

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**ACTIVIDAD AMEBICIDA Y ANTIBACTERIAL DE CINCO
ESPECIES DE LA FAMILIA ASTERACEAE**

**TESIS QUE PARA RECIBIR EL TITULO DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA:

JUANA MARÍA PÉREZ GONZÁLEZ

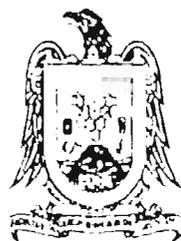
ASESORADA POR:

M.C. BERTHA IRENE JUÁREZ FLORES

COASESORADA POR:

**DR. JUAN ROGELIO AGUIRRE RIVERA
M.C. NORMA CECILIA CÁRDENAS ORTEGA
Q.F.B. MA. GPE. YASMIN DÍAZ RUÍZ
M.C. YOLANDA JASSO PINEDA**

San Luis Potosí, S.L.P del 2002.



APROBACION DE TEMA DE TESIS

SRITA. JUANA MARÍA PÉREZ GONZÁLEZ
P R E S E N T E:

Por este conducto me permito informar a USTED que el H. Consejo Técnico Consultivo de esta Facultad de Ciencias Químicas, en sesión ordinaria de fecha 25 DE MAYO DEL 2001, tuvo a bien aprobar el tema de su tesis profesional titulada "ACTIVIDAD AMEBICIDA Y ANTIBACTERIAL DE CINCO ESPECIES DE LA FAMILIA ASTERACEAE", mismo que será asesorado por MC BERTHA IRENE JUAREZ FLORES y coasesorada por DR. ROGELIO AGUIRRE RIVERA, MC. NORMA CECILIA CARDENAS ORTEGA, QFB. MA. GUADALUPE YASMIN DÍAZ RUIZ y MC YOLANDA JASSO PINEDA, para la presentación de su examen profesional de Químico Farmacobiólogo.

Sin más por el momento queda de usted.

Atentamente


ING. ROGELIO A. COLUNGA REYNA
SECRETARIO DE LA FACULTAD

San Luis Potosí, S.L.P. 5 de junio del 2001.

AGRADECIMIENTOS

Gracias Dios, por haberme dejado llegar a este momento y sobre todo por todo lo que soy y me has dado.

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en especial a la Facultad de Ciencias Químicas por mi formación académica y mi crecimiento profesional.

Al Instituto de Investigación de Zonas Desérticas por darme la oportunidad de llevar acabo este trabajo y el apoyo brindado durante el mismo.

Al Dr. J. Rogelio Aguirre Rivera por su incondicional apoyo, comprensión y consejos.

A la M. en C. Berta Irene Juárez Flores por haberme guiado en este trabajo, su apoyo incondicional siempre que la he necesitado, sus consejos y en especial por su valiosa amistad.

Al laboratorio de Parasitología por su apoyo y colaboración para la realización de la actividad amebicida, y en una manera muy especial a la maestra Yasmin Díaz Ruíz por su gran coasesoria, amistad, consejos y su apoyo en este trabajo.

A la M. en C. Yolanda Jasso Pineda, por su coasesoria, apoyo y consejos en este trabajo sobre todo por su amistad.

A la M. en C. Norma Cecilia Cárdenas Ortega por su apoyo amistad y sus enseñanzas que ayudaron a mejorar este trabajo.

A todo el personal académico y administrativo del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas por su apoyo y amistad, en especial a la Srita. Elodia Cano Gallegos y al Etnobóatico José García.

Al laboratorio de análisis clínicos y microbiológicos Altair por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo y al personal del laboratorio por su apoyo, ayuda y comprensión en la evaluación de la actividad antibacterial.

Con cariño a mis padres Fernando Pérez y Juana González y mis hermanos Fernando y Karina Pérez por su apoyo y comprensión en cada momento y por formar parte de mi vida y de este trabajo.

A mis amigos que siempre me apoyaron y estuvieron conmigo en cada momento de este trabajo y compartieron conmigo experiencias que dejaron momentos inolvidables en mi memoria y sobre todo aprendizaje a: Berenice Juárez, Guadalupe H. Rodríguez P.,

Berenice Vera, Blanca Pineda, Nereyda Niño, Lucina, Daniel, Karla, Rosalba, German y Norma Torres Camacho.

A mis suegros Hipólita de la Cruz y Otilio Valerio a mis cuñados y cuñadas, Consuelo Castillo, Josefina, Rosa Imelda, Carlos, Raúl y Santiago Valerio, así como mis conuños y sobrinos por su apoyo amistad y consejos en los momentos difíciles.

A mis abuelitas Esperanza Rojas y Ricarda Briones así como mi abuelito Florencio Pérez por sus maravillosos consejos y apoyo.

DEDICATORIAS

Con todo mi amor, y agradecimiento dedico este trabajo a mis maravillosos padres que son mis pilares y siempre me apoyaron en cada momento de mi vida, que estuvieron conmigo en los momentos difíciles como en mis alegrías y a los que les debo la vida.

José Fernando Pérez Rojas y Juana González de Pérez.

A mis queridos hermanos Karina Guadalupe Pérez González, Fernando Pérez González y mi cuñada Consuelo Castillo por su amor y comprensión en todo momento.

Y a mi esposo Jaime Antonio Valerio de la Cruz con todo mi amor, por su apoyo, comprensión, su ayuda y su valioso amor, así como también a la personita que ahora crece en mí ser día con día y deseó con toda mi alma y amo, por la que luchare y me superare cada día de mi vida.

CONTENIDO

Índice de cuadros	VIII
Índice de Figuras	IX
Resumen	X
1. Introducción	1
2. Antecedentes	3
2.1 Patologías del aparato digestivo	3
2.2 Las enfermedades gastrointestinales	4
2.3 Principales microorganismos patógenos	4
2.3.1 Familia Enterobacteriaceae	4
2.3.2 <i>Salmonellas</i>	5
2.3.2.1 Fisiología y estructura	5
2.3.2.2 Epidemiología	5
2.3.2.3 Patogenicidad	5
2.3.2.4 Factores de patogenicidad	6
2.3.2.5 Manifestaciones clínicas	6
2.3.2.6 Diagnóstico	7
2.3.2.7 Tratamiento	7
2.3.3 <i>Shigellas</i>	7
2.3.3.1 Fisiología y estructura	8
2.3.3.2 Epidemiología	8
2.3.3.3 Patogenicidad	8
2.3.3.4 Factores de patogenicidad	8
2.3.3.5 Manifestaciones clínicas	9
2.3.3.6 Diagnóstico	9
2.3.3.7 Tratamiento	9
2.3.4 <i>Escherichia coli</i>	9
2.3.4.1 Fisiología y estructura	10
2.3.4.2 Epidemiología	10
2.3.4.3 Patogenicidad	10
2.3.4.4 Diagnóstico	10
2.3.4.5 Tratamiento	10
2.3.5 <i>Entamoeba histolytica</i>	11
2.3.5.1 Morfología y estructura	11
2.3.5.2 Epidemiología	11
2.3.5.3 Ciclo de vida	12
2.3.5.4 Patogenicidad	13
2.3.5.6 Factores de patogenicidad	13
2.3.5.7 Formas clínicas	13
2.3.5.8 Diagnóstico	13
2.3.5.9 Tratamiento	14

2.4 Plantas medicinales	14
2.4.1 Plantas utilizadas regionalmente en las enfermedades gastrointestinales	15
2.4.1.1 <i>Chrysactinia mexicana</i> Gray	15
2.4.1.2 <i>Flouencia cernua</i> DC	15
2.4.1.3 <i>Parthenium incanum</i> Kunth	16
2.4.1.4 <i>Viguera gregii</i> (A. Gray) S.F. Blake	16
2.4.1.5 <i>Zinnia acerosa</i> (DC.) Gray	17
3. Materiales y métodos	18
3.1 Preparación del material vegetal	18
3.1.1 Recolección	18
3.2. Preparación de los extractos	18
3.2.1 Extractos acuosos	18
3.2.2 Extractos etanólicos	18
3.3 Evaluación de la actividad amebicida	19
3.3.1 Obtención de la cepa	19
3.3.2 Siembra	19
3.3.3 Enriquecimiento del cultivo	19
3.3.4 Preparación del frotis	20
3.3.5 Subcultivo	20
3.3.6 Estandarización del inóculo de trofozoitos	20
3.3.7 Aplicación del tratamiento	21
3.3.8 Diseño experimental y análisis estadístico	22
3.4 Evaluación de la actividad antibacterial	22
3.4.1 Estandarización del inóculo	23
3.4.2 Realización de la prueba antibacterial	23
3.4.3 Análisis estadístico	23
4. Resultados	24
4.1 Actividad amebicida	24
4.2 Actividad antibacterial	26
4.2.1 Extractos acuosos	26
4.2.2 Extractos etanólicos	27
5. Discusión	30
6. Conclusiones	31
7. Términos botánicos	32
8. Anexos	33
9. Bibliografía	36

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Numero total de trofozoitos/2 mL contados en camara de Neubauer.....	21
Cuadro 2	Mortalidad de trofozoitos de <i>E. histolytica</i> causada por extractos acuosos con las cinco especies vegetales de la familia Asteraceae en tres aplicaciones sucesivas (0.8 mL).....	24
Cuadro 3	Análisis de varianza (ANOVA) completamente al azar. Actividad amebicida de extractos acuosos de Asteraceas silvestres del altiplano potosino ($\alpha=0.05$).....	24
Cuadro 4	Inhibición de desarrollo (cm) en los cultivos de Enterobacterias por efecto de los extractos acuosos de Asteraceas silvestres del altiplano potosino.....	25
Cuadro 5	Inhibición del desarrollo (cm) en los cultivos de Enterobacterias por efecto de los extractos etanólicos de Asteráceas silvestres del altiplano potosino... ..	27
Cuadro 6	Análisis de varianza (ANOVA) completamente al azar, actividad antibacterial de los extractos acuosos y etanólicos de Asteráceas silvestres del altiplano potosino sobre las siete enterobacterias estudiadas.....	28

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ciclo biológico de <i>Entamoeba histolytica</i>	13
Figura 2	Trofozoito muerto por aplicación de extracto vegetal	26
Figura 3	Trofozoito vivo sin aplicación de extracto vegetal	29
Figura 4	Halos de inhibición de desarrollo presentados por los extractos vegetales sobre las bacterias en estudio	30

Resumen

Las enfermedades gastrointestinales son las más frecuentes en nuestro país y poseen una gran importancia social por su carácter epidémico, ya que causan brotes persistentes y extensos como lo es el caso de la diarrea aguda, que es la primera causa de muerte en niños de 1 a 5 años, debido a la excesiva pérdida de agua y electrolitos, como también los son los episodios de diarrea que llegan a causar y precipitar la desnutrición tanto de macro como micronutrientes, estos cuadros clínicos pueden deberse a agentes virales, bacterianos, parasitarios y con menos frecuencia micóticos. El uso de medicamentos de patente en estos casos suele ser de gran utilidad para la recuperación de la salud, pero también el uso de alternativas basadas en plantas medicinales, en la actualidad ha presentado un gran auge en su utilización ya que es uno de los medios curativos más difundidos en México, como producto de una tradición prehispánica y colonial, además por la escasez de los servicios médicos en las zonas rurales, la gente recurre a este tipo de terapias, teniendo ventajas sobre los medicamentos de patente ya que son menos costosos y es una terapia más natural. En este trabajo se pretendió evaluar la actividad amebicida y antibacterial de cinco plantas de la familia Asteracea, se realizaron extractos acuosos de *Chrysactinia mexicana*, *Viguiera gregii*, *Flourensia cernua*, *Parthenium incanum* y *Zinnia acerosa*, con los cuales se evaluó la actividad amebicida *in vitro* frente a *Entamoeba histolytica*, mediante el cultivo Monoxénico de Robinson, se obtuvieron los porcentajes de mortalidad de los trofozoitos, y se sometieron a análisis de varianza ($\alpha = 0.05$) y la comparación múltiple de medias de Tukey. Los extractos acuosos de las especies vegetales en estudio no mostraron diferencia significativa con el fármaco de elección Diyodohidroxiquinoleina, ya que todos presentaron una actividad similar a él, resultando ser excelentes amebicidas *in vitro*. También se evaluaron extractos acuoso y etanólicos de las mismas especies vegetales mencionadas frente a *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* y *Escherichia coli*, mediante el método de susceptibilidad antimicrobiana de Kirby-Bauer por difusión en agar Mueller Hinton, modificado por la técnica de difusión en pozo. Se midieron los halos de inhibición de desarrollo en cm, con los cuales se realizó el análisis de varianza ($\alpha = 0.05$), y la comparación múltiple de medias de Tukey, mostrando que el extracto acuoso de *C. mexicana* presentó mayor actividad sobre *S. boydii* y *S. flexneri*, mientras que el extractos acuosos de *V. gregii* únicamente produjo mayor inhibición de desarrollo frente a *S. enteritidis* y *S. boydii* su extracto etanólico presentó mayor inhibición de desarrollo *in vitro* frente a *S. dysenteriae* y *S. boydii*, el extracto etanólico de *C. mexicana* presentó actividad antibacterial frente a todas las bacterias en estudio excepto por *E. coli*, que no presentó susceptibilidad alguna frente a ningún extracto tanto etanólico como acuoso.

I. Introducción

Las infecciones gastrointestinales son las más frecuentes en nuestro país y poseen una gran importancia social, fundamentalmente por su carácter epidémico, ya que causan brotes persistentes y extensos que pueden afectar no sólo a los habitantes de una región, sino también al comercio internacional (Fondo para la Paz-Programa de Salud, 2000)

Las diarreas infecciosas agudas se manifiestan como síndromes cuya etiología puede deberse a agentes virales, bacterianos, parasitarios y con menor frecuencia micóticos; estas enfermedades son infecciones debilitantes muy comunes y afectan a personas de todas las edades en el mundo (Betancourt y Pérez, 1999).

Entre las principales complicaciones que se presentan en los cuadros diarreicos sobresalen la pérdida de agua y electrolitos. Los episodios de diarrea pueden exacerbar la desnutrición, tanto de macro como micronutrientes. Los efectos de la diarrea sobre el estado nutricional del paciente se producen por uno o más de los siguientes mecanismos: reducción de la ingestión dietética, absorción disminuida de nutrientes, aumento del catabolismo, pérdida directa de nutrientes por el intestino e ineficiencia metabólica debida a deficiencias de micronutrientes (Martínez *et al.*, 1998).

Los métodos de control más utilizados son los medicamentos antidiarreicos, que sólo van dirigidos a curar los síntomas. Sin embargo, se olvida la causa que motivó el cuadro, lo cual ocasiona que el microorganismo quede instalado en el tubo digestivo sin ser eliminado por completo (Ecomedic, 1998).

En ocasiones el tratamiento de elección son medicamentos antibacterianos o antiparasitarios, de acuerdo con el agente causal de la enfermedad, los cuales suelen ser costosos y para personas de bajos recursos es complicada su adquisición; además, los servicios médicos en las zonas rurales y conurbadas son escasos (Escobedo *et al.*, 2000).

El uso de plantas medicinales es uno de los medios curativos para este tipo de infecciones más difundidos en México, como producto de una tradición prehispánica y colonial, además, por la escasez de servicios médicos en las zonas rurales, la gente recurre principalmente a este tipo de terapias (Lozoya *et al.*, 1987).

En Estados Unidos, el 25% de los medicamentos de patente contienen ingredientes activos derivados de plantas, y el médico promedio extiende aproximadamente ocho recetas diarias basadas en ellas. Los medicamentos más eficaces contienen con frecuencia sustancias activas de origen vegetal. En esta época en la que el consumo individual de medicamentos ha aumentado, también ha surgido la tendencia de volver a las fuentes naturales (plantas medicinales) para curar las enfermedades, aparentemente no se trata de una moda, sino de la íntima necesidad de adoptar en todos los aspectos, un sistema de vida más sencillo y acorde con la naturaleza y sobre todo más económico (Anónimo, 1987).

Por lo anterior, la presente tesis tiene como objetivos:

- ❖ Evaluar el efecto amebicida *in vitro* de los extractos acuosos de las hojas de *Chrysactina mexicana* Gray, *Flourensia cernua* DC., *Parthenium incanum* Kunth, *Figuiera gregii* (Gray) Blake y *Zinnia acerosa* (DC.) Gray sobre los trofozoitos de *Entamoeba histolytica* mediante cultivo "Monoxénico de Robinson".
- ❖ Evaluar el efecto antibacterial *in vitro* de estos extractos acuosos y etanólicos sobre la enterobacterias *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, y *Escherichia coli* no patógena, con el método de Kirby-Bauer de difusión en agar Mueller Hinton.

2. Antecedentes

2.1 Patologías del aparato digestivo

En las enfermedades del aparato digestivo los síntomas son tan variables que es difícil dar una idea en conjunto. No debe olvidarse que el sistema digestivo es quizá el más expresivo que existe en el organismo, en el que caben las más distintas molestias y repercusiones, tanto funcionales como orgánicas. Entre los trastornos del aparato digestivo, se distinguen el dolor abdominal, inflamación, irritación, hemorragias, estreñimiento, vómito y diarrea; esta última es el principal síntoma de las enfermedades digestivas, ya que denota la interrupción de la absorción completa de líquidos en el intestino. El volumen de heces suele aumentar considerablemente en la diarrea, lo que causa un incremento en la frecuencia de las evacuaciones, así como aumento en la pérdida de agua y electrolitos (Chandrasoma y Taylor, 1998). Los episodios de diarrea pueden exacerbar la desnutrición tanto de macro como de micronutrientes. Los efectos de la diarrea sobre el estado nutricional de la persona se producen por uno o más de los siguientes mecanismos: reducción de la ingestión dietética, absorción disminuida de nutrientes, aumento del catabolismo, pérdida directa de nutrientes por el intestino e ineficacia metabólica debida a deficiencia de micronutrientes (Martínez *et al.*, 1998).

La diarrea aguda puede reconocerse desde el punto de vista clínico y fisiopatológico en las dos variantes siguientes:

a) Diarrea no inflamatoria. Es causada por microorganismos o sustancias que no producen ruptura ni daño del epitelio intestinal, las enterotoxinas que producen los microorganismos son las causantes de estimular la secreción intestinal excesiva de iones y agua. Estas sustancias son absorbidas de manera pobre, son osmóticamente activas y causan una secreción lenta de líquido al interior de la luz intestinal. Las manifestaciones clínicas fundamentales de la diarrea infecciosa no inflamatoria son evacuaciones acuosas con cantidad mínima o nula de sangre, y ausencia de leucocitos fecales en el examen de las evacuaciones. El intestino delgado tiene mayor probabilidad de afectarse.

b) Diarrea inflamatoria. Es causada por microorganismos o sustancias que rompen la barrera de la mucosa intestinal por medio de la invasión directa o la invasión de citotoxinas. La ruptura de la mucosa produce células inflamatorias y sangrado al interior de la luz. Las características de las diarreas inflamatorias son evacuaciones sanguinolentas de volumen reducido, a menudo con cólicos abdominales inferiores o urgencia asociada. En ocasiones pueden presentarse síntomas que incluyen fiebre o choque. El sitio de afectación intestinal preferentemente es el colon y el examen de una muestra de evacuaciones revela múltiples leucocitos fecales y eritrocitos (Grendell *et al.*, 1997).

2.2 Las enfermedades gastrointestinales

Su distribución es mundial, y predominan claramente en los países subdesarrollados (Macías, 1998)

Las enfermedades gastrointestinales suelen expresarse con mayor frecuencia como diarrea. En México, a pesar de lo extensamente estudiadas continúan siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad, fundamentalmente en los niños (Betancourt y Pérez, 1999)

En el estado de San Luis Potosí, las enfermedades gastrointestinales ocupan el 12º lugar de las 20 principales causas de muerte. Para todo el estado se registraron recientemente 185 casos de absceso hepático amibiano, 24 438 de amibiasis intestinal, 96 de fiebre tifoidea debida a *Salmonella typhi* y 206 debidos a shigelosis; estas cifras son casos anuales de enfermedad sin llegar a la muerte (Secretaría de Salud, 1999)

El factor socioeconómico, específicamente la pobreza, juega un papel muy importante en la incidencia de este padecimiento, ya que la carencia de agua potable, las malas condiciones de los servicios sanitarios, la contaminación del ambiente y la ignorancia sobre la higiene personal y de alimentos, producen un aumento en la transmisión de germen por la vía fecal-oral. Existen otros factores predisponentes como guarderías y orfanatos, desnutrición, hospitalización en áreas neonatales y estados de inmunosupresión, entre otros. Las enfermedades diarreicas pueden presentarse por comer o beber demasiado, lo cual provoca un ataque ligero, especialmente si existe inflamación del estómago (gastritis), del intestino (enteritis) o de ambos (gastroenteritis). Otras causas pueden ser alguna reacción alérgica a determinado alimento y el estrés emocional o emociones violentas (diarrea nerviosa). Entre las causas más serias están el envenenamiento por alimentos (intoxicación alimentaria) y una gama de distintas infecciones de origen bacteriano o viral, particularmente las producidas por enterobacterias o protozoos. Del grupo de enterobacterias sobresalen las *Salmonellas* y *Shigellas*, en cuanto al grupo de los protozoos de mayor importancia clínica destaca la *Entamoeba histolytica* que provocan cuadros clínicos severos que pueden llevar a la muerte a un gran número de personas. Datos publicados por la OMS mencionan que estas enfermedades son la segunda causa de muerte a nivel mundial en los países industrializados (Rodríguez 1999)

2.3 Principales microorganismos patógenos

2.3.1 Familia Enterobacteriaceae

Es el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gramnegativos con importancia clínica. Son organismos ubicuos que se encuentran en el suelo, el agua y la vegetación, forman parte de la flora intestinal normal de la mayoría de los animales, incluso de los humanos. Algunos miembros de esta familia son *Salmonella* y *Shigella*, que se asocian siempre con enfermedad cuando se aíslan de seres humanos, mientras

que otros, como *E. coli*, forman parte de la flora comensal normal y pueden causar infecciones oportunistas. Es posible que las infecciones procedan de un reservorio animal, como en el caso de la *Salmonella*, o bien de un portador humano como lo es con la *Shigella*, algunas veces *Salmonella typhi* proviene de la diseminación endógena del microorganismo de una persona. Las enterobacterias se consideran como responsables del 30 al 35% de todas las septicemias (Murray *et al.*, 1997).

2.3.2 *Salmonellas*

La tribu *Salmonellaceae* se denomina así por el patólogo americano D.E. Salmon, quien fue el primero en aislar *S. choleraesuis* del intestino porcino (Mendell *et al.*, 1997). Este género está integrado por más de 2000 serotipos que colonizan el intestino del hombre y otras especies animales, como gallinas, reptiles, vacas, roedores y aves (Romero, 1999). Ciertos serotipos como *Salmonella enteritidis*, *Salmonella paratyphi* y *Salmonella typhi*, están muy adaptados al hombre y no causan enfermedad en otros huéspedes. Algunas cepas de *Salmonella* están adaptadas a los animales, pero cuando infectan a los humanos pueden causar enfermedad grave (Murray *et al.*, 1997).

2.3.2.1 Fisiología y Estructura

Las *Salmonellas* son bacilos anaerobios facultativos, gramnegativos y no formadores de esporas. Al igual que otras enterobacterias producen ácido al fermentar glucosa, reducen los nitratos a nitritos y no producen citocromo oxidasa. Son móviles por los flagelos peritriquitos y la mayoría de ellos no fermentan la lactosa. *S. typhi* es el único microorganismo que no produce gas con la fermentación de azúcares. Las *Salmonellas* pueden contener una amplia variedad de plásmidos que codifican factores de virulencia y resistencia antimicrobiana (Murray *et al.*, 1997).

2.3.2.2 Epidemiología

Ciertos serotipos, como *S. enteritidis* y *S. typhi*, sólo colonizan a los seres humanos, por lo tanto, las enfermedades sólo pueden adquirirse a través de la proximidad con una persona que ha tenido fiebre tifoidea o que es un portador crónico. En general esto implica la adquisición de microorganismos a través de la ingestión de alimentos o aguas contaminados con excrementos humanos. Aunque la transmisión interpersonal es rara, se ha demostrado transmisión anal-oral de *S. typhi* (Murray *et al.*, 1997).

2.3.2.3 Patogenicidad

Aunque la exposición a *Salmonella* es frecuente, resulta necesario un inóculo grande (10^6 a 10^8 bacterias) para el desarrollo de enfermedades sintomáticas. Las infecciones pueden manifestarse en cuatro formas: enteritidis, bacteremia, fiebre entérica y colonización asintomática (Murray *et al.*, 1997).

Las *Salmonellas* son ingeridas por vía oral y deben atravesar la barrera ácida del estómago, la primera línea de defensa contra las infecciones entéricas. Aunque estos microorganismos sobreviven poco a un pH inferior a 1.5 (pH gástrico normal), sobreviven bien a un pH de 4 o mayor y muestran una respuesta adaptativa de tolerancia ácida que puede promover su sobrevivencia a un pH bajo. Las bacterias pasan por la pared del intestino a los ganglios linfáticos del mesenterio en donde se reproducen en forma abundante, para después drenar por el conducto torácico a la circulación sanguínea y producir una bacteremia, después, el bacilo se puede diseminar a cualquier órgano o tejido, pero tiende a localizarse en las placas de Peyer, en donde produce úlceras (Romero, 1999)

2.3.2.4 Factores de patogenicidad

Se conocen cuatro mecanismos de patogenicidad bacteriana

- a) Los antígenos de superficie están asociados con las cepas de mayor virulencia, los cuales desencadenan los factores que llevan a la fagocitosis, a la vez algunos ayudan a activar las adhesinas, las cuales permiten a la bacteria adherirse a las células de los tejidos
- b) La capacidad invasiva es una característica que permite a algunas cepas penetrar con mayor facilidad en las células, atravesar el epitelio e instalarse en la estructura de la submucosa en los ganglios linfáticos, el mecanismo que favorece esta actividad no es bien conocido
- c) La endotoxina es un lipopolisacárido que se encuentra en la mayor parte de los miembros de esta familia. Esta toxina produce necrosis focal en el sitio en el que se encuentra colonizando, la bacteria esto explica las úlceras que se producen en el intestino delgado
- d) La producción de endotoxinas por algunas cepas se manifiesta por cuadros diarreicos, son consideradas similares a las enterotoxinas termolábiles y termoestables de la *E. coli* enterotoxigénica (Romero, 1999)

2.3.2.5 Manifestaciones clínicas

Las infecciones se puede manifestar de dos formas: como enteritidis que es la forma más común de la salmonelosis en la cual se presenta fiebre, espasmos, mialgias, náuseas vómitos, diarreas y dolor de cabeza. Estos síntomas aparecen en general de 6 a 48 h después del consumo de los alimentos o agua contaminados. Otra forma es por fiebre intestinal la cual es una enfermedad febril conocida comúnmente como fiebre tifoidea que se presenta con fiebre remitente progresiva, cefalea, mialgias, malestar general y anorexia después de 10 a 14 días de la ingesta de los bacilos (Murray *et al.*, 1997)

2.3.2.6 Diagnóstico

Además del cuadro clínico, el diagnóstico etiológico se establece por la identificación del agente causal. Para esto se seleccionan medios de cultivo especiales para Enterobacterias, un medio diferencial (p. ej., agar Mac Conkey), un medio de enriquecimiento (p. ej., Caldo selenito) y un medio selectivo (p. ej., agar para *Salmonella* y *Shigella*). En el medio selectivo, las salmonelas producen colonias pequeñas de menos de 1 mm de diámetro, de color gris claro o blanquecino, de bordes dentados o difusos, convexas y de superficie lisa. Una vez realizado el cultivo e identificado morfológicamente, las colonias se subcultivan, se purifica la cepa para realizar una serie de pruebas bioquímicas, como la glucosa positiva, lactosa negativa, urea negativa, ácido sulfhídrico positivo, indol negativo, voges-proskauer negativo y rojo de metilo positivo, para la identificación de la especie, finalmente, en caso de que el sistema bioquímico sugiera la presencia de una cepa de *Salmonella*, deberá realizarse la prueba serológica de aglutinación para confirmar la identidad de la especie (Murray *et al.*, 1997)

2.3.2.7 Tratamiento

El antibiótico de elección es el cloranfenicol, sin embargo, ya se han encontrado muchas cepas resistentes. La ampicilina es el antibiótico de segunda elección y actualmente se usa la combinación sulfametoxazol-trimetoprim con excelentes resultados, en algunos casos se recomienda el uso de la furazolidona, sobre todo cuando se presenta resistencia a otros medicamentos (Romero, 1999)

2.3.3 *Shigellas*

Shiga (1898), descubrió una bacteria (bacilo de Shiga) en las heces de pacientes afectados de disentería, y observó que el suero de los convalecientes aglutinaba esta bacteria. Durante los años siguientes, se descubrieron otras tres especies que también son capaces de producir la enfermedad: bacilo de Flexner, de Boyd y el de Sonne, que corresponden a las especies *S. flexneri*, *S. boydii*, y *S. sonnei* (Verger, 1989)

2.3.3.1 Fisiología y estructura

Las *Shigellas* son pequeños bacilos gramnegativos que pertenecen a la familia de las Enterobacterias, tribu *Escherichiae* y género *Shigella*. Se trata de microorganismos inmóviles y no encapsulados, son aerobios y anaerobios facultativos, presentan el siguiente perfil bioquímico: glucosa positiva, indol variable pero *S. sonnei* es positivo, TSI alcalino con profundidad ácida, H₂S negativo, gas negativo, rojo de metilo negativo, citrato de Simmons negativo, Voges-Proskauer negativo, fermentación de la lactosa negativo y manitol positivo, excepto *S. dysenteriae* (Koneman *et al.*, 1998)

2.3.3.2 Epidemiología

El ambiente tropical y los bajos estándares nutricionales se asocian con una prevalencia elevada de enfermedad diarreica en general, sin embargo, la frecuencia relativa de patógenos específicos parece ser similar, cualquiera que sea la localización geográfica. Debido al cuadro clínico característico de la disentería bacilar, representa una de las clases de diarrea infecciosa diagnosticada e identificada con mayor precisión. La frecuencia máxima de la enfermedad se presenta entre los lactantes y los niños preescolares más pequeños. La disentería bacilar habitualmente es una enfermedad latente en épocas calurosas, las moscas pueden ser importantes en su transmisión, sobre todo en climas tropicales. En los países cálidos, la disentería es más frecuente cuando la población de moscas alcanza su punto máximo, se han llevado a cabo estudios bacteriológicos de poblaciones de moscas y los resultados indican que es posible que estos insectos sean los vectores de transmisión de *Shigella* (Mandell, 1997).

2.3.3.3 Patogenicidad

La shigelosis es un padecimiento que se adquiere por la ingestión de alimentos contaminados con materia fecal humana, no se conoce la infección natural en animales, y los humanos se infectan entre sí. La enfermedad se puede adquirir con inoculos muy pequeños de bacilos, se ha comprobado que se requieren sólo 100 a 200 bacilos para que el padecimiento se desarrolle. La vía de entrada de estos bacilos es por la ingestión de alimentos contaminados que llegan hasta el íleon y posteriormente invaden el colon y particularmente el asa sigmoidea donde producen inflamación y formación de abscesos que evolucionan a ulceración (Romero, 1999).

2.3.3.4 Factores de patogenicidad

Se han identificado tres mecanismos de daño por *Shigellas*, uno de ellos es la endotoxina que se encuentra en la pared de las bacterias, la cual es un lipopolisacárido que produce necrosis focal del sitio colonizado, otro es la capacidad invasiva que se observa en las cepas virulentas y parece estar codificada en el genoma en un plásmido, porque cuando este gen falta, la bacteria es incapaz de colonizar el epitelio de la mucosa, por último una toxina llamada Shiga conocida también como una neurotoxina la cual produce inhibición de la síntesis proteica (Romero, 1999).

2.3.3.6 Manifestaciones clínicas

Se manifiesta con fiebre que llega a sobrepasar los 40 °C, cólicos intensos, vómitos, diarreas abundantes, puede haber desequilibrio electrolítico y síndrome disentérico (Romero, 1999).

2.3.3.7 Diagnóstico

Es necesaria la identificación del agente etiológico en la materia fecal del paciente con cuadro clínico de síndrome disentérico febril. La investigación de anticuerpos no es de utilidad en estos casos, por lo que se recomienda la realización de un coprocultivo, el cual debe hacerse en muestras que contengan sangre, moco o pus, ya que allí se encuentra la mayor cantidad de bacilos. Los medios de cultivo que deben seleccionarse son diferencial (p. ej., agar Mac Conkey), selectivos (p. ej., agar *Salmonella* y *Shigella* y agar Hecktoen) y de enriquecimiento (p. ej., caldo Gram negativo). En estos medios, las colonias son pequeñas, de menos de 1 mm de diámetro, de borde y superficie lisos y color gris claro. Estas colonias se subcultivan para la purificación de la cepa, para así poder realizar el perfil bioquímico y pruebas de aglutinación con anticuerpos específicos (Romero, 1999).

2.3.3.8 Tratamiento

En todos los cuadros diarreicos lo más importante es la rehidratación y el equilibrio electrolítico, aunque solo en las formas hiperagudas se presentan deshidratación y desequilibrio electrolítico, es necesario controlar este problema mediante la rehidratación por vía oral y de no ser posible, usar la vía endovenosa. Como tratamiento etiológico se utiliza ampicilina, tetraciclinas o sulfametoxazol-trimetoprim (Romero, 1999).

2.3.4 *Shwachia coli*

Esta especie pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, que son organismos ubicuos que se encuentran en el suelo, agua y la vegetación, forman parte de la flora intestinal normal, de los humanos y de la mayoría de los animales (Koneman, 1998).

2.3.4.1 Fisiología y estructura

Son bacilos gramnegativos usualmente móviles y no forman esporas. Crecen en aerobiosis y anaerobiosis, y de modo habitual se observa crecimiento tras 18 a 24 h de incubación en una variedad de medios no selectivos (p. ej., agar sangre) y selectivos (p. ej., agar Mac Conkey), en agar Mac Conkey forman colonias de color rojo intenso con difusión del pigmento. Fermentan la glucosa y la lactosa, reducen el nitrato, son catalasa positiva y oxidasa negativa (Koneman, 1998).

2.3.4.2 Epidemiología

Estos bacilos existen en una gran proporción en el tracto gastrointestinal y se asocian frecuentemente con sepsis bacteriana, infecciones del tracto urinario y gastroenteritis en viajeros a países con higiene deficiente (Koneman, 1998)

2.3.4.3 Patogenicidad

Se han descrito tres tipos principales de *E. coli* enteropatógenas: *E. coli* enterotoxigena, con cepas que producen toxinas, *E. coli* enteroinvasiva, relacionada con la invasión del epitelio intestinal, y *E. coli* enteropatógena que puede producir enterotoxinas. Estas son responsables de diarrea epidémica del adulto y del niño e inclusive de casos esporádicos de diarrea infantil en el neonato y otros tipos de diarrea incluyendo la "diarrea del viajero" en el adulto. Pero también forman parte de la flora normal del intestino. La vía de entrada del microorganismo es a través de la ingestión de alimentos contaminados con materia fecal humana (Koneman, 1998)

2.3.4.4 Diagnóstico

Se realiza mediante el coprocultivo, y para su desarrollo se utiliza como medio selectivo el agar Mac Conkey, en el cual la mayoría de las cepas producen colonias que fermentan la lactosa. Una vez obtenido el desarrollo bacteriano se realiza reacciones bioquímicas para la identificación de *E. coli*. En la actualidad se utilizan pruebas de aglutinación con anticuerpos específicos, para la determinación de cepas enterotoxigénicas que podrían producir problemas graves de salud sobretodo en niños (Baile y Scott, 1983)

2.3.4.5 Tratamiento

La terapia antibiótica para *E. coli* abarca numerosos antibióticos, como gentamicina, netilmicina, amikacina, sulfametoazol-trimetoprim, tobramicina y cefalosporinas de tercera generación (Murray y Kobayashi, 1997)

2.3.5 *Entamoeba histolytica*

Al parecer es uno de los organismos eucariotas más primitivos. Es el causante de una de las parasitosis con mayor importancia clínica que han existido, probablemente desde que la especie humana se diferenció de sus predecesores inmediatos en el curso de la evolución. Este protozooario es el causante de la amebiasis, la cual es una de las enfermedades parasitarias más frecuentes en países subdesarrollados, por sus condiciones higiénicas deficientes, la falta de cultura médica o su situación geográfica. Es una enfermedad que tienen un gran índice de frecuencia y prevalencia (Martínez, 1989)

2.3.5.1 Morfología y estructura

E. histolytica es un protozooario ubicado taxonómicamente en el Phylum Sarcomastigophora, subphylum Sarcodina, clase Loboseae, orden Amoebida, familia Endamoebidae, género *Entamoeba*, especie *histolytica*, que para su locomoción utiliza prolongaciones citoplasmáticas transitorias llamadas pseudópodos. En su desarrollo presenta dos etapas: la de trofozoito o forma vegetativa, y la de quiste o forma de resistencia. El trofozoito es de tamaño variable (de 10 a 60 micras, aunque son más frecuentes los de 20 a 30 micras). Esta célula tiene su citoplasma dividido en dos porciones: endoplasma y ectoplasma, la primera, presenta una granulación fina y con frecuencia en ella se encuentran eritrocitos completos o semidigeridos. La segunda, el ectoplasma, localizada en la porción externa del citoplasma, es hialina, sin granulaciones y causa la emisión explosiva de pseudópodos que se describen como "digitiformes" por ser semejante a los dedos de un guante (Romero, 1999).

2.3.5.2 Epidemiología

Su distribución es mundial, aunque predomina en áreas socioeconómicamente desprotegidas (países en desarrollo, sobre todo África, Asia y gran parte de América). Hasta la fecha, todavía es una de las 15 patologías más importantes del planeta, dado que genera un poco más de 500 millones de casos anuales, se expresa como enfermedad en 10% de la población mundial y es causa de 100,000 muertes por año. En la República Mexicana, los casos de infección por este protozooario abarcan todo el territorio nacional, y se estima que 16 millones de personas están infectadas, la mayoría como portadores asintomáticos, de los cuales aproximadamente de 1 200 000 a 1 500 000 cursan con síntomas colónicos. En México, se consideran los siguientes porcentajes sobre la población total: 20% de portadores, 2% de enfermos, 6% de seropositivos y muertes entre 0.1 y 0.2% de los enfermos (Romero, 1999).

2.3.5.3 Ciclo de vida

En la Figura. 1 se muestra como el quiste llega a la boca del individuo por un fenómeno de contaminación conocido genéricamente como "fecalismo". Una vez ingerido, desciende por el tubo digestivo; a su paso por el estómago, la pared quística se reblandece al contacto con los jugos gástricos, hasta que se rompe y deja libre un trofozoito metacíclico con cuatro núcleos que se dividirán cada uno en dos núcleos iguales. Ya ubicados los trofozoitos en la luz del intestino grueso, cada uno de sus ocho núcleos se rodea de citoplasma y se separa de la célula original, dando lugar a ocho entidades independientes y pequeñas, denominadas "amébulas metaquisticas", las cuales crecen hasta convertirse en trofozoitos. En la luz del intestino los trofozoitos se multiplican por fisión binaria en incontables ocasiones, aquí algunos se enquistan y al

ser arrastrados con el tránsito intestinal salen con las heces como forma infectante que pueden llegar a la boca de otro individuo y cerrarse así el ciclo biológico del microorganismo. Los trofozoítos ubicados en la luz del intestino pueden adherirse a la superficie de la mucosa e invadir los tejidos hasta romper la integridad de la misma, producen lesiones ulcerosas que poco a poco crecen con profundidad y extensión. La progresión de las lesiones permite a los trofozoítos pasar del intestino a las estructuras contiguas y vasos sanguíneos del intestino, con lo que se introducen en la circulación enterohepática y llegan al hígado, donde pueden permanecer y causar lesiones; también pueden salir por lisis de tejido hepático hasta romper la cápsula de Glisson e invadir los tejidos más cercanos (diafragma, vísceras, pared abdominal, etc.), o a través del hígado hacia la circulación y de ahí a cualquier órgano, aparato o sistema. De este modo, queda muy claro que este protozooario puede llegar a cualquier sitio del organismo, ya sea por contiguidad o por vía hematológica (Romero, 1999).

2.3.5.4 Patogenicidad

La lesión tisular en las paredes del intestino grueso inducido por invasión de *E. histolytica*, es una necrosis que crece a partir del punto de invasión hasta que se vuelve extensa, presenta escasa reacción inflamatoria en los tejidos y al invadir las paredes intestinales los trofozoítos llegan hasta los vasos capilares del colon, alcanzan la circulación enteroportal y se disemina al hígado, en el cual provocan lesiones líticas que llegan a afectar grandes porciones de las vísceras (Romero, 1999).

2.3.5.5 Factores de patogenicidad

Entre las características más importantes de *E. histolytica*, que intervienen en su relación estrecha con el huésped humano, así como con los aspectos fisiopatogénicos de la amibiasis como enfermedad, tenemos a las **adhesinas, proteínas** que colaboran con la adherencia del trofozoíto a las células epiteliales intestinales, que probablemente participan activando la cadena de eventos que inducen lisis **celular**. Esta adherencia es seguida de elevación importante de las concentraciones de **calcio** libre intracelular que aumenta la permeabilidad de la membrana **plasmática al calcio** (Romero, 1999).

2.3.5.6 Formas clínicas

Se caracteriza por evacuaciones disminuidas con una frecuencia de entre 3 y 5 veces al día, las heces, según la gravedad del cuadro, pueden presentarse **como diarrea** simple no muy líquida, acompañada de moco y sangre. En otros casos, las evacuaciones suelen ser escasas, con mucho **moco y tinción** sanguinolenta. Pueden estar acompañadas por dolor abdominal tipo cólico, de intensidad moderada y presentar tenesmo rectal. El cuadro más agudo se presenta con disenteria (Romero, 1999).

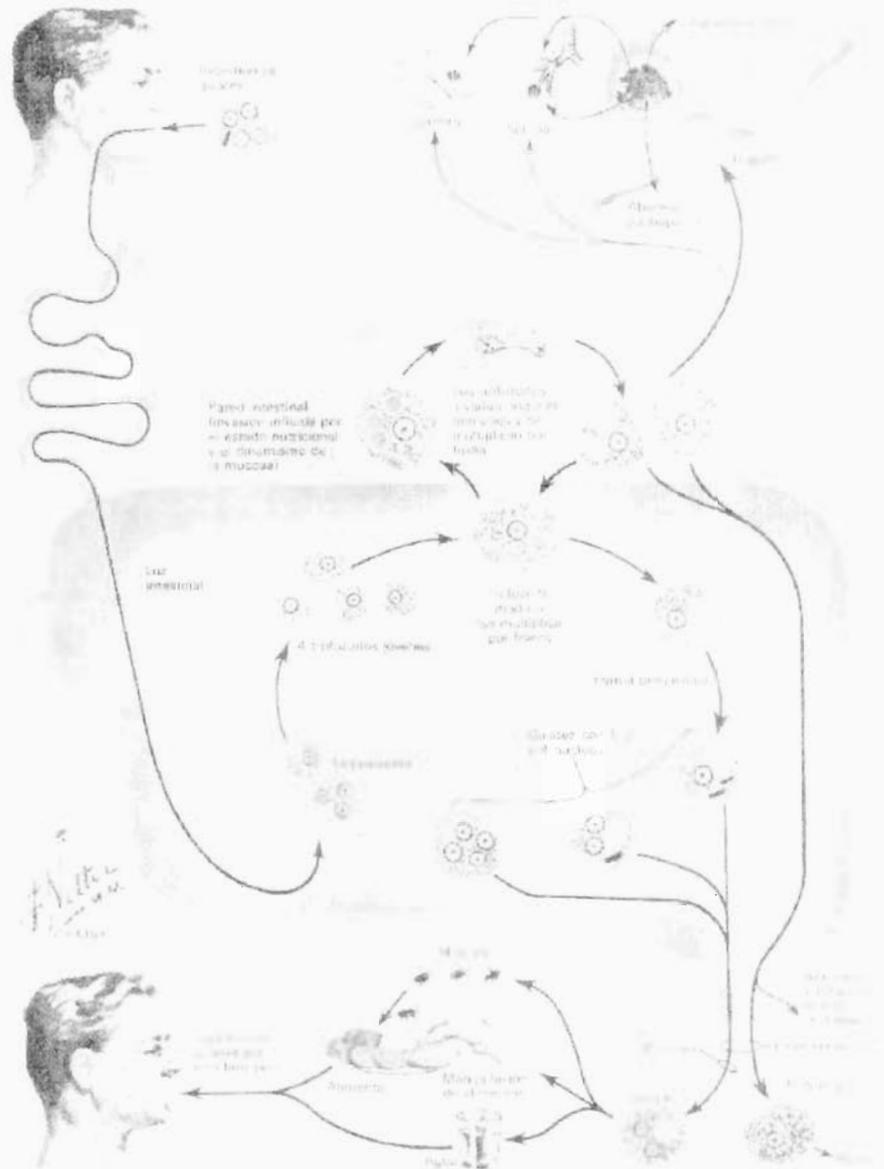


Figura 1. Ciclo Biológico de *Entamoeba histolytica* (Netter, 1985).

2.3.5.7 Diagnóstico

El diagnóstico de la amibiasis intestinal es muy importante, ya que en los casos agudos es necesario distinguirla de otras enfermedades inflamatorias intestinales, como la colitis ulcerosa o colitis por enfermedad de Crohn, ya que para este último padecimiento se prescriben corticosteroides que pueden ser letales en pacientes con amibiasis invasora aguda (Atlas, 1999).

Para el diagnóstico es necesario obtener tres muestras bajo condiciones óptimas, por lo general, sólo se detecta el 80% de las infecciones amebianas, por lo que para aumentar la tasa diagnóstica se recomienda realizar otras pruebas adicionales. Los métodos coprológicos constan de técnicas de sedimentación, flotación y concentración, el cultivo Monoxénico de Robinson es utilizado en la investigación de nuevos medicamentos, así como también métodos inmunológicos como ELISA y PCR, se utilizan en la investigación básica sobre el parásito, como su información genética y sus factores de virulencia (Botero y Restrepo, 1998).

2.3.5.8 Tratamiento

Los agentes amebicidas con los que se cuenta en la actualidad pueden ser clasificados según el sitio donde actúan en el organismo humano, así se reconocen aquellos que actúan extraintestinalmente, como lo son las dicloroacetamidas o amidas, los que actúan exclusivamente en la luz del intestino como las quinoleínas halogenadas y otros que además de actuar en nivel luminal lo hacen también en la pared intestinal por ejemplo el Metronidazol (Botero y Restrepo, 1998).

2.4 Plantas medicinales

El empleo de plantas curativas es casi tan antiguo como la propia humanidad y a lo largo de la historia, se han atesorado experiencias sobre los efectos benéficos que su uso produce en el organismo. Los conocimientos adquiridos fueron transmitidos de forma oral de padres a hijos y en cada generación se fueron acumulando, hasta que finalmente fueron recogidos en manuscritos y textos impresos como un papiro del año 1500 a. C. encontrados en lo que fue la ciudad de Tebas, en él se mencionan cientos de especies vegetales que por sus propiedades curativas eran las más utilizadas por los sacerdotes del antiguo Egipto. También los griegos y los romanos legaron al mundo la guía farmacéutica del siglo I de nuestra era, escrita por el apotecario y médico griego Dioscorides, en la que se incluyen más de 600 plantas con aplicaciones curativas (Shaw, 1998).

Nuestro país no es la excepción, ya que uno de los regalos más valiosos del mundo antiguo a la civilización occidental es el Códice Badiano de Martín de la Cruz, conservado en el museo de Antropología e Historia, donde se describen principalmente las plantas medicinales del mundo náhuatl, la medicina indígena prehispánica estuvo basada principalmente en materiales vegetales con los que se trataban úlceras, enfermedades de la piel, quemaduras, padecimientos renales y hepáticos, mordeduras de animales ponzoñosos, etc (Agueta, 1999).

En la actualidad, algunas plantas se emplean tradicionalmente como antidiarreicas y antisepticas intestinales, estas cualidades se deben posiblemente a su contenido en taninos, ya que tienen propiedades astringentes. Los taninos precipitan las proteínas superficiales de las células, con lo cual disminuye su permeabilidad y origina una capa proteica insoluble sobre la mucosa inflamada, que la protege de las sustancias irritantes e impide las exudaciones y secreción mucosa, así como la absorción de toxinas bacterianas, todo lo cual da como resultado una acción antidiarreica. Este mismo efecto lo presentan las plantas con alto contenido en anetol. Algunas plantas consideradas como antidiarreicas son el nogal, toble, agrimonia, fresa, hierba de san Roberto, anís estrellado, ortiga blanca, rosal silvestre, rosa roja, zarzamora y arandano (Fitoterapia básica del aparato digestivo, 2001).

También en la familia Asteracea se encuentran especies propias del altiplano potosino que la medicina tradicional reconoce como plantas con uso para malestares gastrointestinales (Juárez *et al.*, 1995). La familia Asteracea es conocida como una de las más numerosas dentro de las plantas fanerógamas. En la flora de la zona árida del estado de San Luis Potosí, es uno de sus principales componentes. Su distribución se extiende hasta el encinar arbustivo, mezquital extradesértico y matorral submontano (Salas de L., 1987). Se citan 11 tribus con 73 géneros que representan al 25% de los géneros reportados por Rzedowski en 1991, para la República Mexicana y 190 especies.

2.4.1 Plantas utilizadas regionalmente en las enfermedades gastrointestinales

2.4.1.1 *Chrysactinia mexicana* Gray

Se le conoce comúnmente como hierba de San Nicolás. Los lugares donde vegeta son Chihuahua, Coahuila, San Luis Potosí, Valle de México, Zacatecas, Tamaulipas y Nuevo León. Florece de abril a octubre y sus partes usadas son las ramas con hojas, que al frotarse emiten un marcado olor dulce y agradable. Es un arbusto de hasta 60 cm de alto, glabro o casi glabro, muy aromático, las ramas lignificadas conservan las bases de las hojas densamente imbricadas sobre las ramas, en su mayoría alternas, algo carnosas, lineales de 5 a 15 mm de largo y verdes oscuras, cabezuelas solitarias sobre pedunculados hasta de 5 cm de largo, bracteados, involucro anchamente campanulado a subhemisférico, de 1 a 6 mm de alto, sin calículo, sus brácteas más o menos 12, lineal-oblongas, agudas en el ápice, con una gran glándula oleífera en la parte superior, receptáculo convexo, flores liguladas más o menos 12, amarillas, sus láminas oblongas de 6 a 10 mm de largo, flores del disco 20 a 50, sus corolas amarillas, de 4 a 6 mm de largo, aquenios lineales, de 3 a 4 mm de largo, estrados, negruzcos, algo pubescentes, vilano más largo que el aquenio, sus cerdas de color blanquecino-castaño (Rzedowski y Rzedowski, 1985).

En la parte aérea de *C. mexicana* se han reconocido algunos terpenos como, (+) (-)- piperitona, hidroxipiperitona, (1S, 6R)-hidroxipiperitona, y (-)- (3S, 1S, 6R)-6 hidroxipiperitol (Delgado *et al.*, 1997).

2.4.1.2 *Flourensia cernua* DC.

Conocida comúnmente como hojaseñ, esta especie se localiza en Sonora, Nuevo León, Zacatecas, Coahuila y San Luis Potosí, en laderas volcánicas y llanuras aluviales con matorral desértico microfilo entre 1 800 y 2 000 metros sobre el nivel del mar, es usada para lavados intestinales y evita dolores estomacales. Es un arbusto resinoso de uno a dos metros de altura, con hojas elípticas - agudas hasta de 2.5 cm de largo, presenta cabezuelas amarillas y solitarias sostenidas por largos ejes. Las hojas son olorosas y de sabor amargo.

El Sr. Ernest Koeler en 1934 encontró un aceite esencial en la proporción de 0.864%, un glucósido en la de 0.332% y una resina y afirma que contra la indigestión puede tomarse un centímetro cúbico de la tintura o la infusión de las hojas, y que la tintura debe prepararse con alcohol de 90°GL.

2.4.1.3 *Parthenium incanum* Kunth

A esta especie se le conoce comúnmente como mariola, es originaria de América boreal y occidental y está presente en climas semisecos y templados, entre los 1080 y 2000 metros sobre el nivel del mar, como planta silvestre esta especie está asociada al matorral xerófilo, pastizal y bosque de encino, en la República Mexicana se encuentra de Sonora a Coahuila y hacia el sur hasta Hidalgo. Su principal aplicación medicinal suele ser para padecimientos digestivos. En Aguascalientes se bebe el cocimiento de sus hojas para tratar los trastornos digestivos, como estreñimiento o afecciones del hígado. En Puebla la emplean contra la diarrea, mala digestión y dolor de estómago. Es una planta arbustiva de 50 cm de altura, con ramas vellosas, las hojas son más largas que anchas, en el anverso son de color verde grisáceo y en el reverso se ven blancas y vellosas. Las flores son blancas y están en cabezuelas sobre las puntas de las ramas. Los frutos son pequeños, blancos y peludos. Florece en la época de verano.

De las hojas de *P. incanum* se obtiene un aceite esencial en el que se han identificado los monoterpenos camfenol, cineol, para-cimeno, limoneno, β mirceno, ocimeno, α y β -pineno, sabineno, terpinen-4-ol, α terpineno, terpinoleno y laveno; y los sesquiterpenos cariofeleno, coronopilín, humuleno, ligulatin y valenceno. Además, la hoja contiene el flavonoide 4'-5-7trihidroxi-3-metoxi-flavona. En las partes aéreas se han detectado los flavonoides apigenina, tres derivados metoxilados de camferol, luteolín y tres metoxi-derivados y cinco derivados metoxilados de quercetagenín; los sesquiterpenos ambrosin y coronopilín, y los triterpenos argentanin B, isoargentatin y friedelinol (Argueta, 1994).

2.4.1.4 *Figuiera gregii* (A Gray) S.F. Blake

Se trata de un arbusto muy ramificado, de 0.5-2 m de alto, indumento estriguloso y adpreso, finamente canescente y con glándulas, hojas opuestas, con frecuencia en fascículos axilares, sus láminas angostas a anchamente ovadas, rómbicas a lanceoladas, de 10 a 25 mm de largo, de 4 a 12 mm de ancho, ápice obtuso, mucronado a redondeado a agudo, angostas o ampliamente cuneadas en la base, márgenes con el borde entero a ondulado, esparcidamente estrigulosas en el haz, blanco-canesciente en el envés, con pelos densos y más o menos glandulosos, cabezuelas radiadas, solitarias y terminales, sobre pedúnculos de 1-5 cm de largo, involuero campanulado a hemisférico, de 3.5-5 mm de alto, 2 a 3 seriado, las brácteas externas oblongo-lanceoladas, las internas más ovadas, de 3 a 5 mm de largo, de 1 a 2 mm de ancho, agudas, endurecidas en la base, estrigulosas, verdoso-negruzcas; flores liguladas (8 a 12) amarillas, sus láminas oblongo-elípticas, de 7 a 16 mm de largo, de 3 a 6 mm de ancho, flores del disco, (80-120), amarillas, de 3.2 a 4.5 mm de largo, páleas oblanceoladas, de 4 a 6 mm de largo, carinadas, amarillento-blanquecinas, puberulentas-vilosas abajo, ápice acuminado, aquenios cuneados, de 2.8 a 3.5 mm de largo, cuadrangulares a comprimidos, glabros, de color negro, vilano ausente. Principalmente en lugares rocosos. En matorrales y bosques de pino. Altitud de 1500-2000 m. Florece de junio a noviembre. Distribución en Coahuila, Zacatecas, Nuevo León y San Luis Potosí (García, 2001)

2.4.1.5 *Zinnia acerosa* (DC.) Gray

Este arbustito es conocido **comúnmente** con el nombre de hierba del burro. Generalmente se localiza en el matorral desértico micrófilo con *Larrea tridentata*, y es frecuente en los municipios de Charcas, Soledad, Venado y Villa Hidalgo del **estado** de San Luis Potosí, en altitudes que varían de 1,700 a 2,300 metros sobre el nivel **del** mar, donde florece de junio a octubre. La infusión del follaje **se** usa contra los retortijones, también se toma el cocimiento de las hojas en **axunas** contra enfermedades palúdicas. Es una planta subarborescente perenne, de 15 a 20 cm de alto, hojas lineales de 5 a 10 mm de largo y menos de 1 mm de ancho, **presenta** cabezuela, pedunculadas en las partes terminales de las ramas e involuero **de** 5 a 6 mm de alto, brácteas subimbricadas y flores liguladas (5) blancas, pistiladas, **flores** de **disco** amarillas, hermafroditas, con aquenios provistos de vilano de dos **aristas**, **una** del largo de la corola y otra pequeña reducida a una tercera parte de ésta. Receptáculo provisto de páleas que envuelven parcialmente a los aquenios de las flores del **disco** (Salas de I., 1987)

En cuanto a **sus** componentes químicos, en esta planta se han identificado las **guavanólidas** zaluzanina C y zaluzanina D, así como dos **elemenólidos**, zinarosina y acetato de dihidrozinarosina (Romo, 1985)

3. Materiales y métodos

3.1 Preparación del material vegetal

3.1.1 Recolección

La recolección de las plantas se realizó en los municipios de Guadalcázar, San Luis Potosí, Soledad de Graciano Sánchez, Ahualulco y Vanegas, localizados en la zona semiárida del altiplano potosino, en junio de 1999. Todas las especies se recolectaron en floración, de cada una se recolectaron aproximadamente 500 g y dos ejemplares, los cuales se entregaron al herbario Isidro Palacios del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la UASLP para su identificación taxonómica y registro. El resto del material recolectado se dejó secar a temperatura ambiente en bandejas de papel absorbente, en un lugar fresco, ventilado y protegido de los rayos solares directos, durante un periodo aproximado de tres semanas, posteriormente las hojas de cada planta se molieron en licuadora hasta que se obtuvieron aproximadamente 150 g de peso seco de cada planta.

3.2 Preparación de los extractos

3.2.1 Extracto acuoso

La preparación del extracto acuoso se realizó mediante una infusión, para ello se calentaron 150 mL de agua destilada, una vez iniciada la ebullición se adicionaron 20 g de hojas de la planta seca y molida, se retiró del fuego, se cubrió con un vidrio de reloj, se dejó reposar por un periodo de 15 minutos para extraer los compuestos químicos solubles de la planta; posteriormente, la solución obtenida se filtró sobre algodón y el volumen final se aforó a 100 mL para obtener una concentración de 0.2 g de planta en 1 mL de agua destilada, enseguida se esterilizó por microfiltración en sistema millipore bajo campana tipo II y se envasó en viales estériles.

3.2.2 Extracto etanólico

La preparación del extracto etanólico se llevó a cabo por el método de percolación. Para ello se pesaron 100 g de la planta seca y molida y se colocaron en percoladores de vidrio, el material se dejó macerar con etanol absoluto en cantidad suficiente para el cubrimiento completo de la planta y se sometió a extracción continua hasta agotamiento; el volumen obtenido se redujo en rotavapor a presión reducida a una temperatura de 32 a 48 °C, hasta obtener un volumen final de 200 mL, que equivale a una concentración de 0.5 g de planta en 1 mL de etanol (Dominguez, 1985).

3.3 Evaluación de la actividad amebicida

3.3.1 Obtención de la cepa

Para llevar a cabo el aislamiento de *Entamoeba histolytica* se realizó un muestreo de 70 niños entre 8 y 9 años de edad del 3° y 4° grado de la escuela primaria oficial Nicolás Bravo ubicada en Madrigal sin número colonia Reyitos y 14 jóvenes de 19 a 20 años que acudieron al Centro de Salud Universitario presentando síntomas característicos de una amebiasis intestinal los cuales proporcionaron al laboratorio de parasitología, muestra fecal serie III con solución conservadora y muestra serie I sin solución conservadora, a las muestras serie III, se le realizó un coproparasitoscopico por el método directo y de concentración por flotación de Faust para la identificación de quistes de *E. histolytica*. De las muestras que resultaron positivas a quistes de *E. histolytica* se utilizaron las muestras serie I para el montaje de los cultivos para la evaluación de los extractos la cual se llevo a través de seis etapas: Siembra, enriquecimiento del medio, preparación del frotis, subcultivo, estandarización del inoculo de trofozoítos y aplicación de los tratamientos.

3.3.2 Siembra

En un frasco de vidrio con agar salino en forma inclinada se colocaron aproximadamente 50 mg de materia fecal con quistes de *E. histolytica*, los cuales fueron previamente identificados por método directo y de concentración por flotación de Faust, se le adicionan dos gotas de mezcla de antibióticos (penicilina y estreptomycin para inhibir el desarrollo de otros microorganismos), 5mg de almidón de arroz, como principal nutriente de energía, se lleno el frasco hasta el borde superior con medio "BR" (medio de sales a pH de 9.2 y *Escherichia coli*, la cual actúa de manera simbiótica con el parásito), (ver anexo), y se incubó en estufa bacteriológica 24 h a 37° C.

3.3.3 Enriquecimiento del cultivo

Después de transcurridas las 24 h, se saco el frasco del cultivo de la estufa para llevar a cabo el enriquecimiento del medio, con una pipeta serológica se extrajeron 3 ml, del líquido sobrenadante, teniendo cuidado de no tocar el fondo del frasco de cultivo ya que en el se encuentra el inóculo de las amibas, este líquido sobrenadante sólo contiene los desechos producidos por el metabolismo de la amiba. Se adicionaron los nutrientes ya mencionados, además dos gotas de peptona al 20% y se llenaron hasta el borde superior del frasco con medio "BRS" (medio "BR", italato de potasio y suero bovino recién preparado y en partes iguales), nuevamente se incubó en la estufa bacteriológica a 37°C por 24 h.

3.3.4 Preparación del frotis

Para verificar la eclosión de los trofozoitos y su viabilidad en los cultivos, se preparó un frotis del inoculo de las amibas, el cual se encuentra en el fondo del frasco, primeramente se desechan con una pipeta serológica 3 mL del liquido sobrenadante (desechos del metabolismo de la amiba), y con una pipeta pasteur se homogeniza el inoculo, tomando una gota de este y se mezcla con otra gota de lugol en un portaobjetos y se verifica la eclosión de los trofozoitos microscópicamente.

3.3.5 Subcultivo

Del fondo del frasco del cultivo se tomó aproximadamente 1 mL del inoculo, se le colocó en otro frasco con agar salino en forma inclinada y se agregaron dos gotas de mezcla de antibióticos, dos gotas de peptona al 20%, 5 mg de harina de arroz, se llenó hasta el borde con la mezcla BRS recién preparada y se dejó incubar durante 24 h a 37°C. Después de este cultivo nuevo o subcultivo, se preparó un frotis y se observó al microscopio; con la presencia de trofozoitos en estos cultivos, se les consideró como positivos. Las amibas se reproducen dentro de las primeras 48 h de cultivo; si a las 72 h, no se observan formas parasitarias infectantes, el cultivo se considera negativo y se desecha (Palacios, 1999).

3.3.6 Estandarización del inoculo del trofozoitos

Para la aplicación de los tratamientos fue necesario tener aproximadamente 1'240.000 de trofozoitos/2 mL en cada uno de los cultivos, lo cual se logró de la siguiente manera: se colocaron 50 µL del homogenizado del cultivo, 100 µL de lugol y 50 µL de solución Ringer, este procedimiento se realizó 20 veces, en 20 cultivos y se contaron en la cámara de Newbauer, posteriormente se obtuvo la media de trofozoitos/2 mL (Cuadro 2) y se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Celulas/mm}^3 = \text{CC}/\text{CGC} \times \text{D} \times 10$$

Donde

CC= Número de la media de la células contadas

CGC= Numero de cuadrantes contados

D= Factor de dilución

10= factor que transforma la superficie de los mm² (1/10 mm³) a volumen en mm³ (Bernard, 1998)

CALCULO

$$\text{Trofozoitos/2 mL} = 124/4 \times 4 \times 10 \times 1000 \text{ mL} \times 2 \text{ mL} = 1'240,000 \text{ Trofozoitos/2 mL}$$

Número de la media total de trofozoitos = 124

Volumen total de homogenizado = 2 mL

Dilución = 1:4

Cuadro 1. Numero total de trofozoitos/2 mL contados en cámara de Neubauer.

No. DE CULTIVO	No. DE TROFOZOITOS/2 mL
1	127
2	126
3	125
4	123
5	123
6	122
7	127
8	126
9	122
10	123
11	123
12	127
13	121
14	122
15	123
16	124
17	126
18	126
19	123
20	125
N=20	∑X=124

3.3.7 Aplicación de los tratamientos

Se prepararon 40 frascos del cultivo con aproximadamente 1'240,000 trofozoitos/mL de los cultivos positivos, se le adicionaron 5 mg de almidón de arroz en polvo, una gota de mezcla de antibióticos, una gota de peptona al 40 %, así como

0.8 mL del tratamiento correspondiente (extractos acuósos, agua o diyodohidroxiquinoleína). Luego se alforó con el medio BRS y se dejó incubar por un periodo de 48 h a 37° C. Una vez transcurrido el periodo de incubación se desechó 3 mL del líquido sobrenadante y el resto se homogenizó para contar los trofozoitos viables y no viables, se tomaron en cuenta algunos criterios que enmarcan la mortalidad del trofozoito como el rompimiento del endoplasma y ectoplasma, así como la ausencia de inclusiones de almidón, rompimiento total del núcleo y la excesiva granulación del citoplasma (Palacios, 1999). Para lo cual primero se colocaron 50 µL de solución Ringer con pH de 7.4 y 100 µL de lugol con 50 µL del cultivo homogenizado, luego, de esta mezcla se colocaron 10 µL en la cámara de New-Bauer y se registró el porcentaje de mortalidad de trofozoitos.

3.3.8 Diseño experimental y análisis estadístico

La actividad amebicida de los extractos acuósos de las especies vegetales, se evaluó mediante un diseño experimental con asignación de tratamiento completamente al azar con cinco repeticiones, y tres aplicaciones secuenciadas de los tratamientos.

Los datos obtenidos se normalizaron mediante arcoseno de la raíz cuadrada del porcentaje de mortalidad para someterlos a un análisis de varianza ($\alpha=0.05$), utilizando el programa NCSS (Hintze, 1992). Posteriormente se realizó una comparación múltiple de medias por el método de Tukey con un nivel de significancia de 0.05, para lo cual se utilizó el programa estadístico computarizado de la UANL (Olivares, 1994).

3.4 Evaluación de la actividad antibacterial

La evaluación de la actividad antibacterial se realizó por el método de susceptibilidad antimicrobiana de Kirby-Bauer por difusión en agar Mueller Hinton (M-H), modificado por la técnica de difusión en pozo.

La actividad antibacterial de los extractos acuósos y etanólicos de las cinco especies vegetales en estudio, se evaluó en las especies bacterianas: *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella sonnei*, y *Escherichia coli* no patógena aisladas de casos clínicos, con previa identificación realizada en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP hasta la tipificación de la especie con pruebas serológicas de aglutinación y reacciones bioquímicas, como tratamiento testigo de los extractos acuósos y etanólicos se utilizó agua destilada estéril y etanol de 96° GL, respectivamente. Para este ensayo se utilizó un diseño experimental con asignación del tratamiento completamente al azar y cinco repeticiones.

3.4.1 Estandarización del inóculo

Con una asa estéril se tomaron una o dos colonias de un cultivo bacteriano de 18 h de incubación, se suspendieron en un tubo de ensayo con 5 mL de agua destilada

estéril y se agitó en un vórtex, la turbidez se ajustó al estándar 0.5 de MacFarland, (ver anexo) el cual corresponde a una suspensión bacteriana de 10^6 a 10^8 microorganismos/mL (Koneman, 1998).

3.4.2 Realización de la prueba antibacterial

Con el inóculo estandarizado y mediante el método de siembra masiva con hisopo de algodón estéril, se inocularon cajas de Petri con una capa de agar M-H de 4 mm de espesor. En el centro de la capa de agar se perforó un pozo con una asa bacteriológica estéril de 6 mm de diámetro.

Se colocó un volumen de 75 μ L de cada uno de los líquidos tratamientos en los pozos hechos en el agar, las cajas se dejaron reposar 1 h a temperatura ambiente para favorecer la difusión de los tratamientos en el agar. Los cultivos con los tratamientos se incubaron a 35 ± 2 °C durante 24 h, la evaluación de la actividad antibacterial se determinó mediante la medición del diámetro (cm) de inhibición de desarrollo bacteriano, a las 24 h de incubación.

3.4.3 Análisis estadístico

Los resultados del ensayo para evaluar la actividad antibacterial de los extractos acuosos y etanólicos se sometieron a un análisis de varianza con un nivel de significancia 0.05, mediante el programa de NCSS (Hintze, 1992). Posteriormente se realizó una comparación múltiple de medias por el método de Tukey con un nivel de significancia de 0.05, para lo cual se utilizó el programa estadístico computarizado de la UANL (Olivares, 1994).

4. Resultados

4.1 Actividad amebicida

La actividad amebicida *in vitro* producida por los compuestos químicos solubles extraídos de las especies vegetales estudiadas se resume en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Mortalidad de trofozoitos de *F. histolytica* causada por extractos acuosos con las cinco especies vegetales de la familia Asteraceae en tres aplicaciones sucesivas (0.8 mL)

Tratamiento	**Medias de la Mortalidad (%)		
	1ª Aplicación	2ª Aplicación	3ª Aplicación
<i>C. mexicana</i>	95.0 B	96.0 A	100.0 A
<i>F. cerium</i>	89.8 A B	98.8 A	99.06 A
<i>P. incanum</i>	92.0 A B	96.4 A	98.04 A
<i>E. gregii</i>	91.4 A B	99.6 A	99.6 A
<i>Z. acerosa</i>	90.0 A B	96.0 A	100.0 A
DYHQ*	100.0 A	100.0 A	100.0 A
Agua	0.0 C	0.0 C	0.0 C
Ninguna adición	0.0 C	0.0 C	0.0 C
Tukey ($\alpha=0.05$)	18.7040	12.4105	6.7960

* Diyodohidroxiquinoleína. **Medias con la misma letra son estadísticamente similares.

Se registró un aumento de los porcentajes de mortalidad con las aplicaciones sucesivas de los extractos vegetales, con la primera aplicación el porcentaje de mortalidad más alto correspondió a *C. mexicana*, mientras que en la segunda aplicación la mayor mortalidad se logró con el extracto de *F. gregii*, sin embargo, con la tercera aplicación del tratamiento la mortalidad total sólo se consiguió con *C. mexicana* y *Z. acerosa*. Con el fármaco de referencia la mortalidad fue absoluta desde la primera aplicación.

Cuadro 3. Análisis de varianza (ANOVA) completamente al azar. Actividad amebicida de extractos acuosos de Asteráceas silvestres del altiplano potosino ($\alpha=0.05$)

Aplicación	Fuente de variación	GL	S.C.	C.M.	F.Calc	Prob>F
1	Tratamiento	5	867.6103	173.522	1.89	0.1328
	Error	24	2198.291	91.59546		
	Total	29	3065.901			
2	Tratamiento	5	444.5761	88.91523	2.20	0.0871
	Error	24	967.8278	40.32616		
	Total	29	1412.404			
3	Tratamientos	5	50.84176	10.16835	0.84	0.5340
	Error	24	229.2225	12.0926		
	Total	29	341.0642			

GL: Grados de libertad, S.C.: Suma de cuadrados, C.M.: Cuadrado medio

El análisis de varianza aplicado a los resultados obtenidos con los diferentes tratamientos, mostró diferencias significativas entre ellos, por ello, se procedió a determinar a cuál o cuales de los tratamientos se debieron dichas diferencias, mediante la comparación múltiple de medias de Tukey (Cuadro 2). Con lo cual se forman tres grupos y en base con los resultados obtenidos, los cinco extractos acuosos de la familia asteracea presentan altos porcentajes de mortalidad e incluso en la tercera aplicación de los extractos, *C. mexicana* y *Z. acerosa*, llegaron a presentar 100% de mortalidad (Figura 2) igual al presentado por el DYHQ que se encuentra dentro del grupo A, de esta manera se muestra que no hay diferencia entre el fármaco y los extractos, sin embargo si hay diferencia con el grupo B resultando una actividad nula (Figura 3).

4.2 Actividad antibacterial

Como se observa en el Cuadro 4, solamente los extractos acuosos de *C. mexicana* y *V. gregii*, presentaron actividad antibacterial *in vitro* aunque de manera diferente entre las especies de enterobacterias evaluadas, así *C. mexicana* solamente inhibió el desarrollo de *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, y *Shigella flexneri*, mientras que *V. gregii* sólo inhibió el desarrollo de *Salmonella enteritidis* y *Shigella boydii*.

4.2.1 Extractos acuosos

Cuadro 4. Inhibición del desarrollo (cm) en los cultivos de enterobacterias por efecto de los extractos acuosos de Asteráceas silvestres del altiplano potosino

Bacteria	**Medias de los halos de inhibición (cm)					Agua	*Tukey
	<i>C. mexicana</i>	<i>F. cernua</i>	<i>P. incanum</i>	<i>V. gregii</i>	<i>Z. acerosa</i>		
<i>S. enteritidis</i>	0.0 B	0.0 B	0.0 B	1.04 A	0.0 B	0.0 B	0.1304
<i>S. typhi</i>	1.16 A	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.1142
<i>S. boydii</i>	1.20 A	0.0 B	0.0 B	1.04 A	0.0 B	0.0 B	0.2326
<i>S. dysenteriae</i>	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0689
<i>S. flexneri</i>	1.28 A	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0867
<i>S. sonnei</i>	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.1212
<i>E. coli</i>	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0000

* Tukey ($\alpha = 0.05$) **Medias con la misma letra son estadísticamente iguales

Los extractos acuosos de *C. mexicana* provocaron los halos de inhibición de mayor diámetro (1.16 a 1.28 cm) de todas las especies en los cultivos de *Salmonella typhi*, *Shigella boydii* y *Shigella flexneri*, en tanto que *V. gregii* sólo inhibió el desarrollo de *Salmonella enteritidis* y *Shigella boydii*, con halos medios de inhibición del desarrollo de 1.04 cm. Así, los extractos acuosos de *V. gregii* y *C. mexicana* pueden tener inhibición de desarrollo complementaria, aunque sean inocuos para *Shigella dysenteriae* y *Shigella sonnei* (Cuadro 4).

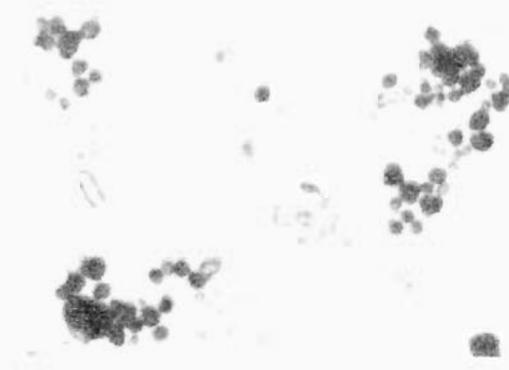


Figura 2. Trofozoito muerto por aplicación de extracto vegetal

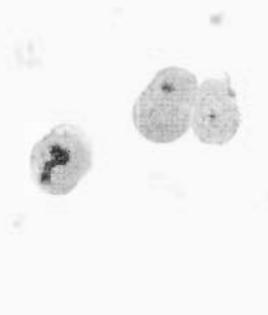


Figura 3. Trofozoitos vivos sin aplicación de extracto vegetal

4.2.2. Extractos etanólicos

En el Cuadro 5 se muestran los resultados de la aplicación de los diferentes extractos etanólicos vegetales, a diferencia de los extractos acuosos, todos los etanólicos inhibieron el desarrollo de las enterobacterias estudiadas *in vitro*, con excepción de *P. incanum* que fue inocuo para *Shigella dysenteriae* y *Shigella sonnei* y el de *Z. acerosa* frente a *Salmonella typhi*, mientras que *E. coli* no mostró susceptibilidad alguna a los extractos etanólicos estudiados. Claramente el extracto etanólico de mayor actividad antibacteriana fue el de *C. mexicana*, con halos de inhibición promedio de desarrollo de 1.60 a 2.70 cm, y el de menor efecto en *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri* y *Shigella sonnei* fue el de *P. incanum*, el cual produjo halos promedio de inhibición del desarrollo de 0.0 a 1.10 cm para estos microorganismos. Para *Salmonella typhi*, *Shigella boydii* y *Shigella flexneri* el extracto con menor efecto fue el de *Z. acerosa*, pues sólo produjo halos medios de inhibición de 0.0 a 1.20 cm.

Cuadro 5. Inhibición del desarrollo (cm) en los cultivos de enterobacterias por efecto de los extractos etanólicos de Asteráceas silvestres del altiplano potosino

Bacteria	**Medias de los halos de inhibición (cm)						*Tukey
	<i>C. mexicana</i>	<i>P. cernua</i>	<i>P. incanum</i>	<i>V. gregii</i>	<i>Z. acerosa</i>	Etanol	
<i>S. enteritidis</i>	1.62 A	1.40 B	1.10 C	1.14 C	1.58 B	0.76 D	0.1304
<i>S. typhi</i>	2.36 A	1.58 B	1.16 D	1.32 C	0.0 B	0.0 E	0.1142
<i>S. boydii</i>	2.32 A	1.58 B	1.20 CD	1.42 BC	1.04 D	0.0 E	0.2326
<i>S. dysenteriae</i>	2.70 A	1.84 B	1.52 D	1.68 C	1.20 E	0.0 E	0.0689
<i>S. flexneri</i>	2.00 A	1.18 C	0.0 B	1.22 BC	1.06 D	0.0 E	0.0867
<i>S. sonnei</i>	1.60 A	1.50 A	0.0 B	1.04 B	1.14 B	0.0 E	0.1242
<i>E. coli</i>	0.0 E	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 B	0.0 E	0.0000

* Tukey ($\alpha=0.05$) **Medias con la misma letra son estadísticamente iguales

De acuerdo con el análisis de varianza (Cuadro 6) aplicado a los extractos acuosos y etanólicos ($\alpha=0.05$), las diferencias entre tratamientos fueron significativas, por ello, se procedió a determinar a cuál o cuales tratamientos se debieron dichas diferencias, mediante la comparación múltiple de medias de Tukey (Cuadro 4 y 5). De esta manera se establecieron cinco grupos en donde el mejor agente antibacteriano de los extractos etanólicos para *Salmonella typhi*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* y *Shigella sonnei*, fue *C. mexicana*, pero para *Shigella sonnei* también igualmente efectivo fue *P. cernua*, y para *Salmonella enteritidis* lo fue el extracto de *Z. acerosa*. Mientras que el extracto acuoso de *C. mexicana* fue el mejor tratamiento para *S. typhi*, *S. boydii*, *S. flexneri* siendo también igualmente efectivo el extracto *V. gregii* para *S. enteritidis* y *S. boydii* (Figura 4). Cabe resaltar que *E. coli* no fue afectada por ningún tratamiento (ni acuoso ni etanólico), lo cual es deseable ya que la cepa evaluada constituye parte de la flora normal del intestino, y que el etanol sólo afectó moderadamente al cultivo de *Salmonella enteritidis*, esto demuestra que el halo de inhibición del desarrollo provocado por los extractos, al ser mayores se debieron a los componentes de las plantas y no al etanol, esto se debe a que el etanol que actúa como

testigo negativo solamente nos sirve para extraer los compuestos químicos solubles de las plantas y el etanol por si solo en el cultivo de bacterias se evapora y este no causa ningún efecto de inhibición de desarrollo en ellas excepto por *S. enteritidis* que causa una moderada inhibición en su desarrollo, ya que el halo presentado es realmente pequeño en comparación con el que presentan los extractos vegetales y al realizar el análisis estadístico, muestra que el valor de Tukey (Cuadro 4 y 5) no afecta de una manera significativa el desarrollo, en comparación a la actividad que muestra frente a los extractos vegetales ya que cuando estos están en contacto, el etanol se evapora pero una pequeña cantidad del etanol provocó una reacción pequeña en ella y los compuestos químicos extraídos de las plantas que se difundieron en el medio son los verdaderos responsables de la inhibición de desarrollo y esto se puede explicar con el aumento del halo de inhibición y estadísticamente con el valor de Tukey (Cuadro 4 y 5)

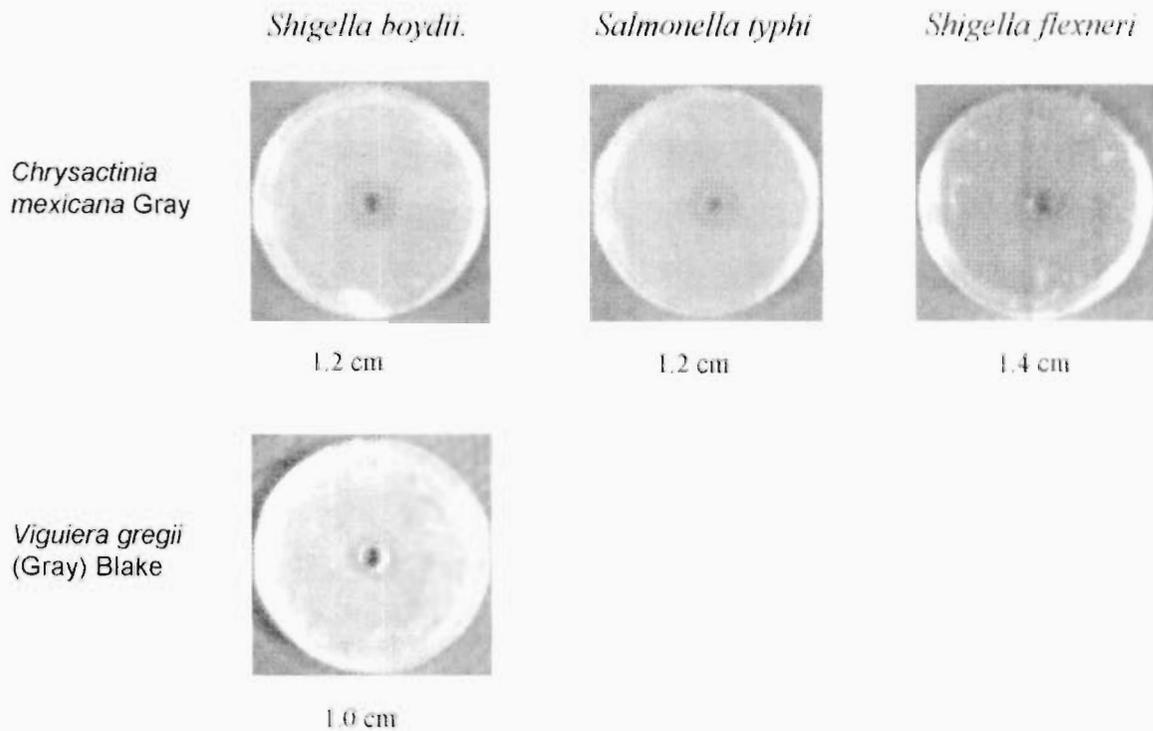
Cuadro 6. Análisis de varianza (ANOVA) completamente al azar. Actividad antibacterial de los extractos acuosos y etanólicos de Asteráceas silvestres del altiplano potosino sobre las siete enterobacterias estudiadas.

Bacteria	F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.Cal	Prob>F
<i>S. enteritidis</i>	Tratamientos	11	25.144	2.285818	637.90	0.0000
	Error	48	0.172000	3.5831E-03		
	Total	59	25.316			
<i>S. typhi</i>	Tratamientos	11	38.55783	3.505227	1274.64	0.0000
	Error	48	0.132000	2.7501E-03		
	Total	59	38.68983			
<i>S. boydii</i>	Tratamientos	11	34.67533	3.152303	276.11	0.0000
	Error	48	0.547999	1.1411E-02		
	Total	59	35.22333			
<i>S. dysenteriae</i>	Tratamientos	11	52.94051	4.812773	4812.77	0.0000
	Error	48	4.8000E-02	0.001		
	Total	59	52.98051			
<i>S. flexneri</i>	Tratamientos	11	29.28583	2.662348	1681.48	0.0000
	Error	48	7.5991E-02	1.5831E-03		
	Total	59	29.36183			
<i>S. sonnei</i>	Tratamientos	11	24.72133	2.247394	691.51	0.0000
	Error	48	0.156	3.2501E-03		
	Total	59	24.87733			
<i>E. coli</i>	Tratamientos	11	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
	Error	48	0.0000	0.0000		
	Total	59	0.0000			

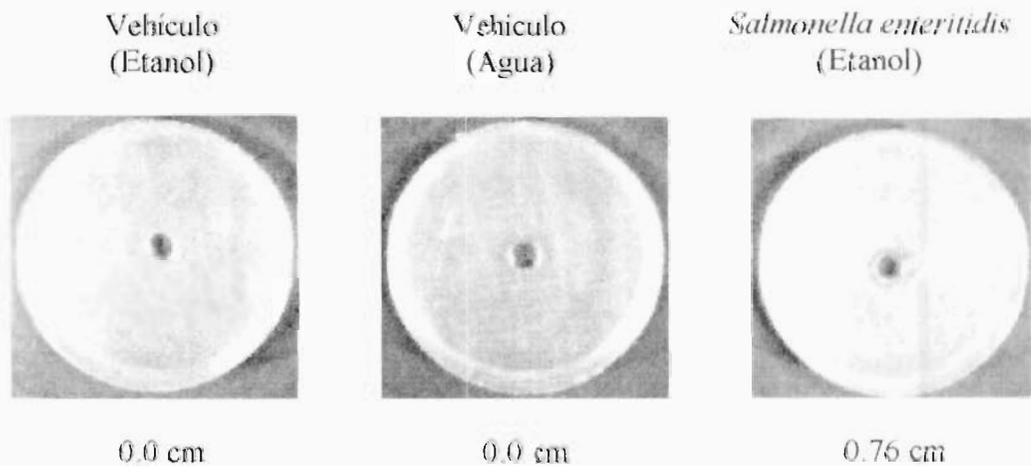
F.V. Fuente de variación, G.L. Grados de libertad, S.C. Suma de cuadrados, C.M. Cuadrados medios

Figura 4 Halos de Inhibición de desarrollo presentados por los extractos vegetales sobre las bacterias en estudio: a) Extractos Acuósos, b) Sin Aplicación de Extracto, c) Extractos Etanólicos.

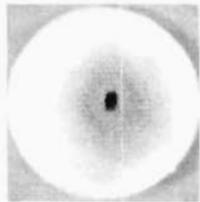
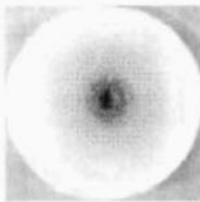
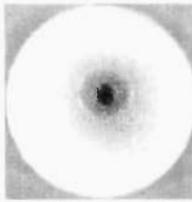
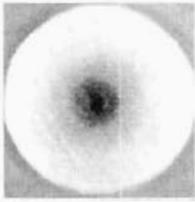
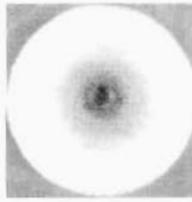
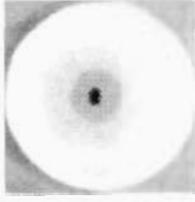
a) Extractos Acuósos. Actividad Antibacterial de Extractos Vegetales Acuósos 0.2 de Planta en 1 ml de agua. Periodo de incubación 18 – 24 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$



b) Sin aplicación de Extracto. Control de Desarrollo
Periodo de Incubación 18 – 24h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$



- a) Extractos Etanólicos. Actividad Antibacterial de Extractos Vegetales Etanólicos. 0.5g de Planta en 1 ml de Etanol.
Periodo de incubación 18 – 24 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$

	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Chrysactinia mexicana</i> Gray	 1.7 cm	 2.1 cm
<i>Parthenium incanum</i> Kunth		 1.1 cm
<i>Viguiera gregii</i> (Gray) Blake.	 1.2 cm	 1.3 cm
<i>Zinnia acerosa</i> (DC.) Gray.	 1.2 cm	
<i>Florensia cernua</i> DC.	 1.4 cm	 1.1 cm

5. Discusión

El efecto amebicida *in vitro* de los extractos acuosos de las especies vegetales de la familia Asterácea estudiadas, causó un porcentaje de mortalidad alto de trofozoitos, estadísticamente igual al del fármaco de acción luminal DYHQ. Este producto es efectivo sobre la forma móvil y los quistes de *E. histolytica*. La eliminación de los quistes se basa en su capacidad para destruir los trofozoitos de manera directa, ya que se absorbe muy poco en el intestino y la mayoría es eliminada por las heces (Vademécum Farmacéutico, 1987). Por ello se considera que fue conveniente para este estudio ya que al actuar directamente sobre los trofozoitos como lo haría *in vivo*, lo que al comparar las actividades de los diferentes tratamientos, *C. mexicana* y *Z. acerosa* se comportaron de forma similar a DYHQ.

Con respecto a la actividad antibacteriana, los extractos acuosos y etanólicos de *C. mexicana* produjeron la mayor actividad inhibitoria del desarrollo, pero en el extracto acuoso el halo de inhibición del desarrollo fue de menor diámetro, y las bacterias que presentaron susceptibilidad a ellos fueron solamente *Shigella boydii*, *Shigella flexneri* y *Salmonella enteritidis*, mientras que el extracto etanólico de esta planta provocó el mayor diámetro de halo de inhibición del desarrollo de todas las bacterias, excepto *E. coli*. Cabe señalar que *E. coli* no mostró susceptibilidad alguna frente a los tratamientos. La razón por la que los extractos etanólicos produjeron mayor inhibición en el desarrollo *in vitro* de los microorganismos estudiados puede ser a que el etanol permite extraer mayor cantidad de compuestos polares y no polares, lo cual les confiere mayor actividad antibacteriana.

En efecto, los extractos estudiados *in vitro* actuaron como inhibidores de desarrollo bacteriano, así como amebicidas, ya que algunos produjeron porcentajes de mortalidad de trofozoitos de *E. histolytica* del 100%. Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo se recomienda ampliar los estudios de estas plantas, ya que para recomendarlas como tratamiento, es necesario enlazar nuevos estudios para encontrar la dosis exacta, así como evaluar sus propiedades tóxicas, el mecanismo de acción, los efectos adversos, y elucidar las estructuras de los principios activos presentes en ellas.

6. Conclusiones

- ❖ Todos los extractos acuosos a una concentración de 200 mg/mL, con una cantidad de prueba de 160 mg referido a planta seca, de las especies vegetales *Chrysactinia mexicana*, *Flourensta cernua*, *Parthenium incanum*, *Viguiera gregii* y *Zinnia acerosa* de la familia Asteraceae resultaron ser amebicidas *in vitro* en el cultivo Monoxénico de Robinson, produciendo porcentajes cercanos al 100% y algunos como *C. mexicana* y *Z. acerosa* que en la última aplicación de tratamiento presentaron una actividad estadísticamente igual al fármaco de elección Diyodohidroxiquinoleina.
- ❖ De los extractos acuosos a una concentración de 200 mg/mL, de las especies vegetales estudiadas con una cantidad de prueba 15 mg referidos a planta seca, el de *C. mexicana* produjo la mayor actividad inhibitoria *in vitro* en *Shigella boydii* y *Shigella flexneri*, mientras que el extracto acuoso de *V. gregii* fue más activo frente a *Salmonella enteritidis*.
- ❖ Todos los extractos etanólicos a una concentración de 500 mg/mL, con una cantidad de prueba de 37.5 mg referido a planta seca, de las especies vegetales estudiadas, manifestaron actividad antibacterial, de ellas, el extracto de *C. mexicana* resultó ser el más efectivo para inhibir el desarrollo de *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhi*.
- ❖ *Escherichia coli* no presentó susceptibilidad alguna a los tratamientos evaluados.

7. Términos botánicos

Adpreso. Aplicado contra la superficie o eje vertical de referencia, dirigido hacia el ápice de la misma con un ángulo de divergencia de 15° aproximadamente.

Apice. Es la punta o extremo de una hoja folículo (el término puede aplicarse a otros órganos).

Axilares. Situado en la axila con el eje calinar en que se inserta.

Bracteados. Que tiene bractreas: inflorescencia bracteada.

Bracteas. Se le llama a cualquier órgano foliácea situado en la proximidad de las flores y distinto en tamaño, forma, consistencia y color etc., de las hojas normales y constituyen el cáliz y la corola.

Cabezuelas. Son las pequeñas células que se insertan en números de dos en cada cabecita, y que, a su vez, sostienen de 2 a 5 filamentos antediríamos cada uno. Cuando faltan cabezuelas, se insertan directamente sobre la cabecita.

Calículo. Conjunto de hojas parecidas a los sépalos, localizados por debajo del cáliz verdadero o del involucio caliciano.

Campanulado. De forma semejante a una campana, como la corola de muchas campanuláceas y singulares de las especies del gen.

Canecente. Indumento que llega a ser blanco o blanco-grisáceo con el tiempo.

Carinada. Con una quilla, conjunto de pétalos inferiores o delanteros de la flor papilionada corola con un pétalo amplio, posterior (estandarte), dos pétalos laterales (alas), y dos pétalos basales unidos (aquilla), típica de algunas leguminosas.

Carnosa. Que tiene carne o da consistencia de la misma fruto carnoso, hoja carnosa, raíz carnosa etc.

Extrigulosas. Escasa o cortamente estrigosa.

Fasciculados. Con todos los estambres con un mismo punto.

Glabro. Lampiño, desprovisto de pelo o vello.

Imbricada. Tipo de prefloración, en los cuales una de las piezas del cáliz o de la corola es totalmente externa y otra totalmente externa.

Lineles. Prolongados y angostos, de bordes paralelos o casi paralelos comparables en cierto modo a una línea de trazo grueso.

Lignificada. Fenomeno a favor del cual se deposita lignina en mayor o menor grado y además, derivados oxigenados de la celulosa, xilanas, etc., en la membrana celular, está suele aumentar considerablemente de volumen y se vuelve muy rígida, de manera que la celulosa de la membrana lignificada es ya incapaz de crecer. Su misión principal consiste en la consolidación de los tejidos y de los órganos de la plantas.

Líguladas. Cada una de las corolas gamopétalos y cigomorfas, tridentadas o quinquedentadas, que poseen las flores de la periferia o de toda la inflorescencia porque asemejan una lengüecita.

Mucronado. Que termina abruptamente en una proyección corta, rígida y aguda (mucrón), formada por una extensión del nervio medio.

Oblanceoladas. De forma lanceoladas invertida (el ápice más ancho que la base)

Oblongas. Referente a estructuras laminares mucho más largas que anchas, con los márgenes paralelos.

Oleífera. Que contiene o trae aceite, célula oleífera.

Páleas. Escama interior de la flor de las gramíneas.

Pendúculo. Eje de sostén de la flor solitaria.

Perenne. Referente a plantas que viven normalmente tres o más años.

Puberulenta. Con pelo simple, muy cortos, diminutamente pubescente.

Receptáculo. Es la base que sirve de asiento y también a las diversas flores de una inflorescencia en capitulo (receptáculo común), en umbela (simple o compuesta), en cima o en espadice.

Vilosas. Con tricomas largos y suaves, curvadas pero no afelpadas.

8. Anexo

- ❖ **Agar salino**
Se prepara agar salino al 1.5% en solución de NaCl al 0.7 %, se distribuye en frascos de vidrio con tapón de rosca en alícuotas de 2.5 mL, cada uno, se esteriliza a 15 lb durante 15 min para después dejarlos enfriar en forma inclinada.
- ❖ **Solución concentrada de penicilina**
A un frasco ampula con 1'000,000 unidades de penicilina G **sódica cristalina** inyectar 5 mL de agua destilada estéril y mezclar hasta disolver la penicilina.
- ❖ **Solución concentrada de penicilina y estreptomina**
La solución concentrada de penicilina preparada anteriormente, se inyecta a un frasco ampula con 1g de sulfato de Estreptomina y se agita para disolver.
- ❖ **Solución de trabajo de penicilina y estreptomina**
 - 1) Pasar la solución concentrada de penicilina - estreptomina del frasco ampula a una probeta de 25 mL estéril y aforar a 20 mL con agua destilada estéril.
 - 2) Guardar alícuotas de 5 mL en tubos estériles con tapón de rosca cubiertos con papel aluminio a 20 °C.
- ❖ **Solución de peptona al 20 %**
Se pesan 20 g de peptona de carne y se disuelven en 100 mL de agua destilada, se calienta hasta ebullición por 1 min, después de lo cual se esteriliza a 15 lb por 15 min, colocándose en alícuotas de 2.5 mL en tubos con tapón de rosca.
- ❖ **Solución concentrada de Ftalato de potasio**
Se pesan 10.2 g de ftalato de potasio, se disuelven con 5 mL de NaOH al 40 %, se ajusta el pH a 6.3, se lleva a un volumen de aforo de 100 mL con agua destilada, esterilizándose posteriormente a 15 lb por 15 min. La solución de trabajo se prepara haciendo diluciones 1:10 con agua destilada estéril.
- ❖ **Medio Robinson (R)**
Se pesan 2.5 g de NaCl, 1 g de ácido cítrico monohidratado, 0.25 g de fosfato monobásico de potasio, 0.5 g de sulfato de amonio, 0.025 g de sulfato de magnesio heptahidratado, todas estas sales se disuelven en aproximadamente 50 mL de agua destilada, se adicionan 2 mL de ácido láctico, 2.3 mL de NaOH al 40 %, 1 mL de azul de bromotimol 0.04 %, ajustar el pH a 9.2, aforar a 500 mL con agua destilada. Se reparte en alícuotas de 125 mL en frascos con tapón de rosca y se esteriliza a 15 lb de presión por 15 min.
- ❖ **Medio bacteria, Robinson (BR)**
Se toma inóculo de una colonia de Escherichia coli del cultivo en agar EMB y se coloca en cada uno de los frascos del medio (R), se incuban en estufa bacteriológica a 37 °C durante 48 h, después de este tiempo se guardan en refrigeración.

- ❖ Medio bacteria, Robinson, suero (BRS)
Se utiliza un volumen del medio (BR), al cual se le adiciona el mismo volumen de solución de trabajo de italato de potasio y suero bovino filtrado e inactivado a 63°C durante 3 min.
- ❖ Solución concentrada de lugol
Se disuelven 10 g de yoduro de potasio en 100 mL de agua destilada, adicionar 5 g de cristales de yodo hasta que la solución este saturada, es decir que algunos cristales permanezcan sin disolver. Filtrar y conservar la solución en frasco ámbar, para su uso.
- ❖ Solución de trabajo de lugol
Diluir 1 volumen de solución concentrada de lugol con 5 volúmenes de agua destilada.
- ❖ Solución de diyodohidroquinoleína
Pesar 25 mg de diyodohidroquinoleína en polvo y se disolver en agua destilada estéril.
- ❖ Estándar de BaSO₄ 0.5 Mac-Farland
La solución estándar se prepara agregando 0.5 mL de BaCl₂ 0.048 M (1.175% P/V BaCl₂ · H₂O) a 99.5 mL de H₂SO₄ 0.36 N. Se distribuyen en alícuotas de 4 a 6 mL de Sulfato de bario, turbidez estándar, en tubos de igual volumen, fuertemente cerrados y almacenados en la oscuridad a temperatura ambiente, para determinar la turbidez se utiliza el nefelómetro.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Atías A., 1999, Parasitología médica, publicaciones técnicas mediterráneo Ltda., pp 119-128
- Anónimo, 1999, "Plantas medicinales prehispánicas", Arqueología mexicana, Vol. VII, Núm. 39, pp 30-44.
- Argueta V. A., 1994, "Atlas de las plantas, medicina tradicional mexicana III", Instituto Nacional Indigenista, pp 978
- Betancourt S. J. M., Pérez M. B., 1999, "Estudio de serotipos de *Escherichia coli* en niños veracruzanos con diarrea aguda", Acta pediátrica de México, Vol. 20, Núm. 2, pp 72, Marzo-Abril, (1999).
- Bernard H.J., 1987, Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio, 9ª edición, editorial Nasso, S.A., pp 582-584
- Botero D. y Restrepo M., 1999, Parásitos humanos, Corporación para investigaciones biológicas, Medellín, Colombia, Reimpresión de la tercera edición, pp 457
- Castleman M., 1994, "Remedios para más de 200 enfermedades", Hierbas curativas, Editorial Diana, pp 1-2
- Chandrasoma P. y Taylor C. R., 1998, Patología general, editorial el manual moderno, S.A. de C.V., 2ª edición, pp 615.
- Delgado G., Ríos M.Y. y Rodríguez C., 1993, "Additional terpenoids from *Chrysactinia mexicana*", Instituto de Química de la UNAM, Planta medica, Vol 59, Núm 5, pp 482.
- Dominguez A X., 1985, Métodos de investigación fitoquímica, editorial Limusa, S.A. de C.V., pp 12-17.
- Esquivel C. R. J., 1998, "Vademecum farmacéutico IPE", 7ª edición, reza editores, pp 731
- Escobedo Ch. E., Esquivel A., Fernández C. G., Escobar J. I. Y Flores N. G., abril-junio 2000, "Estudio de la eficacia y seguridad de brodimoprim contra trimetoprim sulfametoxazol en niños con gastroenteritis bacteriana, Vol XIII, Núm. 52, pp 383-384.
- Grendell H. J., Mcquaid R.K., Friedman L.S., 1997, Diagnóstico y tratamiento en gastroenterología, Editorial el manual moderno, S.A. de C.V., pp 139-140

- Hintze L. J., 1992, NCSS 5 X series, Copyright, Kaysville, Utah
- Juárez P. M. A., Reyes A. J. A., Andrade A. J. A., (1995) "Flora útil de tres tipos de matorral en el altiplano potosino-zacatecano", Revista de Geografía Agrícola, Universidad Autónoma de Chapingo, Num 22-23, Septiembre, pp 1-17.
- Koneman E.W., Allen D.S. y Dowell V. R., Janda W. M., Somemers H. M., Winni W. C., 1998, Diagnostico Microbiológico, 3ª edición, editorial médica panamericana, México, pp 100-102, 602,612-613
- Lozoya X., Aguilar A. y Camacho J. R., 1987, "Encuesta sobre el uso actual de plantas en la Medicina tradicional Mexicana", revista medica del IMSS, Vol 25, pp 238-291.
- Mandell L., Bennett E.J., Dolin R., 1997, Enfermedades infecciosas principios y práctica, cuarta edición, editorial médica panamericana, pp 2254-2258, 2276-2278.
- Macías G.E., Octubre 1998, "Gastroenteritis por Gramnegativos en la infancia", Práctica pediátrica, Vol. 7, Num 10, pp 7-10, Octubre 1998.
- Murray P.R., Kobayashi G. S., Pfaller M. A. y Rosenthal S. K., 1997, Microbiología médica panamericana, 2ª edición, pp 227-237
- Moreno P. N., 1984, Glosario botánico ilustrado, editorial continental S. a. de C. V., pp 1-304
- Olivares S. E., 1994, Paquete de diseños experimentales versión 2.5, Facultad de Agronomía, UANL, México
- Palacios C. E., 1994, "Cultivo Monoxénico, una alternativa para la identificación de *Entamoeba histolytica* en el Laboratorio", Tesis para recibir el título de Químico Farmacobiólogo, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, pp 21-22.
- Romero C.R., Sánchez M.H., 1999, Amibiasis, Grupo editorial Mundo médico, pp 5-8
- Romero C.R., 1999, Microbiología y Parasitología humana, editorial médica panamericana, pp. 294-302.
- Romo De V. A., 1985, Productos naturales de la flora mexicana, Editorial Limusa, pp 88, 92, 161 y 105
- Rzedowski J. y Rzedowski C. G., 1985, Flora fanerogámica del valle de México, 1ª edición, Vol II, México, pp 569-570

Rzedowski J., 1991, El endemismo de la flora fanerogámica mexicana: una apreciación analítica preliminar, *Acta botánica* 15, pp 47-64

Shaw N., 1998, "Plantas medicinales", *Guía ilustrada de la salud*, pp 8-15

Salas de L. S., 1987, Familia compositae en la zona árida de S. L. P., 1er tomo, pp 125

Verger G. G., 1989, Enfermedades infecciosas, ediciones Doyma S. A., pp 137-139

Otras fuentes consultadas

Anónimo, 2001, "Fitoterapia básica del aparato digestivo", dirección en internet <http://personal.redestb.es/martin.plito.htm>

Ecomedic, enero 1998, "Diarrea", dirección en internet <http://www.Ecomedic.com/em/diarrea.htm>, fecha de consulta 3/11/00

Fondo para la paz-programas de salud, 2000, dirección en internet <http://www.Fondopaz.org/mx/tp/2000.html>, fecha de consulta 3/11/00

García P. J. D., Registro del herbario Isidro Palacios del Instituto de Zonas Desérticas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Martínez S. H., Díez U.S., Meneses D.L.M., 3^o Noviembre-2000, "Alimentación sostenida durante diarrea aguda en niños menores de cinco años", *Salud Pública, México*, 1998, dirección en Internet <http://dgei.insp.mx/salud/40/402-6.html>, fecha de consulta 3- Noviembre-2000

Rodríguez R. A., 1999, dirección en internet <http://www.grupomundomedico.com/medicogeneral/diciembre99/editorial.html>, fecha de revisión 1/11/00

SEED, Secretaría de Salud Pública, Sistema Epidemiológico y Estadístico de Definiciones (CIE-10), "Servicios de Salud de San Luis Potosí, Departamento de Vigilancia Epidemiológica, Principales causas de morbilidad y mortalidad", 1999