los bioensayos. En cada una de las pruebas (*E.coli*, *S.aureus*, *C. tropicalis* y *C.krusei*) la contaminación persistió, por lo que fue necesario aplicar una nueva metodología de ensayo para eliminar posibles fuentes de contaminación.

2. Ensayo en medio líquido tripticasa de soya

En los resultados del Cuadro 2, se observa una disminución de densidad óptica (turbidez) de las bacterias y hongos expuestos a las extracciones de *Aphelandra aurantiaca* que se obtuvieron a partir de agua caliente. La infusión se obtiene agregando agua hirviendo a las hojas, mientras que la decocción, embebiendo las hojas en agua hirviendo por aproximadamente tres minutos. En el caso de la maceración, que se realiza en frío, solo se percibió una disminución de la turbidez para *S. aureus*, en los demás casos aumentó la presencia de los microorganismos. Con estos resultados se comprueba que el agua hirviendo es una forma eficaz para eliminar bacterias y hongos no deseados.

Históricamente el agua es uno de los medios de esterilización más usados debido a que el agua puede alcanzar altas temperaturas, su aplicación a objetos y líquidos es relativamente sencilla por medio de vapor o en contacto directo con el agua (Clavell y Pedrique de Aulacio, 1992). Para la infusión y decocción de las hojas de *Aphelandra aurantiaca* el agua hirviendo fue clave para poder eliminar posibles organismos vivos invasores presentes en el material vegetal, en contraste, los resultados de *Odontonema callistachyum* (Cuadro 3) indican que las extracciones de la planta no fueron capaces de inhibir actividad bacteriana o fúngica ni siquiera en infusión o decocción. Es posible que esto se deba a que el material vegetal de *A. aurantiaca* fue previamente desinfectado con antimicótico, y a pesar de estar vencido, logró eliminar microorganismos que el agua hirviendo no fue capaz de exterminar.

Se conoce que el metil-4-hidroxibenzoato es capaz de detener el metabolismo de bacterias gram-positivas y además es eficaz contra mohos y levaduras (Rossmore, 2003), por lo que la previa desinfección con este compuesto en *A. aurantiaca* haya influido en los resultados obtenidos en los ensayos en medio líquido, por lo tanto, no se puede concluir qué extracto es el más efectivo.

3. Extracciones

La extracción de los compuestos activos en las plantas de uso terapéutico es el primer paso para poder llevar a cabo los ensayos de actividad contra los microorganismos, en este proceso es donde se determina la calidad y cantidad de la extracción que se probará (Abubakar y Haque, 2020).

Otra razón por la que la efectividad de las extracciones tradicionales no demostró inhibir las cepas ensayadas es que la cantidad y concentración usadas en las pruebas fue muy baja a comparación de las usadas por los médicos maya q'eqch'i del Consejo ACGERS. En este estudio se hizo una aplicación única, utilizando diez microlitros en los ensayos Kirby-Bauer y un mililitro en los ensayos en medio líquido, con concentraciones obtenidas de tres gramos de material vegetal en 100mL de agua estéril. En contraste, los

terapeutas recomiendan la aplicación oral y externa de *Aphelandra aurantiaca* más de cinco veces al día por siete días. *Odontonema callistachyum* suele ser recomendada aplicarse externamente una vez al día por más de cinco días. En algunos casos son recetadas hasta que el paciente mejore, por lo que no es únicamente importante la constante aplicación del extracto sino también el tiempo de exposición a las extracciones. Esto indica que la toxicidad de las plantas estudiadas es baja y su efecto en bajas concentraciones y cantidades no es igual de efectivo que cuando se aplica con una exposición más alta y constante.

Con lo anterior, para resultados de laboratorio más eficientes una alternativa es utilizar un solvente que permita extraer de forma más efectiva las propiedades medicinales de las plantas. Los solventes comúnmente utilizados en la extracción de plantas de uso terapéutico son solventes polares (agua, alcoholes), polares intermedios (acetona, diclorometano) y no polares (n-hexano, éter, cloroformo) (Abubakar y Haque, 2020). La extracción de metabolitos secundarios con mayor rendimiento en las hojas y raíces de las plantas se presenta en solventes 7:3 de agua con metanol (decocción) y 7:3 agua y acetona para maceración (Lezoul, et al. 2020).

En plantas pertenecientes a la familia Acanthaceae, como es el caso de *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callistachyum* se puede utilizar cloroformo, que es un solvente no polar y es útil en la extracción de compuestos como terpenoides, flavonoides, grasas y aceites. También se puede usar éter, solvente no polar utilizado en la extracción de compuestos como alcaloides, terpenoides, cumarinas y ácidos grasos (Abubakar y Haque, 2020). Estos solventes pueden optimizar la extracción de los compuestos ya que hay estudios que indican que las plantas de Acanthaceae contienen algunos de los compuestos mencionados anteriormente (Bratoeff y Pérez-Amador, 1994).

Para futuros estudios con resultados más robustos se recomienda utilizar este tipo de solventes, lo que permitirá obtener resultados más puros. En esta investigación se realizó únicamente con agua ya que la intención principal era aplicar los métodos tradicionales en las plantas priorizadas y con alta demanda a nivel del sistema de salud tradicional del Consejo ACGERS.

4. Informes farmacológicos sobre los géneros *Aphelandra* y *Odontonema*

En los usos tradicionales de las Acanthaceas se usa comúnmente las hojas para heridas externas. El género *Aphelandra* posee potencial antifúngico, citotóxico, antiinflamatorio, antipirético, antioxidante, insecticida, hepatoprotector, inmunomodulador, antiagregación plaquetaria y antiviral (Aslam, et al. 2014). Bajo el género de *Odontonema* se agrupan plantas tropicales usadas en medicina popular debido a que poseen distintas propiedades farmacológicas; son antibacterianas, antiinflamatorias, antihipertensivas, antivirales, hepatoprotectoras, sedantes y antioxidantes. Se tiene reportes de que algunas especies inducen el parto y desencadenan la broncodilatación (Luhata, et al. 2016).

Las recetas tradicionales de las dos plantas utilizadas, a pesar de no indicar un efecto inhibitorio positivo, no determina que no inhiban el crecimiento bacteriano o bien sean efectivas contra alguna de las cepas ensayadas. Para futuras investigaciones que deseen respaldar las propiedades medicinales de las *A. aurantiaca* y *O. callistachyum* se determinaron dos factores importantes a tomar en cuenta en base a los resultados obtenidos:

que los metabolitos presentes en ambas plantas pueden ser volátiles y que el estudio con una curva de crecimiento bacteriano podría describir con mejor eficiencia la actividad antimicrobiana.

5. Metabolitos volátiles

Los metabolitos volátiles de las plantas son compuestos químicos orgánicos que se producen naturalmente en las células de las plantas y se liberan al aire en forma de gases. Estos compuestos son producidos por diferentes partes de la planta, como las hojas, flores, raíces, tallos y frutos, y se utilizan para diversas funciones fisiológicas, como la defensa contra depredadores, la polinización y la comunicación entre plantas. Dentro de este tipo de metabolitos se incluyen una amplia variedad de compuestos, como terpenos, alcoholes, aldehídos, cetonas y ácidos orgánicos. Estos compuestos tienen diferentes aromas y pueden tener propiedades medicinales o terapéuticas (Gironés-Vilaplana y Moreno, 2016).

Entre las especies de Acanthaceae que se sabe que producen metabolitos volátiles se encuentran las plantas del género *Justicia*, algunas especies de *Ruellia*, *Thunbergia* y *Barleria*, entre otras. Estos metabolitos volátiles pueden tener diferentes funciones, como la atracción de polinizadores o la defensa contra herbívoros y patógenos (Guo, et al. 2016; Karthikeyan, et al. 2016; Suresh y Anbazhagan, 2013).

Algunos metabolitos volátiles de las plantas pueden eliminarse con calor, ya que son compuestos químicos sensibles y se descomponen a temperaturas elevadas. Sin embargo, la cantidad y el tipo de metabolitos volátiles eliminados por el calor pueden variar dependiendo del tipo de planta y del método de calentamiento utilizado; al hervir o cocinar una planta, algunos de los metabolitos volátiles pueden evaporarse y escapar al aire. Es importante destacar que la eliminación de metabolitos volátiles mediante calor puede afectar el sabor, aroma y las propiedades terapéuticas de la planta, por lo que es necesario tener en cuenta el método de extracción utilizado y la temperatura para asegurarse de preservar la mayor cantidad de compuestos beneficiosos de la planta (Simonsen y Adolph, 2012).

Durante la desinfección de las hojas de las dos plantas, se percibió un aroma después de ser lavadas para eliminar macro residuos. Esta característica organoléptica es común en metabolitos como los terpenos, flavonoides y alcaloides (Bakkali, et al. 2008). Esto infiere que ambas especies de planta podrían poseer metabolitos volátiles y que estos sean los responsables de la actividad antimicrobiana. Es común utilizar la destilación al vapor para extraer los metabolitos volátiles de las plantas, donde la planta se calienta a altas temperaturas y los compuestos se evaporan y se condensan en un recipiente separado (Maffei, 2010). La destilación por arrastre de vapor podría ser un método de extracción ideal para asegurar que no se están perdiendo los metabolitos responsables de inhibir el crecimiento de hongos y bacterias a causa del calor.

6. Curva de crecimiento bacteriano

Con las pruebas en medio líquido se aplicó la base de los ensayos de curva de crecimiento bacteriano al medir la densidad óptica, sin embargo, para mejores resultados es recomendable llevar a cabo el monitoreo completo sobre el crecimiento bacteriano.

La curva de crecimiento bacteriano se refiere a la descripción de cómo una población bacteriana crece y se divide con el tiempo. En un ensayo de actividad antimicrobiana, se mide la cantidad de tiempo que tarda una cepa bacteriana en alcanzar una densidad óptica específica (OD) en presencia y ausencia de un agente antimicrobiano. En general, la curva de crecimiento bacteriano de una cepa en presencia de un agente antimicrobiano se desplaza hacia la derecha y se produce una disminución de la densidad óptica, lo que indica una reducción en el número de células viables. Esta metodología también puede proporcionar información sobre la concentración mínima inhibitoria (MIC) del agente antimicrobiano, que es la concentración más baja del agente que inhibe el crecimiento bacteriano (Jorgensen y Turnidge, 2015).

Otra ventaja de realizar la curva de crecimiento bacteriano para el ensayo de actividad antimicrobiana es que se puede observar los efectos bactericida o bacterioestáticos. Si el principio activo de la planta tiene un efecto bactericida, se esperaría que la curva de crecimiento bacteriano se desplace hacia abajo y a la izquierda en comparación con la curva de crecimiento de las bacterias sin tratamiento. Es decir, la concentración del extracto de la planta para inhibir el crecimiento de la bacteria es menor que la concentración necesaria para matarla (Fernández-Olmos, García-Cenoz y Lasheras, 2013).

Por otro lado, si el extracto tiene un efecto bacteriostático, se esperaría que la curva de crecimiento bacteriano se desplace hacia la derecha en comparación con la curva de crecimiento de las bacterias sin tratamiento. En otras palabras, la concentración del extracto necesaria para inhibir el crecimiento de la bacteria es mayor que la concentración necesaria para matarla (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015).

Aunque el efecto bactericida es considerado más deseable que el efecto bacteriostático, ambos efectos pueden ser útiles en diferentes situaciones clínicas. En algunos casos, puede ser suficiente inhibir el crecimiento de la bacteria para permitir que el sistema inmunológico del huésped pueda eliminarla. En otros casos, puede ser necesario matar a las bacterias directamente para prevenir la progresión de una infección, por esta misma razón, para obtener más información sobre la actividad antimicrobiana de *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callistachyum* se recomienda aplicar esta metodología.

D. Importancia del estudio en Guatemala

1. Salud pública

Los países en desarrollo batallan con aumentar la calidad de vida de sus habitantes, uno de los medios principales es el mejoramiento de la atención médica, sin embargo, debido al aumento de la pobreza y la población las soluciones se vuelven difíciles de implementar. Se estima que entre el 70 y el 80% del mundo en crecimiento está sujeto a los remedios

con plantas convencionales debido a que los productos farmacéuticos no son accesibles para la población, ya sea por un precio alto o por falta de disponibilidad. Por esta razón, el estudio de las plantas de uso terapéutico resulta en información valiosa que puede aprovecharse para poner a disposición de las personas alternativas más económicas y bioequivalentes a los fármacos de uso común (Aslam, et al. 2014).

Esta investigación brinda una aproximación a la importancia que la medicina tradicional debería de tener dentro de la medicina moderna. Incorporar la medicina tradicional al sistema de salud necesita de varias etapas; según la OMS una de estas etapas es el estudio de esta, para comprender sus efectos y fundamentar con datos científicos las técnicas tradicionales. En Guatemala la medicina occidental o moderna no es totalmente inclusiva, por lo que la incorporación de la medicina tradicional es un medio para mejorar el alcance de la salud en el país.

2. Protocolo de Nagoya

El estudio de plantas de uso terapéutico garantiza la conservación de la biodiversidad en los países, ya que muchas especies de plantas de uso terapéutico están en peligro de extinción debido a la sobreexplotación y la pérdida de hábitat. Además, la investigación puede ayudar a identificar nuevos compuestos y productos derivados para uso terapéutico y desarrollo de la industria farmacéutica (Centro Internacional de Agricultura Tropical, 2017).

La ley guatemalteca establece que cualquier persona o entidad que desee acceder a recursos genéticos en Guatemala, ya sea para investigación, desarrollo de productos o servicios, debe obtener un permiso previo del Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP), el acceso a recursos genéticos debe ser realizado en consulta con las comunidades locales, quienes tienen el derecho a compartir los beneficios derivados del uso de los recursos. El Protocolo de Nagoya y la ley guatemalteca que lo adopta buscan asegurar la conservación de la biodiversidad y la distribución justa y equitativa de los beneficios derivados de su uso, al mismo tiempo que se promueve la investigación y el desarrollo sostenible en el país (Congreso de la República de Guatemala, 2017).

Estudiar las plantas de uso terapéutico es fundamental para la implementación efectiva del Protocolo de Nagoya, esta investigación es un ejemplo del uso del protocolo, que resulta del Proyecto Salud Verde, el cual ayuda a fomentar este tipo de trabajos colaborativos que aún son poco frecuentes en el país.

E. Implicaciones del estudio para el proyecto Salud Verde y el Consejo ACGERS

Por medio del proyecto Salud Verde se ha presentado la oportunidad de converger la ciencia maya con la ciencia occidental. Esta investigación se considera como un conjunto de pruebas piloto que abren la posibilidad de una estandarización del uso de *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callistachyum*. El aporte principal en este caso recae en el cuidado previo al tratamiento y extracción de las plantas. Esta información puede ayudar a

abrir el diálogo sobre un uso optimizado de las plantas y la forma en que se usa en las terapias.

Tanto los médicos mayas como los científicos estamos en constante mejoramiento de nuestras técnicas y aplicaciones, por medio de la colaboración entre ambas ciencias pueden llevarse a cabo estudios futuros para lograr determinar la forma más eficaz de aprovechamiento de las hojas de ambas plantas, en cantidad, concentración y método de extracción. Dentro del sistema de salud tradicional del Consejo ACGERS esta información puede tener gran alcance ya que se comparte entre todos los terapeutas pertenecientes. Se apertura incluso a un seguimiento extenso, con médicos externos al Consejo y permitir la posibilidad de una conversación abierta entre los sistemas de salud tradicionales en el país, los sistemas de salud convencionales y la ciencia occidental.

VI. CONCLUSIONES

- Los ensayos realizados sobre los tres métodos de extracción tradicionales de las dos plantas utilizadas no permiten determinar un efecto inhibitorio positivo o negativo a la inhibición de *E. coli* y *S.aureus*.
- Los ensayos realizados sobre los tres métodos de extracción tradicionales de las dos plantas utilizadas no permiten determinar un efecto inhibitorio positivo o negativo a la inhibición de *C. tropicalis* y *C. krusei*.
- No es posible establecer qué método tradicional es más efectivo contra las bacterias y hongos ensayados bajo las condiciones y resultados de este estudio.

VII. RECOMENDACIONES

- Tiempo de cuarentena para el material vegetal exponiendo las hojas a bajas temperaturas para eliminar macroorganismos presentes y lavar las hojas previo a su secado para desinfectar posibles microorganismos contaminantes.
- Si se desea replicar la investigación en las instalaciones de la Universidad del Valle de Guatemala, verificar que los secadores que se utilizarán sean estériles o estén desinfectados.
- Evitar el uso de compuestos químicos en el proceso de extracciones de las plantas que alteren la respuesta de los microorganismos ensayados (antimicóticos, antibióticos).
- Realizar pruebas más robustas con métodos de extracción más puros, como la destilación por arrastre de vapor o por medio de solventes como éter y cloroformo.
- Aplicar la metodología de curva de crecimiento bacteriano para resultados más específicos sobre la actividad antimicrobiana de *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callistachyum*.
- Utilizar menor cantidad de discos de difusión en el ensayo Kirby-Bauer por caja Petri para reducir fuentes de contaminación.
- Realizar más estudios sobre *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callistachyum* que permitan la colaboración de la ciencia maya y la ciencia occidental para el continuo aumento del conocimiento sobre usos terapéuticos y su aplicación en el sistema de salud tradicional del Consejo ACGERS.

VIII. LITERATURA CITADA

- Abatenh, E., Gizaw, B. y Tsegaye, Z. (2018). *Contamination in a Microbiological Laboratory*. International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB) Volume 6, Issue 4, PP 7-13 DOI: <http://dx.doi.org/10.20431/2349-0365.0604002>
- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). *Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes*. Journal of pharmacy & bioallied sciences, 12(1), 1–10. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Álvarez, C. (23 de octubre del 2017). *Modelo Incluyente en Salud ya no continuará*. Prensa Libre. <https://www.prensalibre.com/guatemala/politica/modelo-incluyente-en-salud-ya-no-continuara/>
- Aslam, M., Awan, A., Choudhary, B., Uzair, M., Farooq, U. y Ishfaq, K. (2014). *Family Acanthaceae and genus Aphelandra: Ethnopharmacological and phytochemical review*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 6.
- Asociación de Servicios Comunitarios de Salud –ASECSA (2019) *MANUAL DE PLANTAS DE USO TERAPÉUTICO Descripción y aplicación*. Medicus mundo. <https://asecsaguatemala.org/2018/wp-content/uploads/2019/07/Libro-Manual-Plantas-Medicinales-ASECSAreimpresion.pdf>
- Balouiri, M., Bouhdid, S., Harki, E., Sadiki, M. y Ouedrhiri, W. (2015). *Antifungal activity of Bacillus spp isolated from Calotropis procera ait rhizosphere against Candida albicans*. Asian J Pharm Clin Res 8: 213-217.
- Bassetti, M., Baguneid, M., Bouza, E., Dryden, M., Nathwani, D. y Wilcox, M. (2014). *European perspective and update on the management of complicated skin and soft tissue infections due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus after more than 10 years of experience with linezolid*. Clin Microbiol Infect; 20: 3-18.
- Batres Granados, J. C., et al. (2017). *“Diagnóstico socioeconómico, potencialidades productivas y propuestas de inversión” Municipio de Poptún, Departamento de Petén. Informe General*. Facultad de Ciencias Económicas. Universidad San Carlos de Guatemala. http://biblioteca.usac.edu.gt/EPS/03/03_0941_v1.pdf
- Bonilla, J. Y Amaral, J. (2017). *Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extracts of guarana, boldo, rosemary and cinnamon*. Brazilian Journal of Food Technology. 20: 1-8.
- Bratoeff, E.A.; Pérez-Amador, M.C. (1994). *Phytochemical study of Aphelandra aurantiaca Scheider (Acanthaceae)*. Phyton, 56:27-32.
- Bravo, H., Copaja, S. y Lazo, W. (1997). *Antimicrobial activity of Natural 2-Benzoxazolines and related derivatives*. J Agricultureand Food Chem; 45:3255-7.
- Browner, Ch. (1985). *Plants used for Reproductive Health in Oaxaca, Mexico*. Econ Botany 39 (4): 482 – 504.

- Caballero-George C, Gupta MP. (2011). *A quarter century of pharmacognostic research on panamanian flora: A review*. *Planta Med.* ;77(11):1189–202
- Cáceres, A., Samayoa, B. y Fletes, L. (1991). *Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones*. Guatemala, Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala -USAC-. Dirección General de Investigación -DIGI-. Cuadernos de Investigación ; No. 4-90
- Canel Monterroso, L. Y. (2012). *Actividad antimicrobiana y antimicótica de los extractos de cinco especies de plantas del género Vernonia nativas del sur-occidente de Guatemala*. Guatemala; 61 p. tab, ilus. Tesis en Español | LILACS, MOSAICO - Salud integrativa | ID: biblio-879017
- Carrión Jara, A. V., & García Gómez, C. R. (2010). *PREPARACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES: DETERMINACIÓN DE EFICIENCIA DE METÓDICA (Tesis)*. Universidad de Cuenca Facultad de Ciencias Químicas Escuela de Bioquímica y Farmacia.
- Cates G, R., Bradley, P., Al, E., et al. (2013). *Evaluation of the activity of Guatemalan medicinal plants against cancer cell lines and microbes*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(35), 2616–2627. DOI: 10.5897
- Centro de Estudios en Salud (2019). *Green Health: Improving Indigenous Participation in the Nagoya Protocol 2019-2022* UVG/UCL. <https://www.ces.uvg.edu.gt/page/project/proyecto-salud-verde/>
- Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). (2017). *Protocolo de Nagoya en Guatemala*. <https://ciat.cgiar.org/es/protocolo-nagoya-en-guatemala/>
- Clavell, L. y Pedrique de Aulacio, M. (1992). *Microbiología. Manual de Métodos Generales (segunda edición)*. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2009). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement, Disk Diffusion and MIC Testing*, volume 29 N°3 M100-S19
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2015). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition*. CLSI document M07-A10. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- Congreso de la República de Guatemala. (2017). *Ley de Acceso a los Recursos Genéticos y su Distribución Justa y Equitativa en la República de Guatemala*. https://www.conap.gob.gt/images/normativas/Ley_de_Acceso_a_los_Recursos_Geneticos_Guatemala.pdf
- Córdoba López, A. Monterrubio Villar, J., Alzugaray Fraga, R. (2002). *Sepsis por Escherichia coli y lesiones cutáneas ampollasas*. *Medicina Intensiva* 26(6):332-3 <https://medintensiva.org/es-sepsis-por-escherichia-coli-lesiones-articulo-13036166>
- Correa-Díaz, F. (2006). *Manual de laboratorio de bioensayos*. Universidad Autónoma de Baja California. Facultad de Ciencias Marinas. DOI:10.13140/RG.2.2.26819.04646

- Daniel, T. y Lott, E. (2016). *Acantáceas (Acanthaceae)*. In CONABIO (ed.). *La Biodiversidad en Colima*. Estudio de Estado. México. p. 229-237
- Daniel, T. y McDade, L. (2014). *Nelsonioideae (Lamiales: Acanthaceae): Revision of Genera and Catalog of Species*. *Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany* 32 (1):1-45.
- Detsi, A., Kontogiorgis, C., Hadjipavlou-Litina, D. (2017). *Coumarin derivatives: an updated patent review (2015-2016)*. *Expert. Opin. Ther. Pat.* 27:1201-1226
- Deveau, A., et al. (2018). *Bacterial–fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges*, *FEMS Microbiology Reviews*, Volume 42, Issue 3, May, Pages 335–352, <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy008>
- Fernández-Olmos, A., García-Cenoz, M., & Lasheras, A. (2013). *Time–kill kinetics of ceftazidime–avibactam against clinical isolates of Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(6), 1401-1407.
- Figuroa, M.H. (1984). *Algunos aspectos de la medicina tradicional*, pp. 163-172. En Villatoro EM: *Etnomedicina en Guatemala*. Centro de Estudios Folklóricos, Colección Monografías, Vol. 1. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala CA, Guatemala.
- Ford, R. I. (1978). *Ethnobotany. Historical diversity and synthesis*. In: R.I. (ed.), *The nature and status of ethnobotany*: 33-49. *Anthropological Papers*, no. 67. Michigan.
- Fox, J., Barthold, S., Davisson, M., Newcomer, C., Quimby, F. y Smith, A. (2007). *The Mouse in Biomed Research: Diseases*. 2nd Ed. New York: Academic Press
- Gallegos Zurita, M. (2016). *Las plantas de uso terapéutico: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador*. *Anales de La Facultad de Medicina*, 77(4), 327. <https://doi.org/10.15381/anales.v77i4.12647>
- García, J., Cantón, R., García, E., Gómez, M., Martínez, L., Rodríguez, C. y Vila, J. (2000). *Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos Procedimientos en Microbiología Clínica: Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
- Giovannini, P., & Heinrich, M. (2009). *Xki yoma' (our medicine) and xki tienda (patent medicine)—Interface between traditional and modern medicine among the Mazatecs of Oaxaca, Mexico*. *Journal of Ethnopharmacology*, 121(3), 383–399. doi:10.1016/j.jep.2008.11.003
- Gironés-Vilaplana, A. y Moreno, D. A. (2016). *Los metabolitos secundarios de las plantas y sus beneficios para la salud*. *Revista Digital Universidad de Las Américas*, 1(2), 13-23.)
- González, J. (2013). *Plantas Útiles de La Selva. Organización para Estudios Tropicales Flora Digital de La Selva*. https://sura.ots.ac.cr/florula4/docs/plantas_utiles_LS_etnobotanica_2013.pdf

- Grimes, B., McBeth, D., Hallihan, B. y Delph, S. (1996). *Antimicrobial activity in medicinal plants of the Scrophulariaceae and Acanthaceae*. J Pharm Biol; 34:243-8.
- Guarana, M. Nucci, M. (2018). *Acute disseminated candidiasis with skin lesions: a systematic review*. Clinical Microbiology and Infection, Volume 24, Issue 3, Pages 246-250. ISSN 1198-743X, <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.08.016>.
- Guo, Y., Liu, S., Wang, P., & Li, S. (2016). *Characterization and comparative analysis of volatile profiles of the flowers of eight species of Acanthaceae*. Industrial Crops and Products, 86, 191-197.
- Harris, L., Foster S. y Richards R. (2002). *An introduction to Staphylococcus aureus, and techniques for identifying and quantifying S.aureus adhesins in relations to adhesion to biomaterials*: Review. Eur Cells Mater. jul-dec; 4(2): 39-60
- Instituto de Investigación y Proyección sobre Ambiente Natural y Sociedad (Iarna-URL). (2011). *Cambio climático y biodiversidad: elementos para analizar sus interacciones en Guatemala con un enfoque ecosistémico*. (Universidad Rafael Landívar, Ed.). Ciudad de Guatemala. <https://www.url.edu.gt/publicacionesurl/FileCS.ashx?Id=40423>
- Instituto de Investigación y Proyección sobre Ambiente Natural y Sociedad (Iarna-URL). (2018). *Clasificación de ecosistemas de Guatemala basada en el sistema de zonas de vida de Holdridge*. Guatemala.
- Iqbal, M. J., Butt, M. S., Sohail, M., & Suleria, H. A. (2020). *The Antioxidant Potential of Black Cumin (Nigella sativa L.) Extracts Through Different Extraction Methods*. Current Bioactive Compounds, 15(6), 623–630. <https://doi.org/10.2174/1573407214666180821124454>
- Jeruto, P., Lukhoba, C., Ouma, G., Otieno, D. y Mutai, C. (2008). *An ethnobotanical study of medicinal plants used by the Nandi people in Kenya*. J Ethnopharmacol; 116:370-6
- Joly, L., Guerra, S., Septimo, R., Solís, P.N., Correa, M., Gupta, M.P., Levy, S., Sandberg, F. (1987). *Ethnobotanical inventory of medicinal plants used by the Guaymi indians in Western Panama. Part I*. J Ethnopharmacology 20(2): 145 – 171.
- Jorgensen, J. H., & Turnidge, J. D. (Eds.). (2015). *Susceptibility testing: agar dilution and broth microdilution*. Manual of clinical microbiology, 11th edition. American Society of Microbiology.
- Karthikeyan, S., Al-Dhabi, N. A., Arasu, M. V., & Kim, J. K. (2016). *Phytochemical constituents and pharmacological activities of plants from the genus Barleria: A review*. Journal of ethnopharmacology, 183, 232-248.
- Kothavade, RJ., Kura, MM., Valand, AG., Panthaki, MH. (2010). *Candida tropicalis: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole*. J Med Microbiol. 59(Pt 8):873-880. doi: 10.1099/jmm.0.013227-0.
- Larrasoña, I. O. (2010). *Influencia de la temperatura y tiempo de secado en la calidad de las hojas de Cymbopogon Citratus D.C. Staf (Tesis)*. Universidad Pública de Navarra.

Lezoul, N. E. H., Belkadi, M., Habibi, F., & Guillén, F. (2020). *Extraction Processes with Several Solvents on Total Bioactive Compounds in Different Organs of Three Medicinal Plants*. *Molecules*, 25(20), 4672. doi:10.3390/molecules25204672

Lima Ortiz, W. C., & Morales Coromac, R. E. (2014). *Caracterización farmacobotánica de *Byrsonima crassifolia* y *Neurolaena lobat* (Tesis)*. UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA.

López Naranjo, F., Meza Almazo, E., Jiménez García, S., Altagracia Martínez, M., & Manjarrez Marmolejo, J. (2013). *Métodos de extracción e identificación de los bioactivos de la *Lavandula officinalis* y su potencial uso como agente sedante*. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 44(1), 60-65. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S187001952013000100008&lng=es&tlng=es.

Lowy, F.D. (1998). *Staphylococcus aureus infections*. *N Engl J Med*; 339: 520-532

Lozano, J., Sebastián, M., González, F., Hernández-Sampelayo, T. y Gómez, M. (2011). *Infecciones bacterianas de la piel y tejidos blandos*. *Protocolos de infectología AEP* <http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/piel.pdf>

Luhata LP, Munkombwe NM, Cheuka PM and Sikanyika H. (2015). *Phytochemical screening and in vitro antibacterial activity of *Odontonema strictum* (Acanthaceae) Against selected bacteria*. *International Journal of Development Research*. 5(6):4655–59

Luhata, L. P. & Cheuka, P. (2021). *Chapter 1 Critical Study of Phytochemical and Pharmacological Profiles of the Genus *Odontonema* (Acanthaceae)*. *The Book collector*. 1. 1-9. 10.9734/bpi/tipr/v1/2261E.

Luhata, L., Munkombwe, N., Cheuka, P. y Sikanyika, H. (2016). *Phytochemical and Pharmacological Profiles of the Genus *Odontonema* (Acanthaceae)*. *British Journal of Pharmaceutical Research*. 14. 1-7. 10.9734/BJPR/2016/29877

Maffei, M. E. (2010). *Sites of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles*. *South African Journal of Botany*, 76(4), 612-631.

Mahmoudabadi A.Z (2007). *Laboratory instrument contamination with dermatophytes – a risk for dermatophytosis*. *Letters in Applied Microbiology*. 44: 112–113. doi:10.1111/j.1472-765X.2006.02025.x

Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala, Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. (2016). *Desigualdades en salud en Guatemala*. 43 pp

Muthu, C., Ayyanar, M., Raja, N. y Ignacimuthu, S. (2006). *Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of Tamil Nadu, India*. *J Ethnobiology Ethnomedicine* ;2:1-10

Nash, D. L., Williams, L. O. (1976). *Flora of Guatemala. Part X*. *Fieldiana Botany* 24: 333- 418

- Nazzaro, F., Fratianni, F., de Martino, L., Coppola, R. y de Feo, V. (2013). *Effect of essential oils on pathogenic bacteria*. *Pharmaceuticals* 6: 1451-1474. doi. 10.3390/ph6121451
- Ochaita, L. (2003). *Enfermedades cutáneas de origen bacteriano*. En: *Dermatología Pablo Lázaro Ochaita*. 3ª Ed. Madrid: Ed. Méditécnica S.A. 129-152.
- Pardo de Santayana, M. y Gómez Pellón, E. (2003). *Etnobotánica: aprovechamiento tradicional de plantas y patrimonio cultural*. *Anales Jard. Bot. Madrid* 60 (1): 171-182.
- Pardo de Santayana, M., Morales, R., Aceituno-Mata, L., Molina, M. y Tardío, J. (2012). *Etnobiología y Biodiversidad: el Inventario Español de los Conocimientos Tradicionales*. *Ambienta*. 99. 6-24.
- Pasachova Garzón, J., Ramirez Martinez, S. y Muñoz Molina, L. (2019). *Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular*. *NOVA*; 17 (32): 25-38 <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-25.pdf>
- Pöll, E. (2007). *Plantas de uso terapéutico de Guatemala: reseña histórica*. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas de uso terapéutico y Aromáticas*, vol. 6, núm. 2, marzo, p. 27
- Prado, H. y Rizzo, I. (2011). *Actividad antifúngica de extractos vegetales empleados en la medicina tradicional argentina*. *Revista de la Asociación de Química y Farmacia del Uruguay*; Montevideo; vol. 61 p. 8 - 13 https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/88896/CONICET_Digital_Nro.85c575d0-dd02-4169-bfe2-5f03c7a00ad3_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (2005). *Informe Nacional de Desarrollo Humano - PNUD Guatemala*. 63-65. https://issuu.com/indh_guatemala/docs/indh2005-1
- Quezada, M. (s.f.). *La Etnobotánica, herramienta para la valoración y conservación de las plantas de uso terapéutico; Retos en Guatemala*. Jardín Botánico. Centro de Estudios Conservacionistas. Guatemala.
- Riyad, Y., & Elkhoolany, E. (2020). *Efficacy Bioactive Components of Lavender (Lavandula latifolia) Leaves as a Natural Antioxidant, Antibacterial, and its Uses as a Cake Preserving Agent*. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 11(5), 113–120. <https://doi.org/10.21608/jfds.2020.95847>
- Rodríguez Ángeles, G. (2002). *Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli*. *Salud pública de México*. Vol.44. No.5 https://www.adiveter.com/ftp_public/E.coli.pdf
- Roia, F. y Smith, R. (1977). *The antibacterial screening of some common ornamental plants*. *Economic Bot*; 31:28-37
- Rojas, J., A.M. García y A.J. López. (2005). *Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas de uso terapéutico*. *Boletín Latinoamericano de Plantas de uso terapéutico y Aromáticas*. 4 (2): 28-32

- Rossmoore, H. W. (2003), *Handbook of biocide and preservative use*, Springer, pág. 338
- Roth, R. y James W. (1989). *Microbiology of the skin: resident flora, ecology, infection*. J Am Acad Dermatol, 20:367-390
- Salleh, W. M. N. H. W. (2020). *Lindera aggregata (Sims) Kosterm: Review on phytochemistry and biological activities*. Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas de uso terapéutico y Aromáticas, 19(6), 527–541. <https://doi.org/10.37360/blacpma.20.19.6.37>
- Sánchez-Saldaña, L. y Sáenz-Anduaga, E. (2006). *Infecciones cutáneas bacterianas*. Dermatología Peruana; Vol 16(1)
- Sandhya, B., Thomas, S., Isabel, W. y Shenbagarathai, R. (2006). *Ethnomedicinal plants used by valaiyan community of piranmalia hills (reserved forest), tmil nadu, india. –a pilot study*. Afr J Tradit Complementary Altern Med; 3:101-14.
- Sanz Santaefemia, F.J., García Talavera, M.E., Gonzalo González, I., y Girón del Río, R.. (2015). *Dermatomicosis por Candida krusei simulando herpes cutáneo*. Pediatría Atención Primaria, 17(65), e53-e56. <https://dx.doi.org/10.4321/S1139-76322015000100013>
- Schmidt-Lebuhn, A., Schwerdtfeger, M., Kessler, M. y Lohaus, G. (2007). *Phylogenetic constraints vs. ecology in the nectar composition of Acanthaceae*. Flora 202: 62-69.
- SERME Ladiama. (2001). *Etude de l'action de l'extrait aqueux des feuilles de Odontonema strictum (Acanthaceae) sur la pression artérielle du rat wistar*. French Complementary Altern Med
- Simonsen, J. L., & Adolph, H. W. (2012). *Essential oils and aromatics: A survey of their varieties, properties and uses*. Elsevier.
- Singer, M., Baer, H. A., Long, D., & Pavlotski, A. (2020). *Introducing Medical Anthropology A Discipline in Action Third Edition*. www.rowman.com
- Singha, P., Roy, S. y Dey, S. (2003). *Antimicrobial activity of Andrographispaniculata*. Fitoterapia; 74:692-4.
- Suresh, P., & Anbazhagan, S. (2013). *Chemical constituents and biological activities of Justicia species (Acanthaceae): a review*. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(Suppl 2), 16-24.
- Torres Hernández, G. (2012). *Espectro de inhibición de bacterias aisladas de muestras clínicas por cinco especies de plantas con actividad antimicrobiana*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Torres-Chatí, J., León-Quispe, J., y Tomas-Chota, G. (2017). *Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de Luma chequen (Molina) A. Gray arrayán frente a patógenos de origen clínico*. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología, 37(1), 10-16. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562017000100004&lng=es&tlng=es.

Tripp, E. y Fatimah, S. (2012). *Comparative anatomy and morphology of the African genus Satanocrater (Acanthaceae)*. Am. J. Bot. 99:967– 982

Tripp, E. y Luján, M. (2018). *Venezuelan Ruellia (Acanthaceae) A Monograph*. Memoirs of the New York Botanical Garden 119:1-75.

Uddandrao, V. S., Brahmanaidu, P., & Ganapathy, S. (2020). *Evaluation of the Antioxidant and Antidiabetic Potential of the Poly Herbal Formulation: Identification of Bioactive Factors*. Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry, 18(2), 111–123. <https://doi.org/10.2174/1871525718666200207103238>

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (2013). *Extracción*. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/tecnofarma/wp-content/uploads/2013/02/Extracci%C3%B3n.pdf>

Wolff, K., Goldsmith, L., Katz, S., Gilchrest, B., Gilchrest, B., Paller, A. et al. (2008). *Fitzpatrick's, dermatology in general medicine*. Chapter 177. 7a ed. United States: McGraw-Hill; pp. 1697-1699

IX. APÉNDICES



Apéndice 1. *Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl.

Fuente: Salud Verde



Apéndice 2. *Odontonema callistachyum* (Schlecht. & Cham.) Kuntze.

Fuente: Salud Verde

Protocolo de desinfección

Aphelandra aurantiaca (Scheidw.) Lindl. y *Odontonema callistachyum* (Schltdl. & Cham.) Kuntze para pruebas de actividad antimicrobiana



Utilizar guantes y bata para reducir fuentes de contaminación



COLECTA DE MATERIAL VEGETAL

1 Guardar las hojas frescas en bolsas de plástico herméticas y preservar en frío (4°C) por tres días.



LAVAR LAS HOJAS

2

Con jabón pH neutro o preparación de detergente comercial diluido (20%) lavar las hojas para eliminar macroorganismos o microorganismos residuales.

IMPORTANTE: Preferiblemente utilizar el material vegetal fresco, de no ser posible, continuar con el paso de secado.

SECADO DE MATERIAL VEGETAL

3 Deshidratar las hojas en un horno esterilizado/desinfectado entre 30-45°C por 48 horas o hasta estar completamente secas.



María Alejandra
España Capilla

UVG
UNIVERSIDAD
DEL VALLE
DE GUATEMALA



CENTRO DE
ESTUDIOS EN SALUD
· CES ·

Apéndice 3. Protocolo de desinfección recomendado para *Aphelandra aurantiaca* y *Odontonema callistachyum*



HERBARIO UVAL
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

18 Av. 11-95, Zona 15, V.H. III
Apartado Postal No. 82, 01901
Guatemala, Guatemala, C.A.

PBX: 2369-0791 al 95
2364-0336 al 40
2364-0492 al 97

Ext. 21530

Guatemala, 21 de octubre de 2022

A quien interese:

Por este medio hago constar que la identificación de los siguientes especímenes ha sido realizada correctamente. Además, se les ha asignado un número de registro y se ha depositado un voucher de cada uno para futuras consultas en el Herbario UVAL. La identificación correcta de los especímenes corresponde al siguiente proyecto de tesis:

"Comparación de tres metodologías tradicionales para la obtención de extractos vegetales con potencial actividad antimicrobiana en dos plantas medicinales (*Aphelandra aurantiaca* (Scheidw.) Lindl. y *Odontonema callistachyum* (Schltdl. & Cham.) Kuntze) utilizadas por terapeutas tradicionales Maya - Q'eqchi' del Consejo ACGERS en Poptún, Petén"

| NO. DE REGISTRO | ESPECIE | FAMILIA |
|-----------------|---|-------------|
| 22,042 | <i>Odontonema callistachyum</i> (Schltdl. & Cham.) Kuntze | Acanthaceae |
| 22,227 | <i>Aphelandra aurantiaca</i> (Scheidw.) Lindl | Acanthaceae |

Para los usos que al interesado convenga se extiende el presente certificado de identificación.

MSc., MEd. Javier Aju
Coordinador Herbario UVAL
Instituto de Investigaciones
Universidad del Valle de Guatemala