

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In vitro* DE CINCO ESPECIES VEGETALES
REGIONALES PROMISORIAS SOBRE UNA POBLACIÓN DE *Helicobacter
pylori* Y *Escherichia coli***

SANDRA LILIANA MONCAYO ZAMUDIO

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICAS
PROGRAMA DE BIOLOGIA CON ENFASIS EN MICROBIOLOGIA
SAN JUAN DE PASTO
2004**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *In vitro* DE CINCO ESPECIES VEGETALES
REGIONALES PROMISORIAS SOBRE UNA POBLACIÓN DE *Helicobacter
pylori* Y *Escherichia coli***

SANDRA LILIANA MONCAYO ZAMUDIO

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
BIÓLOGO CON ÉNFASIS EN MICROBIOLOGÍA**

**Asesora
JAQUELINE MENA. M. Sc.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE BIOLOGÍA CON ÉNFASIS EN MICROBIOLOGÍA
SAN JUAN DE PASTO
2004**

Nota de aceptación:

Firma del director

Firma del jurado

Firma del jurado

San Juan de Pasto, Octubre de 2004

*A Octavio y Miryam, Mis Padres.
In Memoriam,*

A Joel Zamudio y Nohemí Martínez, Mis Abuelos.

SANDRA LILIANA MONCAYO ZAMUDIO

AGRADECIMIENTOS

Expreso mis agradecimientos a la Universidad de Nariño, a sus directivas y a todas las personas que en una u otra forma colaboraron para hacer posible la elaboración y ejecución de este trabajo.

JAQUELINE MENA. M. Sc. Biotecnología, Profesora del Departamento de Biología, Universidad de Nariño. Asesora de la Investigación.

MARIA HELENA ERAZO. Bacterióloga, Jefe de Laboratorio Clínico, Hospital Departamental.

ARSENIO HIDALGO TROYA. M. Sc. Matemáticas Aplicadas. Profesor Biometría, Universidad de Nariño.

ALVARO PAZOS MONCAYO. M. Sc. Microbiología. Profesor Departamento de Biología , Universidad de Nariño.

MARIA CLARA YÉPES. M. Sc. Ciencias Biomédicas, Vicerrectora, Universidad de Nariño.

HAROLD BOLAÑOS. Médico Histopatólogo. Universidad del Cauca. Patólogos Asociados. Departamento de Nariño.

SANDRA ESPINOSA, Laboratorio de Especialidades, Universidad de Nariño.

GUIDO ERNESTO VILLOTA CALVACHE. Biólogo con énfasis en Microbiología Industrial, Universidad de Nariño.

ALEXANDRA ESPAÑA, Bacterióloga, Prosalud.

MARÍA ELENA SOLARTE. M. Sc. Jefe sección de laboratorios. Universidad de Nariño.

LUZ STELLA LAGOS. M. Sc. Genética. Directora Departamento de Biología. Universidad de Nariño.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	22
2. OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GENERAL	25
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	25
3. MARCO TEÓRICO	26
3.1 <i>HELICOBACTER PYLORI</i>	26
3.1.1 Reseña Histórica sobre <i>Helicobacter pylori</i> .	26
3.1.2 Infección.	27
3.1.3 Cáncer Gástrico.	29
3.2 <i>Escherichia coli</i> .	30
3.3 METODOS DE DIAGNOSTICO DE INFECCION POR <i>H. pylori</i> .	32
3.3.1 Pruebas invasivas.	32
3.3.2 Pruebas no invasivas.	33
3.4 TRATAMIENTO	34
3.4.1 Problemas Derivados del Tratamiento Convencional.	35
3.5 TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS	39
3.5.1 Tratamiento con Extractos Vegetales.	39
3.5.2 Probióticos.	41
3.6 ESPECIES VEGETALES PROMISORIAS PARA EL TRATAMIENTO DE <i>H. pylori</i>	42

3.6.1 Hierbamora (<i>Solanum nigrum</i>).	42
3.6.2 Llantén (<i>Plantago major</i>).	43
3.6.3 Caléndula (<i>Calendula officinalis</i>).	44
3.6.4 Ajo (<i>Allium sativum</i>).	45
3.6.5 Ají (<i>Capsicum anuum</i>).	47
4. METODOLOGIA	49
4.1 PARTE EXPERIMENTAL	49
4.1.1 Material Vegetal.	49
4.1.2 Obtención de los Extractos.	50
4.1.3 Preparación de los inóculos.	50
4.1.4 Evaluación de la Actividad Antibacteriana	50
4.1.5 Análisis Estadístico.	51
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
5.1 Actividad frente a <i>Helicobacter pylori</i> .	54
5.2 Actividad frente a <i>Escherichia coli</i> .	56
5.3 Análisis Estadístico.	59
5.3.1 Análisis para <i>Escherichia coli</i> .	60
5.3.2 Análisis para <i>Helicobacter pylori</i>	61
6. CONCLUSIONES	65
7. RECOMENDACIONES	66
BIBLIOGRAFÍA	67
ANEXOS	71

LISTA DE CUADROS

	pág
Cuadro 1. Revisión de <i>Helicobacter pylori</i>.	26
Cuadro 2. Revisión de <i>Escherichia coli</i>.	31
Cuadro 3. Características de las enteritis causadas por <i>E. coli</i>.	32
Cuadro 4. Características de plantas recolectadas.	49
Cuadro 5. Cálculos de peso y concentración de los extractos.	53
Cuadro 6. Análisis de Varianza.	59
Cuadro 7. Prueba de medias de Tukey para halo Vs tratamiento.	59
Cuadro 8. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.	60
Cuadro 9. Prueba de medias de Tukey para halo Vs bacteria.	60
Cuadro 10. Análisis de Varianza.	60
Cuadro 11. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.	61
Cuadro 12. Prueba de medias de Tukey para halo Vs tratamiento.	61
Cuadro 13. Análisis de Varianza.	61
Cuadro 14. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.	62
Cuadro 15. Prueba de medias de Tukey para halo Vs tratamiento.	62
Cuadro 16. Análisis de Varianza para tratamiento Acuoso.	62
Cuadro 17. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.	62
Cuadro 18. Análisis de Varianza para tratamiento Etéreo.	63
Cuadro 19. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.	63
Cuadro 20. Análisis de Varianza para tratamiento fresco.	63

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Modelo de carcinogénesis propuesto por Pelayo Correa.	30
Figura 2. Planta de Hierbamora.	43
Figura 3. Planta de Llantén	44
Figura 4. Planta de Caléndula.	47
Figura 5. Planta de Ajo.	47
Figura 6. Planta de Ají.	48
Figura 7. Microfotografía de <i>Escherichia coli</i>.	54
Figura 8. Microfotografía de <i>Helicobacter pylori</i>.	54
Figura 9. <i>Helicobacter pylori</i> en Agar Sangre (AS).	55
Figura 10. Antibiograma con extractos vegetales etéreos (parte superior ajo, derecha ají, inferior hierbamora, izquierda caléndula y central llantén) Vs <i>Helicobacter pylori</i> en AS.	55
Figura 11. Antibiograma con extractos vegetales acuosos (parte superior ajo, derecha llantén, izquierda hierbamora, inferior caléndula y central ají) Vs <i>Helicobacter pylori</i> en AS.	56
Figura 12. Extractos en fresco (parte superior ajo, derecha ají, izquierda hierbamora, inferior llantén y central caléndula) Vs <i>Helicobacter pylori</i> en AS.	56
Figura 13. <i>Escherichia coli</i> cultivada en Agar EMB.	57
Figura 14. Antibiograma con extractos vegetales etéreos (parte superior hierbamora, derecha ajo, izquierda caléndula, inferior ají y central llantén) Vs <i>Escherichia coli</i> en AMH.	57
Figura 15. Antibiograma de extractos vegetales acuosos (parte superior hierbamora, derecha ajo, izquierda caléndula, inferior ají y	

central llantén) Vs <i>Escherichia coli</i> en AMH.	58
Figura 16. Extractos vegetales en fresco (parte superior hierbamora, derecha caléndula, izquierda ajo, inferior ají y central llantén) Vs <i>Escherichia coli</i> en AMH.	58

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Aislamiento y purificación de <i>Helicobacter pylori</i>.	71
Anexo B. Composición de medios de cultivo.	73
Anexo C. Resultados de la actividad antibacteriana de especies de plantas superiores.	74

GLOSARIO

ADENOCARCINOMA: tumor maligno de un epitelio glandular.

AMBIENTE MICROAEROFÍLICO: ambiente con muy poco oxígeno.

ANTERA: parte del estambre de las flores que contiene el polen.

ANTÍGENO: sustancia que, introducida en un organismo, puede provocar la formación de anticuerpos.

ANTIOXIDANTE: se dice del producto que protege ciertos materiales o compuestos orgánicos de la oxidación o deterioro gradual.

ATROFIA: consumición, falta de nutrición de un órgano.

BACTERICIDA: que posee la capacidad de matar a las bacterias.

BIOPSIA: examen microscópico de un fragmento cortado de un órgano vivo.

BRÁCTEA: hoja pequeña que nace en el pedúnculo de algunas flores.

CÁLIZ: cubierta externa de las flores completas.

CARCINOMA: una forma de cáncer.

CAROTENO: pigmento amarillo o rojo que se encuentra en los vegetales y en los animales.

CITOTÓXICA: venenoso para las células.

COROLA: cubierta externa de las flores completas que protege los estambres y el pistilo. Generalmente adornada de hermosos colores.

DESHIDROGENASA: enzima que oxida un compuesto orgánico por liberación de hidrógeno.

DISPEPSIA: digestión difícil y dolorosa.

DISPLASIA: las glándulas metaplásicas pierden sus características y se vuelven atípicas.

ENDÉMICA: se dice de una enfermedad que reina habitualmente en un país.

GASTRITIS: inflamación de la membrana interior del estómago.

HIDRÓLISIS: descomposición de ciertos compuestos por la acción del agua.

HIPERPLASIA: desarrollo excesivo de un tejido por multiplicación de sus células, conservando su estructura y capacidad funcional normales.

INFLORESCENCIA: orden con que brotan las flores en las plantas. Conjunto de estas flores.

INMUNOGLOBULINA: Ig. Globulina plasmática dotada de propiedades inmunitarias debidas a los anticuerpos de los que es soporte material.

INVOLUCRO: conjunto de brácteas situado en el arranque de una umbela o cabezuela.

LINFOMA: tumor maligno de los ganglios linfáticos.

LIPASA: diastasa contenida en los jugos digestivos que hidroliza los lípidos.

MEMBRANA CELULAR: tejido delgado y flexible que forma, envuelve o cubre la célula.

METABOLITO: producto simple y asimilable de la digestión de un alimento/sustancia orgánica que resulta de las reacciones metabólicas.

METAPLASIA: transformación de un tejido vivo en otro de estructura y función diferentes.

MUCINASA: principal constituyente orgánico del moco.

MUCOSA GÁSTRICA: membrana que tapiza la cavidad interna del estómago y segrega una especie de moco.

NECROSIS FOCAL: mortificación, gangrena de un tejido.

NICHO ECOLÓGICO: lugar que ocupa una especie en su medio físico, caracterizado por sus relaciones con las otras especies y su forma de nutrición.

NITRATOS: sales del ácido nítrico.

PECÍOLO: rabillo de la hoja.

PEDÚNCULO: cabillo de las flores.

PÉPTIDO: se dice del compuesto formado por la unión de un número reducido de aminoácidos.

PERICARPO: envoltura de una semilla.

POLISACÁRIDO: glúcido formado por gran número de osas, como el almidón, la celulosa y el glucógeno.

PROTEASA: enzima que hidroliza los prótidos.

SUBSUELO: el terreno situado debajo de la capa labrantía superficial.

ULCERA PÉPTICA: solución de continuidad en el estómago con pérdida de substancia determinada por una causa local.

RESUMEN

Sin duda una de las principales causas de enfermedad úlcero péptica en el mundo entero es la infección por *Helicobacter pylori*. Por ejemplo, en el caso de la úlcera duodenal, 90% de las personas afectadas han sido colonizadas por el microorganismo. Además en estudios previos ha sido demostrada una tasa de recurrencia cercana a 80% cuando dicha bacteria no es erradicada.

Debido al papel carcinógeno que juega la bacteria se han desarrollado diversos métodos para el diagnóstico y tratamiento de la infección. A pesar de la amplia disponibilidad de antibióticos de uso clínico y análogos semisintéticos, en razón del incremento gradual de la resistencia de los microorganismos a los antibióticos, y a la aparición de nuevas infecciones, es necesario continuar con la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos. Este panorama plantea la necesidad de buscar otras alternativas en el tratamiento de infecciones causadas por *H. pylori* y *E. coli*, que contemple aspectos como: bajos costos y disminución en los efectos colaterales sobre el organismo. Dentro de este contexto se planteó el desarrollo de esta investigación cuyo objetivo general fue el de establecer el efecto *in vitro* de extractos de ajo, llantén, caléndula, hierbamora y ají sobre poblaciones de *H. pylori* y utilizar *E. coli* como parámetro de comparación de actividad bacteriana.

Si bien es cierto que hasta el momento no se han aislado sustancias activas de plantas que compitan ventajosamente con los antibióticos obtenidos de bacterias y hongos, desde la más remota antigüedad el hombre ha utilizado exitosamente las plantas para el control de numerosas infecciones.

De cada especie de planta se colectó la parte aérea libre del ataque de patógenos y de la cual se pesó 100g. Dicho material se secó durante 48h con aire circulante a 50°C, se molió y se guardó en recipientes herméticos plásticos estériles a 4°C hasta el momento de su utilización. Para extraer sustancias polares y no polares, el material pulverizado se sometió a reflujo con 100ml de agua destilada por 12h. La fracción acuosa se mezcló con 100ml de éter de petróleo. Las dos fracciones, acuosa y etérea, se separaron en un embudo de separación. Las fracciones se colectaron por separado en beakers previamente pesados.

De cada una de las soluciones se tomaron 5ml los que sirvieron para impregnar discos de papel filtro de 6mm de diámetro y 20-25µm de porosidad.

La evaluación se realizó por difusión en placa para lo cual se transfirió con escobillones estériles muestras de *H. pylori* y *E. coli*, cada tratamiento por aparte, y se hizo siembra masiva sobre el agar. Sobre la superficie se depositaron los

sensidiscos y se incubó, en el caso de *H. pylori* a 37°C en atmósfera microaerófila y en el caso de *E. coli* a 37°C.

Como patrón de comparación se utilizaron extractos frescos y se siguió el mismo procedimiento que se hizo con los otros tratamientos.

Las especies *Allium sativum*, *Capsicum annuum* y *Solanum nigrum*, en extracto fresco presentaron la mayor actividad antibacteriana frente a ambos microorganismos mientras que el extracto etéreo de ninguna de las especies presentó alguna actividad antibacteriana.

El extracto que mejor funcionó para ambas bacterias es el de ajo con una media para *Helicobacter pylori* de 13.46 y para *Escherichia coli* de 10.53 seguido por el de hierbamora con una media de 9.53 para *Helicobacter pylori*. En el caso de *Escherichia coli* el ajo fue seguido por el ají con una media de 7.86. El tratamiento que mejor funcionó es el fresco con una media de 12.12 para *Helicobacter pylori* y de 9.88 para *Escherichia coli*.

ABSTRACT

With no doubt, one of the principal causes of peptical ulcer illness all over the world is the infection by *Helicobacter pylori*. For example, duodenal ulcer case, 90% of the infected people have been colonized by the microorganism. Besides previous studies have demonstrated a recurrency average close to 80%. when such bacterium is not stamped out. Because the carcinogenic role played by the bacterium several methods have been developed for the diagnosis and treatment of the infection.

In spite of the ample resources in clinical antibiotics and semisintetic analogous, due to the gradual increase of the microorganisms resistance to antibiotics, and the apperance of new infections, it is necessary to continue with the searching of new antimicrobial agents. Such situation establishes the necessity of looking for new alternatives in *Helicobacter pylori* and *Escherichia coli* infection treatment that hold low costs and decrease in the colateral effects in the organism; within this context the development of this research was established which the general objective was to establish the effect *in vitro* of *Allium sativum*, *Plantago major*, *Calendula officinalis*, *Solanum nigrum* and *Capsicum anuum* extracts on *H. pylori* populations and the use of *E. coli* as a comparison parameter of bacterial activity.

Although it is true that until this moment active plants substances have not been isolated that advantageously compete against antibiotics coming from bacteria and fungi, since remote times in history man has succesfully used plants to control large infections.

Aerial parts of plants from each specie were colected free of pathogens attack from which 100gr were weighed. Such material was withered for 24 hours with circular air at 50°C, it was grinded and kept in sterilized and hermetic plastic containers at 4°C until the time of its use. To extract polar and no polar substances, the grinded material was exposed to ebb with 100ml of desionized water for 12h. The watery fraction was mixed with 100ml of petroleum ether. Both fractions, ethereal and watery, were separated in an "embudo de separación". The fractions were collected separately in beakers previously weighty. From each solution five liters were taken which were used to impregnate filter paper disks, 6 millimeters in diameter and 20-25 micrometers in porosity.

The evaluation was carried out by plaque diffusion. Samples of *Helicobacter pylori* and *Escherichia coli* were transfered with sterilized small brushes, each treatment separately, and a massive sowing on the agar was made. On the surface

were put the disks. *H. pylori* was incubated to 37°C in microaerophilic atmosphere and *E. coli* to 37°C.

As a comparison standard, fresh extracts were used following the same pattern which was used with the other treatments.

The activity of five species of regional plants against *Helicobacter pylori* and *Escherichia coli*. Among all the plants tested *Allium sativum*, *Capsicum anuum* and *Solanum nigrum*, in watery extract, showed the best antibacterial activity against both microorganisms, meanwhile, the ethereal extract in any of the regional plants showed some kind of antibacterial activity.

INTRODUCCIÓN

Helicobacter pylori, es una bacteria que habita en el estómago humano, y mediante factores propios, coloniza la mucosa gástrica; se relaciona con enfermedades como la úlcera péptica y la gastritis crónica, entre otras, que finalmente pueden concluir en cáncer gástrico.

Pelayo, manifiesta que “En estudios previos realizados en el Departamento de Nariño han reportado que dicha bacteria, se encuentra principalmente en personas de bajo desarrollo socioeconómico, donde las condiciones de higiene ambiental, el manejo de aguas y excretas no son las más adecuadas; esto puede influir en la amplia distribución que ***H. pylori*** tiene sobre la población”¹.

Debido al papel carcinógeno que juega la bacteria se han desarrollado diversos métodos para el diagnóstico y tratamiento de la infección, varios de ellos muy costosos ya que requieren la combinación de diferentes fármacos o antibióticos los cuales, además de causar algún tipo de trastorno al organismo, pueden presionar a las poblaciones de ***H. pylori*** para que desarrollen alguna forma de “resistencia bacteriana”, lo que podría ocasionar la disminución e incluso la pérdida de su efecto. Por otra parte, el tratamiento se puede interrumpir debido a los altos costos del mismo si se tiene en cuenta que la población principalmente afectada corresponde a personas de bajos recursos socioeconómicos.

Tannock, afirma que:

Teniendo en cuenta que ***Escherichia coli*** es una bacteria gram negativa al igual que ***Helicobacter pylori*** y de fácil manejo se seleccionó para observar si los extractos vegetales tenían algún efecto en el desarrollo de la población bacteriana. ***Escherichia coli (E. coli)*** forma parte de la flora normal del intestino del hombre y los animales de sangre caliente, constituyendo una de las especies bacterianas más abundantes en esta localización².

A principios de la década de los 40; Bray y Beavan³, en Inglaterra, demostraron que “Con rigurosos estudios epidemiológicos y microbiológicos, que cepas de ***E.***

¹ CORREA, P. The epidemiology and pathogenesis of chronic Gastritis : There etiologic entites. Frontiers Francisco, C.A. 1980 p. 2562 - 2569

² TANNOCK, G. W. Normal Microflora. London : Chapman an Hall. 1995, p. 73 - 75

³ BRAY, J; y BEAVAN, T. Slide agglutination of *Bacterium coli* in summer diarrhoea. J, Pathol. 1948, No. 60 : 395 – 401 p.

coli pertenecientes al serogrupo 0111 se asociaban a brotes epidémicos de enteritis graves en lactantes ingresados en hospitales”. Esta correlación epidemiológica se demostró para otros serogrupos de colibacilos como el 026, el 055 y otros, aunque no se pudo precisar el mecanismo de patogenicidad. Estas cepas se han venido conociendo bajo la denominación de **E. coli** enteropatógena clásica (ECEP clásica). Posteriormente se descubrió un grupo de cepas de **E. coli** de serogrupos diferentes de los anteriores, que causan enteritis por un mecanismo invasor rigurosamente idéntico al de las shigellas (**E. coli** enteroinvasora: ECEI).

Levine, argumenta que “desde finales de los 60 también se conocen otros serogrupos que producen enteritis por liberación de enterotoxinas de dos tipos, termoestable (ST) y termolábil (LT); este grupo de cepas se denominan **E. coli** enterotoxigénica”.⁴

Según Health state, “El problema radica en que **E. coli** está en todas partes en el ambiente. Pero, desde que ellas son ocupantes comunes de todos los animales, cada vez que comemos algo, tomamos algo o tenemos contacto con algo que ha sido parte o ha estado cerca de donde los animales están, hay siempre el potencial para ingerir esta bacteria”⁵.

Ríos y Villar, dicen que “A pesar de la amplia disponibilidad de antibióticos de uso clínico y análogos semisintéticos, en razón del incremento gradual de la resistencia de los microorganismos a los antibióticos y a la aparición de nuevas infecciones, es necesario continuar con la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos”⁶.

Este panorama plantea la necesidad de buscar otras alternativas en el tratamiento de infecciones causadas por **H. pylori** y **E. coli**, que contemple aspectos como: bajos costos y disminución en los efectos colaterales sobre el organismo. Se debe considerar así, que una buena opción es recurrir a un tratamiento empleando fuentes naturales que tengan algún efecto bactericida.

Cárdenas, manifiesta que:

La fitoterapia vive actualmente su segunda época de prestaciones humanitarias a gran escala, de una forma moderna, racional y científica,

⁴ LEVINE, M. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. J Infect Dis. 1987, No. 155 : p. 377 – 389.

⁵ THE EMPIRE STATE. Department of Health. [en línea]. (New York State). Jul. 2004. [citado 10 Ag. 2003]. Disponible en Internet : <URL.<http://www.Health.state.ny.us/nisboh/communicable.diseases/en/E.coli.html>>.

⁶ RÍOS, A. Y VILLAR, M. Ethnopharmacol. Vol. 23, no. 127. 1988, p. 105 - 117

observándose en las plantas que un principio activo, definido y clasificado se comporta de modo distinto o no previsto, extraño a los resultados científicos experimentales⁷.

Si bien es cierto que hasta el momento no se han aislado sustancias activas de plantas que compitan ventajosamente con los antibióticos obtenidos de bacterias y hongos, desde la más remota antigüedad el hombre ha utilizado exitosamente las plantas para el control de una gran variedad de infecciones.

⁷ TANNOCK. G. W. Op cit., p. 83

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Establecer el efecto *in vitro* de extractos de ajo (*Allium sativum*), llantén (*Plantago major*), caléndula (*Caléndula officinalis*), hierbamora (*Solanum nigrum*) y ají (*Capsicum anuum*) sobre poblaciones de *Helicobacter pylori* y compararlas con *Escherichia coli*.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Comparar el crecimiento de *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli* en los medios de cultivo suplementados con extractos frescos, acuosos y etéreos de cinco plantas regionales, con el observado en el medio de cultivo en condiciones óptimas.

Establecer si los extractos evaluados presentan actividad bactericida, bacteriolítica o bacteriostática con base en los parámetros de Brock.

Determinar cual de los tratamientos (acuoso, etéreo, fresco) de cada extracto, resulta más efectivo para controlar el crecimiento de *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli*.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 *HELICOBACTER PYLORI*

En el **Cuadro 1** se hará un breve resumen del microorganismo sobre las características, método de identificación en el laboratorio, enfermedades que produce, hábitat, transmisión, patogenia, tratamiento y prevención.

Cuadro 1. Revisión de *Helicobacter pylori*.

<i>Helicobacter pylori</i>	
CARACTERÍSTICAS	Bacilo gram negativo con uno o dos flagelos, microaerófilico, crece a una temperatura de 37°C.
IDENTIFICACIÓN EN EL LABORATORIO	Muy exigente para crecer en el laboratorio, requiere un medio que contenga sangre, la incubación se debe realizar en ambiente microaerófilico. Para su comprobación se efectúan pruebas bioquímicas ya que presenta actividad de catalasa, deshidrogenasa alcohólica, citocromo oxidasa y ureasa.
ENFERMEDADES	Gastritis superficial, gastritis crónica atrófica, displasia, carcinoma.
HABITAT	Colonización de la mucosa gástrica.
TRANSMISIÓN	Parece ser que el mayor factor de riesgo para la infección está determinado por las condiciones de higiene ambiental y de manejo de aguas y excretas.
PATOGENIA	Interacción con un polisacárido glicosilado que contiene fucosa, presente en el moco y mucosa gástrica, la capacidad para adaptarse al pH ácido intragástrico es conferido por la ureasa, enzima que le permite obtener un microambiente casi neutro al desdoblar la urea en amoníaco y CO ₂ . También produce una enzima con actividad mucinasa, la cual degrada la capa de moco de la superficie gástrica, además, la bacteria libera lipasas, fosfolipasas y proteasas que son capaces de producir daño en la membrana celular.
TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN	Combinación de fármacos que comprenden metronidazol, un segundo antibiótico como una tetraciclina y una preparación de antiácido que contiene bismuto.

Fuente: Cárdenas, M. 2003

3.1.1 Reseña Histórica sobre *Helicobacter pylori*. Al respecto, Alvarez, afirma que “actualmente se ha establecido que la bacteria *Helicobacter pylori* hace parte de los factores ambientales con actividad injuriante de la mucosa gástrica”⁸.

⁸ ALVAREZ, L. *Helicobacter pylori* en enfermedad ácido péptica. En : CONGRESO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA. (1° : 1996: Medellín). Memorias I Congreso Nacional de Bacteriología. Medellín : 1996, 39 p. 11 - 12

Los estudios que permitieron confirmar esta aseveración se iniciaron en 1979 por J. Robin Warren y J. Marshall, patólogos del hospital Royal Perth de Australia, quienes observaron que “bacterias curvas y espiraladas, en biopsias de pacientes con úlcera gástrica; en 1982, estos investigadores, aislaron la bacteria en un medio de agar sangre y en ambiente microaerofílico. Ellos, clasificaron al microorganismo como **Campylobacter pyloridis**; en la actualidad se conoce a esta bacteria como **Helicobacter pylori**”⁹.

Las investigaciones que siguieron a este descubrimiento, fueron realizadas por Álvarez¹⁰, las que condujeron a la obtención de suficientes datos que permitieron establecer la relación causal entre la presencia de **Helicobacter pylori** y las enfermedades gastroduodenales.

3.1.2 Infección. al respecto, Álvarez afirma que “efectivamente, se ha encontrado colonización de **H. pylori** de la mucosa gástrica entre el 75 al 81% de los pacientes que padecen úlcera gástrica, del 80 al 100% en los individuos que presentan gastritis asociadas a la úlcera duodenal y entre el 50 al 80% de los casos con dispepsia no ulcerosa”¹¹. Por otra parte, Joseph, *et al.*, afirman que “Por eso la terapia antimicrobiana es indicada para los pacientes que tienen estas enfermedades asociadas al microorganismo”¹².

Hanson, L. E. et al, manifiesta que:

La úlcera péptica gastroduodenal ha sido considerada hasta hace pocos años, como una enfermedad de causa desconocida y de origen multifactorial. Desde el descubrimiento de la frecuente asociación con **Helicobacter pylori**, la etiología de la enfermedad ulcerosa se ha simplificado notablemente, siendo ésta la causa más frecuente ya que se presenta más del 90% de las úlceras duodenales y el 80-85% de las úlceras gástricas; un segundo grupo, mucho menos numeroso (5-15%), lo constituyen las relacionadas con el consumo de fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y finalmente una causa muy infrecuente, es la relacionada con la hipersecreción gástrica (Síndrome de Zollinger - Ellison) y otras patologías afines¹³.

⁹ MARSHALL, J y WARNER, R. J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet, No. 8390. 1994, p.

¹⁰ ALVAREZ, Op cit., p. 18

¹¹ ALVAREZ, Ibid., p. 25

¹² JOSEPH, et al. Antibacterial treatment of gastric ulcer associated with *Helicobacter pylori*. En : The New England Journal of Medicine. Vol. 32. 1995. p. 23 – 25

Magraud, afirma que:

Algunos factores epidemiológicos de la infección por *Helicobacter pylori* son ciertamente reveladores de la trascendencia que ha tenido sobre determinadas afecciones digestivas. *Helicobacter pylori* presenta una distribución mundial y existen dos patrones claramente diferenciados. Uno que se presenta en los países subdesarrollados que se caracteriza por una elevada prevalencia junto con una rápida adquisición en la infancia y otro patrón característico de los países desarrollados en que la prevalencia es media y la infección se adquiere más tardíamente en la vida. En el primero parece predominar la transmisión oral-fecal y en el segundo el mecanismo fundamental parece ser el oro-oral¹⁴.

Ferrándiz, et al argumentan que “La prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* se relaciona básicamente con la influencia de factores medioambientales como el nivel higiénico-sanitario y la edad del individuo”¹⁵.

La adhesión bacteriana esta mediada por moléculas que reconocen proteínas o glicoproteínas presentes en la superficie de las células epiteliales. Las cepas de *H. pylori* tienen diferente afinidad para aglutinar eritrocitos de mamíferos, lo cual indica la presencia de distintos tipos de adhesinas. Las adhesinas de *H. pylori*, están constituidas por una hemaglutinina radiante desde la superficie de la bacteria con estructura de tipo fimbria que es antigénica para humanos y se asocia a la capacidad de *H. pylori* para adherirse a células adrenales.

De igual manera, todos los aislamientos de *Helicobacter pylori*, producen grandes cantidades de la enzima ureasa, aunque ésta aparentemente no tiene un papel importante en la producción del daño celular o en la producción de síntomas, es claro que su presencia es esencial para *H. pylori*, pues le permite sobrevivir en el ambiente hostil de la cavidad gástrica, en donde la actividad de la ureasa le va a permitir generar iones amonio que neutralizan la acidez. Por otra parte, la producción de amonio puede ser un factor citotóxico para las células epiteliales de la mucosa gástrica de los pacientes infectados y puede exacerbar el daño de la mucosa gástrica asociada a los neutrófilos.

¹³ HANSON, L. E. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in subtypes of gastric cancer. *In: Gastroenterology*. Vol. 109, no. (sep. 1995); p. 885 - 888

¹⁴ MAGRAUD, F. *Helicobacter pylori*. Infection in the Colombian Anies. A population – Nased study of transmission. No. 3. 1996. p. 290 - 297

¹⁵ FERRÁNDIZ, *et al.* *Helicobacter mustelae*. Isolation from feces of terrets: Evidence to support fecal - oral transmisión of a gastric *Helicobacter*. *Infect Immun*. Vol. 60: 1992, p. 606 - 611

3.1.3 Cáncer Gástrico. Para la población humana de las regiones rurales montañosas del Departamento de Nariño existen zonas con riesgo extremadamente alto para el desarrollo del cáncer de estómago, con tasas de incidencia de adenocarcinoma gástrico de 150/100.000 habitantes. Correa, P. et al., “A la edad de 45 años se encuentra que el 75% de la población tiene lesiones gástricas de algún tipo y atrofia en la mucosa en el 50%, mientras que en áreas de riesgo bajo o intermedio, la proporción de tales lesiones no supera el 50% de la población de más de 45 años de edad”¹⁷.

En el modelo de carcinogénesis propuesto por Correa, manifiesta que:

el proceso patogénico se inicia con una gastritis superficial secundaria al contacto con agentes injuriantes de la mucosa, esta reacción inflamatoria es seguida de una proliferación celular reparativa. Si persiste la acción injuriantes y la mucosa fracasa en la reparación celular, se produce necrosis focal con pérdida de células parietales y cimógenas, lesión conocida como gastritis crónica atrófica; en compensación hay hiperplasia regenerativa de los cuellos glandulares con una población celular más susceptible a la acción de un agente carcinógeno.

Por otra parte en estudios posteriores, Correa, afirma que :

En algunos pacientes estas glándulas metaplásicas pierden sus características y se vuelven atípicas, cambio denominado como displasia; finalmente hay pérdida del mecanismo de regulación y diferenciación celular apareciendo el proceso canceroso con crecimiento glandular incontrolable causando invasión y destrucción de estructuras adyacentes **(Figura 1)**¹⁸.

Cuello, *et al.*, manifiesta que: “Desde hace muchos años atrás, se ha sugerido que los factores ambientales son los principales determinantes de alto riesgo para adquirir cáncer gástrico y su influencia se ejerce desde los primeros años de vida”¹⁹.

¹⁷ CORREA, P. et al. Gastric cancer in Colombia. Natural history of precursor lesions. National Cancer Institute, Vol. III, no. 5 (Mayo). 1976, *s.n.*

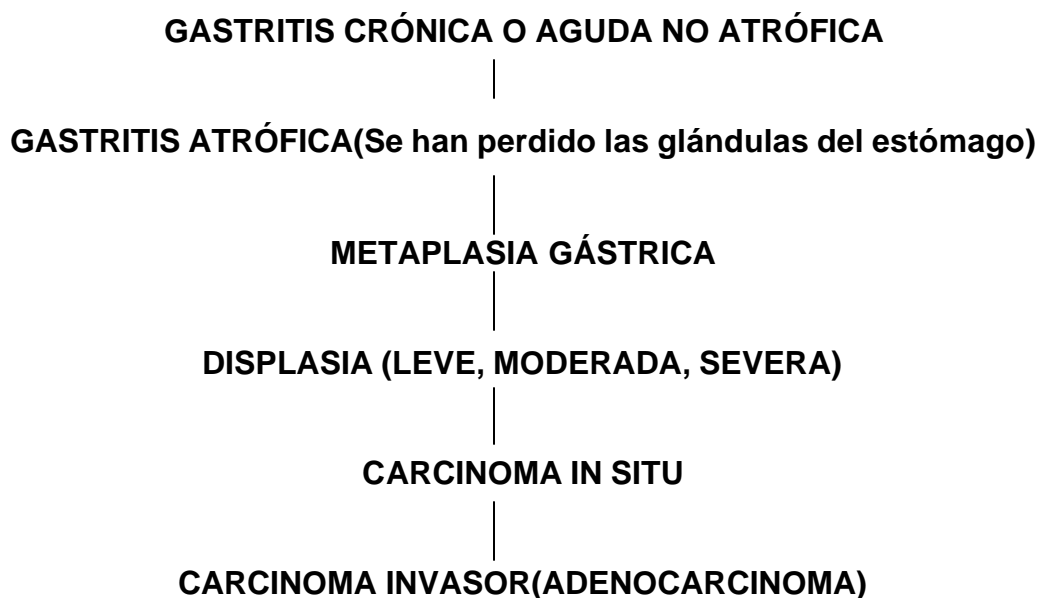
¹⁸ CORREA, P. The epidemiology and patogénesis of chronic gastritis: Three etiologic entites. *Frontiers of Gastrointestinal research*. L. Van Der Reis. San Francisco, California : 1980, 2782 p.

¹⁹ CUELLO, . et al. Gastric cancer in Colombia: Cancer risk and suspect environmental agents. National Cancer Institute, 1976, p. 37 - 41

Así mismo, Cuello²⁰, et al., manifiesta que “En las zonas con alto riesgo para cáncer gástrico del Departamento de Nariño se presenta un medio ambiente con alto contenido de nitratos en las aguas del subsuelo y Haenzel, et al²¹., afirma que “En la dieta hay marcada disminución de agentes antioxidantes como ? carotenos y vitamina E” ; por otra parte, Montes, et al²²., dicen que “Baja ingesta de potasio, grasas, proteínas animales, legumbres, frutas frescas y alta ingesta de sal”.

Tannenbaum, et al., afirma que “El resultado es un ambiente intragástrico que favorece el crecimiento bacterial y la formación de compuestos N-nitrosos ampliamente reconocidos como carcinógenos”²³.

Figura 1. Modelo de carcinogénesis propuesto por Pelayo Correa.



Fuente: Correa, P., 1991.

3.2 *Escherichia coli*. Los factores de patogenicidad del grupo *E. coli* enteropatógena clásica no se pueden determinar puesto que no se conocen, por lo que la mayoría de laboratorios utilizan el serogrupo como método para detectarlos.

²⁰ CUELLO, . et al. Ibid., p. 45

²¹ HAENZEL, et al. Serum micronutrients levels in relation to gastric pathology. National Cancer Institute, 1985, p. 14 - 15

²² MONTES, G, et al. Sodium intake and gastric cancer. National Cancer Institute. 1985, p. 813- 820

²³ TANNENBAUM, et al. Endogenous formation of N-nitrosos compounds and gastric carcinoma. Monograf. 1987, 178 p.

Kaper, afirma que:

Desde hace pocos años, se sabe que ECEP clásica se adhiere íntimamente a los enterocitos, borrando las microvelocidades de estas células y que este proceso se correlaciona estrechamente con la presencia del gen *eae*-que codifica una proteína, “la intimina”, que produce esas lesiones en el enterocito - y con la prueba del FAS, que permite observar la desorganización activa intracelular en el lugar donde la bacteria se adhiere a la célula²⁴.

En el **Cuadro 2** se hará un breve resumen del microorganismo sobre las características, método de identificación en el laboratorio, enfermedades que produce; hábitat, transmisión, patogenia, tratamiento y prevención.

Cuadro 2. Revisión de *Escherichia coli*.

<i>Escherichia coli</i>		
CARACTERÍSTICAS		Bacilo gram negativo, móvil, con cápsula variable. Muy resistente, tolera la bilis y es capaz de crecer a 44°C.
IDENTIFICACIÓN EN EL LABORATORIO		Poco exigente para crecer en el laboratorio, crece en medios de rutina y en medios selectivos con bilis. Fermenta la lactosa. Se dispone de equipos para la investigación completa bioquímica.
ENFERMEDADES		Infección del tracto urinario, enfermedades diarreicas, meningitis neonatal, septicemia.
HABITAT		Microbiota normal del intestino del hombre y animales. Puede colonizar el extremo inferior de la uretra y la vagina.
TRANSMISION		Diseminación por ingestión, vía oro fecal, o por fuentes endógenas.
PATOGENIA		Se han identificado algunos factores de virulencia sobre todo en cepas asociadas a enfermedades diarreicas.
TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN		Amplia gama de agentes antibacterianos potencialmente eficaces, pero aparece resistencia mediada por plásmidos. Por ahora no se dispone de vacunas.

Fuente: Cárdenas, M. 2003

Nota: El uso de esta bacteria en este estudio es solamente por comparación. No es el objetivo básico de la misma.

En el **Cuadro 3** se presentan, de una manera resumida, las características clínicas y epidemiológicas de las enteritis causadas por ***E. coli***.

²⁴ KAPER, . Molecular pathogenics of enteropathogenic E. Coli. En : Miller VL, Kaper J. B, Portnoy DA, Isberg RR eds. Molecular genetics of bacterial pathogenesis. Washinton DC: ASM Press, 1994, 400 p.

3.3 METODOS DE DIAGNOSTICO DE INFECCION POR *H. pylori*.

Para confirmar la infección por *Helicobacter pylori* se dispone de varios métodos de diagnóstico, entre los cuales se puede señalar:

3.3.1 Pruebas invasivas.

? **Estudio Histológico.** Malfertheiner, et al., afirma que “Para este método se obtiene una muestra de mucosa antral, se realiza tinciones de plata como Wartin - Starry, inclusive, la bacteria puede identificarse prácticamente con todas las coloraciones para Gram negativos, incluyendo hematoxilina-eosina”²⁵.

? Cuadro 3. Características de las enteritis causadas por *E. coli*.

Grupo de <i>E. coli</i>	Mecanismo patogénico	Clínica	Epidemiología
Enteropatógena (ECEP clásica)	Desconocido. Asociado a lesiones de borrado de las microvellosidades de los enterocitos	Diarrea líquida con moco. Vómitos. Fiebre.	Frecuente en países desarrollados. Frecuente en niños menores de dos años.
Enteroinvasora (ECEI)	Invasión de la mucosa, como las shigellas.	Diarrea isenteriforme (moco y sangre). Dolor abdominal. Fiebre	Frecuente en países subdesarrollados. Generalmente son casos de diarrea del viajero.
Enterotoxigénica (ECET)	Producción de enterotoxinas: termolábil (LT) y termoestable (ST).	Diarrea líquida profusa. Náuseas.	Frecuente en países subdesarrollados. Generalmente son casos de diarrea del viajero.
Enterohemorrágica (ECEH)	Borramiento de las microvellosidades de los enterocitos y producción de verotoxinas (VT).	Diarrea sanguinolenta afebril. Síndrome hemolítico urémico.	Frecuente en países desarrollados

Fuente: Gray, 1995.

? **Cultivo.** Lynch, et al., afirman que:

Para el aislamiento primario del microorganismo se requiere de un medio que contenga sangre, la incubación se debe realizar en ambiente microaerófilico a una temperatura de 37°C; para su comprobación se efectúan pruebas bioquímicas ya que presenta actividad de catalasa, deshidrogenasa alcohólica, citocromooxidasa y ureasa²⁶.

²⁵ MALFERTHEINER, et al. Modified rapid urease test for detection of *Helicobacter pylori* infection. European Journal of Gastroenterology and Hepatology. Vol. 8, No. 1, 1996, p. 305 - 307

²⁶ LYNCH, et al. Métodos de Laboratorio. Interamericana, 2 ed. México : 1980, p. 33 - 36

Katellaris, *et al.*, manifiestan que:

Recientemente se ha descubierto un método que se basa en el uso de una cápsula atada al extremo de una fibra de nylon altamente absorbente, el cual es tragado por el paciente y permanece en la cavidad por unas tres horas. Al retirar el material, se obtienen muestras que luego son utilizadas para el cultivo y han dado un rendimiento muy semejante al de las obtenidas mediante biopsia. Esta es una técnica mínimamente invasiva, que contribuirá de manera importante en el diagnóstico y seguimiento del tratamiento de la infección por *H. pylori*²⁷.

? **Prueba de la Ureasa.** Malfertheiner, *et al.*, se fundamenta en que:

La elevada actividad de la ureasa; en este método, el tejido que es tomado mediante biopsia, se coloca en un gel que contiene urea y un detector que cambia de color con las variaciones de pH, si la muestra contiene *H. pylori* la hidrólisis de la urea conducirá a la formación de amoníaco que elevará el pH detectado por el cambio de color, reacción considerada como positiva²⁸.

? **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).** Pajares G., J. M. afirma que "Se puede realizar sobre biopsia gástrica y en cualquier líquido orgánico (heces, saliva y jugo gástrico), es de gran sensibilidad y especificidad, porque puede detectarse hasta una sola copia de DNA de *H. pylori*"²⁹. Megraud, F. afirma que "Tiene varias limitaciones, es costosa, el resultado no es inmediato, requiere una solución buffer especial para depositar la muestra de tejido y congelarla hasta su determinación y exige un laboratorio de alta tecnología"³⁰.

3.3.2 Pruebas no invasivas. Sarmiento Q.; F. et al. afirman que:

Se llaman así las que no precisan la obtención de muestras de mucosa gástrica por endoscopia, disminuyen el costo de procesamiento y aceleran el resultado esto hace que sean de gran aceptación para detectar la presencia de *H. pylori*, sobre todo en pediatría pero limitadas solo a estudios epidemiológicos y a la confirmación de la erradicación de la

²⁷ KATELARIS, et al. Field evaluation of a rapid, simple and inexpensive ureasa test for detection of *Helicobacter pylori*. Journal of gastroenterology and hepatology. Vol. 7. no. 1982, p.

²⁸ MALFERTHEINER, et al. Op cit., p. 310 - 314

²⁹ PAJARES, G. J. M. CORREA, P. Y PEREZ, G. I. Infección intestinal *Helicobacter pylori* en lesiones gastroduodenales. Barcelona, España : Prous Science, 1998, p. 83 - 84

³⁰ MEGRAUD, F. Op cit., p. 293 - 294

bacteria después del tratamiento específico, y no deben utilizarse para el diagnóstico de la enfermedad ácido-péptica³¹.

? **Pruebas Serológicas.** Malfertheiner, et al., argumentan que “Miden títulos de IgG anti-*H. pylori*, IgA e IgM, utilizado para pacientes que no han sido tratados previamente para la infección”³².

? **Prueba de C₁₄-urea en aliento.** Katelaris, et al afirman que “Está basado en el principio de generación de bicarbonato y dióxido de carbono a partir de urea marcada con carbono 13 o 14, el metabolito generado cuando la bacteria esta presente, es eliminado por los pulmones en forma de CO₂ y es detectado mediante instrumentos apropiados”³³.

3.4 TRATAMIENTO

Katz, et al³⁴ manifiestan que el tratamiento para la infección de *H. pylori* en niños al igual que en adultos se puede presentar en los siguientes esquemas.

- **Doble terapia con un fármaco antisecretor.** Consiste en un inhibidor de la bomba de protones o un antagonista H² y amoxicilina o claritromicina. Durante 14 días.

- **Terapia triple convencional.** Incluye la administración de bismuto, nitroimidazol y amoxicilina o tetraciclina. El tratamiento triple convencional puede complementarse con un fármaco antisecretor. Durante 7 días.

- **Terapia triple con un fármaco antisecretor.** Consiste en un inhibidor de la bomba de protones o un antagonista H² y dos de los tres antibióticos: amoxicilina, claritromicina o nitroimidazol. Durante 7 días.

Keller, argumenta que:

La inmunización como en conocidas enfermedades infecciosas, vislumbra nuevos horizontes en el tratamiento de la infección por *H. pylori*. Varias

³¹ SARMINETO, Q.; F; JARAMILLO, Lina y MURCIA, Susana. Pruebas diagnósticas para *Helicobacter pylori*. (1998). s.i.

³² MALFERTHEINER, et al. Op cit., p. 311

³³ KATELARIS, et al. Op cit., p. 14,19

³⁴ KATS, et al. Tratamiento combinado con lansoprazol, claritromicina y amoxicilina para la infección por *Helicobacter pylori*. Club de revistas Americanas Journal of Gastroenterology. (No. 93. Abril. 1998). p. 584 – 590

han sido las vías utilizadas para administrar la vacuna anti-*H. pylori*. Las rutas oral, intranasal, rectal e incluso intravaginal, se han empleado en modelos de animales con el uso de vacunas recombinantes con adyuvantes mucosos³⁵.

Kleanthous et al, afirman que:

Emplearon una vacuna de ureasa recombinante de *Salmonella typhimurium* (viva, atenuada), que expresa subunidades A y B de la enzima ureasa. A las cinco semanas después los ratones inmunizados fueron infectados con cepas de *H. pylori* adaptadas a este modelo experimental, y a las seis semanas se sacrificaron. Se comprobó 100% de protección en los ratones inmunizados, por otro lado se observó 100% de infección en los no inmunizados³⁶.

La respuesta inmune, en los niveles local y sistémico, se demostró por la presencia de anticuerpos contra la subunidad A y B de la enzima ureasa³⁷

Sin duda, las investigaciones recientes acercan más hacia la posibilidad de combatir la infección por *H. pylori* mediante la inmunización. La administración por vía mucosa de subunidades proteicas recombinantes, junto con adyuvantes mucosos, constituye una estrategia moderna de tratamiento que previene y cura la infección en modelos animales, y muestra actividad terapéutica parcial en humanos³⁸.

3.4.1 Problemas Derivados del Tratamiento Convencional.

? **Resistencia Bacteriana.** Al respecto, Lynch, et al., dicen que:

Las bacterias han resultado ser más "astutas" que los hombres para defenderse de las estrategias que estos desarrollan para destruirlas. Los microbios poseen una enorme capacidad para crear mecanismos que les permitan escapar a la acción de los antibióticos. Ellos están dotados de una notable versatilidad genética que los capacita para adquirir renovado vigor patogénico y burlar la inmunidad de los seres humanos y de los

³⁵ KELLER, Treatment of *Helicobacter pylori*. A review of world literature. Helicobacter 1996 Mar;1 (1) :6-19

³⁶ KLEANTHOURS, et al. Rectal and intranasal immunizations with recombinant urease induce distinct local and serum immune responses in mice and protect against *Helicobacter pylori* infection. Infect Immun 1998 Jun; (Vol. 6, 1998) No. 66: p. 2879 – 86.1998, p.

³⁷ ENLACES A MEDICINA. Librería digital: Salud productiva. Merk Generics. [en línea]. Jul 2003. [citado Ag. 2004]. Disponible en internet : <URL :www.encolombia.com/gastro15200.

³⁸ KLEANTHOUS, et al. Op cit., p. 2888

animales mediante la creación de nuevos antígenos y el desarrollo de resistencia a los antibióticos³⁹.

La resistencia microbiana se comprende fácilmente si se recuerdan los sitios y mecanismos de acción de los antibióticos:

- ? Síntesis o daño de la pared. Penicilinas, cefalosporinas, monobactámicos, bacitracina, cicloserina.
- ? Síntesis o daño de la membrana citoplasmática. Polimixinas, poliénicos.
- ? Metabolismo de los ácidos nucleicos.
- ? Inhibidores del ADN girasa. Quinolonas.
- ? Inhibidores del ARN polimerasa. Dependiente del ADN. Rifampicina.
- ? Inhibidores de la síntesis de las proteínas.
- ? Inhibidores 50s. Eritromicina, cloramfenicol, clindamicina.
- ? Inhibidores 30s. Tetraciclina, estreptomina, tobramicina.
- ? ARN de transferencia. Mupirocina (Lynch, *et al.*, 1980).

La resistencia a un antibiótico puede ser una propiedad inherente a un microorganismo, o puede adquirirla. Existen varias razones por las que los microorganismos pueden tener resistencia a un antibiótico inherente:

- El organismo puede carecer de la estructura diana sobre la que actúa un antibiótico.
- El organismo puede ser impermeable al antibiótico.
- El organismo puede ser capaz de alterar el antibiótico pasándolo a una forma inactiva.
- El organismo puede modificar la diana de un antibiótico.
- Por intercambio genético, puede tener lugar la alteración de una vía metabólica que bloquea el agente antimicrobiano.

³⁹ LYNCH, et al. Op cit., p. 42

- Lynch, et al, afirma que “El organismo puede ser capaz de bombear hacia fuera el antibiótico que va entrando a la célula (reflujo)”⁴⁰.

✍ **Costos.** Correa, et al, manifiestan que:

La infección de la mucosa gástrica por *Helicobacter pylori* es la infección más frecuente en los seres humanos. La gran carga económica de las complicaciones de la infección por *H. pylori* (costos directos e indirectos del tratamiento de la enfermedad ulcerosa péptica y de los tumores gástricos, honorarios médicos, costo de fármacos en la dispepsia funcional) es difícil de evaluar, y hasta ahora no existe una clara esperanza de lograr una buena política preventiva, dado que el desarrollo de una vacuna barata, administrable en una única dosis por vía oral y eficaz se halla todavía en su fase inicial.

Así mismo, La infección por *H. pylori* es muy frecuente en los países en vías de desarrollo, en los cuales es casi imposible llevar a cabo un enfoque económico correcto dado que se carece de muchos datos. La prevalencia de la infección por *H. pylori* ha sido estudiada, pero se dispone de muy pocos datos sobre la incidencia de la enfermedad ulcerosa péptica y de cáncer gástrico y no se tiene idea del costo real (y asumible) del tratamiento.

En los países desarrollados, los economistas y los gobiernos se percataron del rápido aumento de los gastos sanitarios, de los costos siempre crecientes de las investigaciones médicas y de las intervenciones terapéuticas, y del aumento de la longevidad al mismo tiempo que de la recesión económica global y del creciente desempleo. En ese momento nació la farmacoeconomía. Además de estudios en tiempo real se han construido modelos económicos a partir de datos históricos: prevalencia e incidencia de enfermedad ulcerosa péptica y cáncer gástrico, impacto de la erradicación de *H. pylori* sobre la evolución de las enfermedades del tracto gastrointestinal superior y costos médicos directos e indirectos de la gestión médica de las enfermedades relacionadas con *H. pylori*. No obstante, siguen sin conocerse muchos datos, por ejemplo en el caso de la dispepsia funcional (también denominada dispepsia no ulcerosa)⁴¹.

⁴⁰ LINCH, et al . Ibid., p. 54

⁴¹ CORREA, et al. Op cit., p. 114

- Aborto de terapias.

Las expresiones clínicas asociadas a la colonización por *H. pylori* se consideran enfermedades infecciosas de carácter crónico, pero se diferencian de muchas otras enfermedades similares en las que, una vez establecido el microorganismo, persiste en el huésped usualmente por toda su existencia. Distinto a lo que ocurre con la tuberculosis, el paludismo o la sífilis, este microbio no tiene una forma latente ya que produce un proceso inflamatorio continuo pero que, curiosamente, sólo se transforma en una repercusión patológica significativa entre el 10 y 15% de la población colonizada. La respuesta inmune no solamente se torna crónica y eminentemente ineficaz sino que ataca activamente al mismo huésped para perjudicarlo y, a su vez, generar su propio suicidio al destruir irracionalmente su único nicho ecológico. Esta inusual relación entre el huésped y el parásito explica en parte las enormes dificultades que se han obtenido en encontrar un tratamiento satisfactorio

En la mayoría de las infecciones, los antibióticos únicamente colocan su grano de arena para desbalancear las fuerzas a favor del huésped y facilitar la eliminación del parásito. Sin embargo, lo que ocurre en el contexto de las gastropatías asociadas a *H. pylori*, la poderosa y continua reacción inmunológica que evoca es evadida o modificada por el microorganismo de tal manera que la hace ver impotente o incluso en ocasiones benéfica para el parásito. De esta manera, el diseño de una estrategia terapéutica debe ser capaz por sí misma de erradicar el microorganismo completamente, recibiendo muy poca asistencia de los mecanismos inmunes del huésped y, ciertamente, este esquema terapéutico no se ha logrado cabalmente a pesar del inmenso número de estrategias terapéuticas que se han probado hasta la fecha. Esperamos que la reciente descripción del mapa genético del microorganismo facilite la investigación para encontrar monoterapias eficaces que permitan bloquear algún paso metabólico específico de vital importancia para la bacteria que sea trascendental para su crecimiento y reproducción y, así, obtener tasas de erradicación adecuadas que permitan un mejor control de la infección o que las nuevas modalidades de vacunación produzcan resultados promisorios, seguros y altamente eficaces⁴².

⁴² ENLACES A MEDICINA. Op cit., p. 3

3.5 TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS

Asi mismo,.....

Debido a la resistencia que las bacterias crean hacia los antibióticos; en la actualidad se estudian varias alternativas. Una de ellas consiste en aumentar la comprensión acerca de los mecanismos bacterianos de reacción hacia los antibióticos. Otra estrategia sería reducir el uso de antibióticos, reemplazarlos por medicamentos diferentes que en cambio de matar las bacterias las “desarmen” impidiendo su multiplicación en el organismo del paciente, se trata, sin embargo, de una solución a largo plazo y difícil de llevar a la práctica⁴³

El cáncer gástrico asociado con *H. pylori* está declinando su incidencia a nivel mundial, posiblemente por la reducción de la ingesta de sal, y el cambio de la conservación de los alimentos en la heladera. Los vegetales son fuente de muchos antioxidantes, como ? carotenos y vitamina E, son importantes en prevenir los efectos nocivos de los radicales libres. Los niveles de vitamina C son menores en el jugo gástrico en individuos afectados con *H. pylori* y retornan a valores normales cuando los pacientes son tratados con antibióticos. Los individuos que ingieren 50-20 raciones de frutas y vegetales tienen la mitad del riesgo de desarrollar cáncer de estómago⁴⁴.

Sanabria, manifiesta que:

”En la actualidad se busca regresar a la fuente natural, y ciertos péptidos, y metabolitos presentes en las plantas, insectos, batracios y mamíferos, podrían ser la clave para enfrentar con éxito las enfermedades infecciosas”.

3.5.1 Tratamiento con Extractos Vegetales.

Refiriéndose específicamente a las plantas, manifiesta que “Se ha estudiado y aprovechado las propiedades de muchas especies vegetales dándoles diferentes usos como los curativos; así las plantas poseen sustancias con capacidad antimicrobiana, anticancerígena, etc.; se

⁴³ Ibid., p. 4

⁴⁴ CUNNINGE, J. H; BINGHAM. A. Sociedad Argentina de Pediatría. [en línea]. Mrc Dunn Clinical Nutrition Centre. Cambridge. [Reino Unido]. 789 Dieta y prevención del cáncer. (citado 12 Ag. 2003). 3 p. Disponible en Internet : <URL : <http://www.sap.org.ar/publicaciones/correo/cor499/cor789A.html>

entiende por esto, que inhiben o suprimen la proliferación indeseable de agentes microbianos patógenos.

✍ **Metabolitos Secundarios Relacionados con Actividad Antimicrobiana.**

Las plantas son esenciales para la vida animal porque son capaces de convertir la energía solar en compuestos orgánicos que a su vez son utilizados para producir alimentos esenciales. A partir de agua, gas carbónico y minerales, todas las plantas tienen suficiente capacidad para elaborar carbohidratos, proteínas, grasas, ácidos nucleicos, aminoácidos, algunos ácidos carboxílicos, vitaminas, reguladores del crecimiento y los compuestos que intervienen en la fotosíntesis; a este metabolismo se le llama metabolismo primario. A las sustancias que no son comunes a todas las plantas y por el contrario, pueden ser una expresión de la individualidad química de un organismo se las conoce como METABOLITOS SECUNDARIOS.

Para el caso antimicrobiano y anticancerígeno se tiene conocimiento de ciertos metabolitos secundarios que tienen dicho efecto, entre ellos:

- **Naftoquinonas Y/O Antraquinonas.**

Las naftoquinonas y las antraquinonas son el grupo de quinonas presentes con mayor frecuencia en las plantas superiores, aunque químicamente son para-quinonas u orto-quinonas formadas por plantas por la ruta biosintética del acetato; en general son compuestos de color amarillo, anaranjado o café, pero cuando existen como sales de hidroxiquinonas, son de color púrpura, azul o verde. El estudio de estas sustancias tiene gran interés en la actualidad porque algunos investigadores han demostrado que poseen actividad antimicrobiana y antitumoral significativa. Las antraquinonas son el grupo más numeroso de quinonas presentes en las plantas. Estos compuestos generalmente existen en las plantas como derivados hidroxilados, carboxilados o metilados de antraquinonas, antronas, antranoles o diantronas. Han sido aisladas de muchas especies de plantas especialmente de las familias Bignoniaceae, Melastomataceae, Droseraceae.

- **Terpenlactonas.**

Las lactonas terpénicas son compuestos formados por la ruta biosintética del ácido mevalónico y en las plantas fundamentalmente han sido aisladas lactonas sesquiterpénicas (15 átomos de carbono) y lactonas diterpénicas (20 átomos de carbono). Se ha informado de la relación que existe entre la propiedad antimicrobiana frente a seis microorganismos y la estructura química de 36 lactonas

sesquiterpénicas. Los resultados demostraron que una ciclopentanona ? insaturada contribuye a la actividad de bacterias Gram positivas.

- **Saponinas.**

Son glicósidos esteroidales, pueden ser triterpénicos o esteroidales dependiendo del núcleo del cual se originen. Las saponinas esteroidales están ampliamente distribuidas en las plantas y tienen gran importancia porque son el punto de partida para la síntesis química o microbiológica de aproximadamente el 80% de las hormonas esteroidales y si se tiene en cuenta que cerca del 10% de los medicamentos son hormonas esteroidales, es fácil comprender la enorme importancia económica que tienen dichos compuestos. Se ha comprobado, en los esteroidales, su acción anticancerígena⁴⁵.

3.5.2 Probióticos. Quan Kiu V., E. manifiesta que:

Los efectos benéficos de las bacterias ácido lácticas (BAL) en la salud humana y animal han interesado a los científicos desde tempranas observaciones de Elie Metchnikoff, hace un siglo; quien postuló que algunas bacterias no son necesariamente perjudiciales para los humanos, y que pueden de hecho ser benéficas para su salud y bienestar. Llegando a concluir que los lácteos fermentados actuaban como defensa contra infecciones, afirmación que lo lleva a recibir el premio Nóbel de inmunología en 1908⁴⁶.

Havenaar, R. et al, afirman que “Los probióticos son microorganismos vivos, que al ser ingeridos en cantidad adecuada producen efectos benéficos para la salud, más allá de su simple aporte nutricional”⁴⁷.

González M., B. et al afirman que:

Estos efectos en salud , se relacionan con la mejoría de enfermedades infecciosas, crónicas intestinales como colitis ulcerosa, inmunomodulación, biodisponibilidad de nutrientes, enfermedades cardiovasculares, diabetes melitus no insulino dependientes, obesidad, osteoporosis y cáncer.

⁴⁵ SANABRIA, Análisis fitoquímico preliminar. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá : 1983, p. 4

⁴⁶ QUAN KIU VAZQUEZ, Elizabeth. Probióticos: Protección para la salud intestinal. En : Gastroenterología. Vol. 201 (abr. 2000); p. 1-2.

⁴⁷ HAVENAAR, R. et al. Ciencia y Salud: La Alimentación. España : Proas Science. 1992, 47 p.

Este efecto benéfico es debido a que cuando se ingieren en cantidades adecuadas ocurre la modificación del ecosistema de los millones de microorganismos que habitan en el intestino, generando un equilibrio que se manifiesta por un estado de salud, en donde existe competencia por los sitios de adherencia, impidiendo la colonización de patógenos, y, reforzando los mecanismos de defensa, estimulando el sistema inmune⁴⁸.

Según estudio realizado en la Universidad de Nariño por Montes, A. *et al* y dirigido por el Dr. Alvaro Pazos, se obtuvo que:

Lactobacillus casei subsp *rhamnosus* es capaz de inhibir el crecimiento de *Helicobacter pylori*. Mediante los ensayos de antagonismo *in vitro*, con *Lactobacillus casei* subsp *rhamnosus* inhibió el crecimiento de *Helicobacter pylori* de la mejor manera en la dilución 10^{-2} con una densidad celular de 98×10^5 bact/ml, formando un mayor halo con un diámetro promedio de 19.31 mm con respecto al sustrato puro y a las diluciones 10^{-1} y 10^{-3} .⁴⁹

3.6 ESPECIES VEGETALES PROMISORIAS PARA EL TRATAMIENTO DE *H. pylori*

Para la selección de plantas se tiene en cuenta aquellas que de acuerdo al conocimiento popular se relacionen con la curación de afecciones digestivas, entre ellas:

3.6.1 Hierbamora (*Solanum nigrum*). “La Hierbamora –tal y como la entiende la gente de campo– comprende un conjunto de diversas estirpes emparentadas entre sí que se diferencian por varios caracteres que las modifican ligeramente”⁵⁰.

⁴⁸ GONZALES, M. B. y GOMEZ, T. Manual probióticos. En: resdyn. Vol. 2, No. 3 (jul-sep. 2001). 64 p.

⁴⁹ MONTES, A; *et al*. Efecto in vitro de *Lactobacillus casei*, sobre el crecimiento de un aislado de *helicobactr pylori*. Trabajo de grado (Biólogo con énfasis en microbiología) San Juan de Pasto : 2003, Universidad de Nariño. Programa de Biología.

⁵⁰ LA RED DE TOD@S. Plantas curativas. [en línea]. Ag. 2004. [citado, Feb. 2004]. Disponible en internet : <URL : <http://www.plantascurativas.com/verplantas.phtml?> 1 p.

Según García, manifiesta que:

Hierba erguida de 1m de alta, muy ramificada; tallos de color verde-amarillento, de consistencia herbácea; hojas oval-elípticas con los márgenes dentadas; ápice acuminado, base decidua de 7.5-13cm de largo, 3-6cm de ancho, peciolo 2-3cm de largo; flores en inflorescencias axilares o terminales; cáliz pubescente con los lóbulos agudos de 3mm de largo; fruto en baya. Las hojas y los frutos contienen solanina; las hojas contienen fenoles, alcaloides, grasas y heteróxidos. Se dice que la decocción de las hojas cura el cáncer gástrico y la ulcera duodenal.

En la hierbamora los flavonoides reducen el riesgo de cáncer por su acción antioxidante, bloqueando el acceso de los carcinógenos a las células, suprimiendo los cambios malignos en las células, interfiriendo con el enlace de las hormonas a las células, quelando los metales, induciendo a las enzimas a modificar su carcinogenicidad, estimulando la respuesta inmune o combinación de estas acciones (canales.laverdad.es/cienciaysalud/531.html). Por otro lado los fenoles tienen acción antioxidante, pueden reducir la peroxidación de los lípidos (canales.laverdad.es/cienciaysalud/531.html).

Figura 2. Planta de Hierbamora.



Fuente: www.plantascurativas.com/verplantas.phtml?indicemostrar=nombres b

3.6.2 Llantén (*Plantago major*). Según García, manifiesta que:

La planta perenne de unos 50cm de alta, hojas aovadas con la base angostada y el ápice obtuso, pecioladas con los bordes continuos; lámina de color verde claro, lustrosa, glabra, algo succulenta, con 3 -11 nervios muy pronunciados por el envés, de 15 -18cm de largo, 5 - 7cm

de ancho; inflorescencia en espiga, escapo de 30cm de largo, espiga linear cilíndrica, erecta con numerosas flores; cáliz con cuatro divisiones profundas, corola membranosa 4 lobulada; ovario con dos cavidades; fruto capsular con dehiscencia transversal.

Así mismo, cura las úlceras intestinales así como también la gastritis crónica. Las hojas de las distintas especies de llantén contienen gran cantidad de potasio, ácido cítrico, ácido plantenol, colina y adenina. Las raíces y tallo floral contienen aucobina junto con enzimas invertina y emusina⁵².

Figura 3. Planta de Llantén



Fuente: [www.plantascurativas.com/verplantas.phtml?indicemostrar nombres b](http://www.plantascurativas.com/verplantas.phtml?indicemostrar=nombres+b)

3.6.3 Caléndula (*Caléndula officinalis*). Planta herbácea, vivaz, sufruticante en la base, de 0.50-0.80m de alta, bien ramificada, tallos erectos, pubescente; hojas alternas, enteras o un poquito denticuladas y amplexicaules, succulentas, oblongas a oblongo-abovadas, ápice redondeado o mucronado, base atenuada, las hojas superiores basales 8.5 -11cm de largo, 2 - 2.8 cm de ancho; capítulos terminales o axilares, solitarios, con pedúnculo floral 10 -18 cm de largo, pubescente; involucre ovoide, brácteas imbricadas, lanceoladas, 1cm de largo, las interiores más cortas; flores radiadas desde blanco-amarillentas hasta amarillo-anaranjado, femeninas,

⁵² GARCÍA, Hernán. Flora medicinal de Colombia. Tomo I. Imprenta Nacional. Bogotá : 1975, 161 - 171 p.

fértiles; cáliz y corola de 4mm de largo, lígulas enteras o dentadas, amarillas - 1.5 cm de largo, 3 mm de ancho; las flores centrales hermafroditas, corola tubular con cinco lóbulos, anteras obtusas en la base, brácteas del estilo largas, subtruncadas; tanto en las flores masculinas como en las femeninas el papo ausente.

Según García⁵², “el zumo de las hojas en ayunas cicatriza la úlcera duodenal”.

Los principios activos que se presentan en la caléndula son Calendulina, Calendina y Saponina.

Así mismo, Mejía⁵³ afirma que “Las saponinas presentes en la caléndula no tienen el mecanismo de actividad anticáncer muy claro.

Figura 4. Planta de Caléndula.



Fuente: www.plantascurativas.com/verplantas.phtml?indicemostrar=nombres+b

3.6.4 Ajo (*Allium sativum*). Oriundo de Oriente Próximo, se conoce desde la antigüedad tanto por sus propiedades como por servir de condimento en otras culturas como la egipcia, griega, romana y árabe. La planta puede alcanzar hasta los 50 cm de altura y cuenta con un tallo cilíndrico y recto que se curva después de la floración⁵⁴.

⁵² GARCIA, ibid., p. 172

⁵³ MEJÍA, 1995. Manual de Aleopatía básica y Productos botánicos. Didácticas Kingraf - SIMPOAGRO. Universidad Nacional. Bogotá : 1995, p. 10 - 13

⁵⁴ LA RED DE TOD@S. Ibid., p. 2

García, manifiesta que:

Planta bianual o perenne con uno o más bulbos en el rizoma, que generalmente es corto y rastrero; hojas radicales estrechas, lineales, fistulosas, raras veces aplanadas; flores en umbela esferoidal, rodeadas por dos o tres hojas caulinares a modo de espata, a menudo con bulbillos entre las flores; a veces faltan éstas completamente, sirviendo después para la reproducción los bulbillos que la substituyen; cápsulas delgadas, por lo común triloculares, con dos semillas, más o menos triquetras, en cada división⁵⁵.

Lozano, argumenta que “Se ha publicado estudios en los que se demuestran el efecto inhibitor del ajo *in vitro* sobre la bacteria *Helicobacter pylori*. Quienes consumen ajo y verduras del genero *Allium* tienen un menor riesgo de desarrollar ulcera péptica y por consiguiente cáncer de estomago”⁵⁶

Mejía, afirma que:

Los principios activos de los extractos de ajo son Alicina, Colina, Alilo, Yodo, Nicotinamidas, Sulfuros y Garcilina. Es posible que en los países donde se consuma mayor cantidad de ajo, entre ellos España, existe una incidencia menor de cáncer. La razón se encontraría en que el ajo tiene propiedades antioxidantes que pueden inhibir el cáncer al proteger las células del daño que provocan los radicales libres⁵⁷.

Los ácidos fenólicos presentes en el ajo tienen propiedades antioxidantes pudiendo reducir la peroxidación de los lípidos. Por otro lado los monoterpenos bloquean la acción de carcinógenos al inducir la fase I y II de las enzimas. Los organosulfurados bloquean o suprimen la carcinogénesis (canales.laverdad.es/cienciaysalud/5 3 1.html). Por su parte la alicina es muy eficaz para prevenir la hipertensión, tratar la diabetes, curar la diarrea, reducir el riesgo de ataques cardiacos y destruir las células cancerosas (canales.laverdad.es/cienciaysalud/5 3 1.html). Tiene una gran actividad antitumoral y antifúngica, así como antioxidante contra los perjudiciales radicales libres.⁵⁸

⁵⁵ GARCIA, Ibid., p. 174

⁵⁶ LOZANO, J. Ciencia y Salud, La alimentación. Barcelona, España : 1997, p.45 - 46

⁵⁷ MEJIA, Op cit, p. 15

⁵⁸ MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CIENCIA. Ciencia y tecnología. [en línea]. [citado Mayo, 2003,]. Disponible en Internet : <URL : <http://www.sgci.mec.es/uk/pub/tecla/2003/mayo2i.html>>. 3 p.

Figura 5. Planta de Ajo.



Fuente: www.plantascurativas.com/verplantas.phtml?inicemostrar_nombres_b

3.6.5 Ají (*Capsicum anuum*). Hierba arbustiva de 1m de alto, hojas oblongas, acuminadas, largamente pedunculadas, lámina 4.5-6.5cm de largo, 2cm de ancho, peciolo 1-2cm de largo; inflorescencia axilar, cáliz verdoso, pétalos blancos; frutos bacciformes, cónicos, de 1.5-2cm de largo y 4cm de diámetro, huecos en la parte superior, con el pericarpo rojo o amarillo; los frutos varían mucho, especialmente por su forma y colorido.

Los frutos del ají contienen principalmente Capsaicina, principio picante e irritante que se encuentra principalmente en las paredes divisorias del fruto. En las semillas solamente se halla aceite. El valor farmacológico de esta droga depende pues de la Capsaicina que contiene.

García⁵⁹, afirma que “Es muy usado en medicina popular contra hemorroides, dispepsia atónica, neumonía y gastritis”.

⁵⁹ GARCÍA, Op cit., p. 18

Figura 6. Planta de Ají.



Fuente: www.plantascurativas.com/verplantas.phtml?indicemostrar=nombres b

4. METODOLOGIA

4.1 PARTE EXPERIMENTAL

4.1.1 Material Vegetal. Según metodología propuesta por Sanabria:

Para la recolección del material se consideraron condiciones de crecimiento de la planta (altura, m.s.n.m, temperatura y humedad relativa), época de recolección (crecimiento vegetativo, prefloración, floración, madurez) y tejidos recolectados (hojas y/o frutos). Cada material fue etiquetado adecuadamente con una ficha de registro donde se señaló lugar de procedencia, peso en fresco y fecha de recolección⁶⁰.

Se prepararon especímenes de herbario los cuales se determinaron y registraron en el Herbario de la Universidad de Nariño. Según metodología propuesta por Sanabria⁶¹, “De cada especie se colectó la parte aérea (hojas o frutos) de la cual se pesó 100g. Dicho material primero se secó durante 48h con aire circulante a 50°C, luego se molió y por último se guardó en recipientes herméticos y estériles de plástico a 4°C hasta el momento de su utilización”.

Cuadro 4. Características de plantas recolectadas.

PLANTA	HIERBAMORA	LLANTEN	CALENDULA	AJO	AJI
CARACTERISTICAS					
NOMBRE CIENTIFICO	<i>Solanum nigrum</i>	<i>Plantago major</i>	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Allium sativum</i>	<i>Capsicum annum</i>
LUGAR DE PROCEDENCIA	Univ. de Nariño (Torobajo)	San Fernando (San Juan de Pasto)	San Fernando (San Juan de Pasto)	San Fernando (San Juan de Pasto)	San Fernando (San Juan de Pasto)
ALTURA	2454 m.s.n.m	2750 m.s.n.m	2750 m.s.n.m	2750 m.s.n.m	2750 m.s.n.m
TEMPERATURA	21.5°C mín. 69.6°F 22.5°C máx. 72.5°F	23.2°C mín. 73°F 24°C máx. 75.9°F	23.2°C mín. 73°F 24°C máx. 75.9°F	23.2°C mín. 73°F 24°C máx. 75.9°F	23.2°C mín. 73°F 24°C máx. 75.9°F
HUMEDAD RELATIVA	56% mín. 60% máx.	43% mín. 49% máx.	43% mín. 49% máx.	43% mín. 49% máx.	43% mín. 49% máx.
EPOCA DE RECOLECCIÓN	Floración	Floración	Floración	Floración	Floración
TEJIDO RECOLECTADO	Hojas	Hojas	Hojas	Frutos	Frutos

⁶⁰ SANABRIA, Op cit., p. 3

⁶¹ SANABRIA, Ibid., p. 4

4.1.2 Obtención de los Extractos. Con el objeto de extraer todas las sustancias polares y no polares de la muestra, el material pulverizado resultado de 100g de muestra se sometió a reflujo en un equipo de reflujo con 100ml de agua destilada durante un periodo de 12 horas. Cada muestra vegetal tuvo un tratamiento por aparte.

La fracción acuosa se mezcló con 100ml de éter de petróleo con el propósito de separar las sustancias polares y no polares de la muestra vegetal. Las dos fracciones, acuosa y etérea, se separaron en un embudo de separación. Las fracciones se colectaron por separado en Beakers previamente esterilizados y pesados en una balanza analítica con 0.0001g de aproximación.

La fase solvente de cada fracción se evaporó en baño maría a 60°C. Con el propósito de cuantificar los miligramos de metabolitos adheridos al recipiente, se pesó nuevamente los beakers. Las diferencias entre el peso inicial y el peso final de los beakers sirvió para realizar los cálculos en miligramos.

4.1.3 Preparación de los inóculos. En el caso de *Helicobacter pylori* en todo el estudio se utilizaron cepas de mantenimiento donadas por la Universidad de Nariño y aisladas por Montes, A. *et al*⁶² en el trabajo de investigación denominado Efecto *in vitro* de *Lactobacillus casei* sobre el crecimiento de un aislado de *Helicobacter pylori* y conservadas en nitrógeno líquido a 196°C bajo 0, en tubos nunc con tioglicolato y glicerol. Todas las muestras se cultivaron en Agar Columbia suplementado con sangre de cordero al 8% durante 48h a 37°C en atmósfera microaerófila (según metodología planteada por Pelayo Correa)⁶³.

Helicobacter pylori fue activada de acuerdo al protocolo estandarizado por Andrea Montes, Ayda Santacruz y Jessie Sañudo⁶⁴ en la investigación dirigida por el Doctor Alvaro Pazos (**Anexo A**).

En el caso de *E. coli* se utilizaron cepas aisladas de pacientes con disuria y poliuria de PROSALUD y cultivadas en agar EMB. Para realizar el estudio se utilizó como medio de cultivo agar MUELLER HINTON (AMH) y se incubó a 37°C.

4.1.4 Evaluación de la Actividad Antibacteriana

- **Actividad frente a *Helicobacter pylori*.** De cada una de las soluciones preparadas se tomaron 5ml los cuales sirvieron para impregnar con metabolitos

⁶² MONTES, A. et al. Op cit., p. 815

⁶³ CORREA, p. Op cit., p. 113

⁶⁴ MONTES, A.; SANTACRUZ, A Y SAÑUDO, J. Op cit., p. 85

discos de papel filtro de 6mm de diámetro y 20-25 μ m de porosidad, los cuales habían sido esterilizados previamente por exposición a radiación ultravioleta durante 24h.

Nota: La cantidad de extracto que contenía cada sensidisco dependió de su capacidad de absorción.

La evaluación se realizó por el método de difusión en placa para lo cual con un escobillón estéril se transfirió una muestra de *H. pylori* cultivada en agar sangre y se realizó una siembra masiva en agar columbia suplementado con sangre de cordero (agar sangre), sobre la superficie del agar se depositaron los discos de papel filtro. Las cajas se incubaron a 37°C en atmósfera microaerofílica.

Al finalizar el periodo de incubación se observó y seleccionó los sensidiscos que presentaron halos de inhibición de crecimiento de las colonias de *H. pylori* los cuales se midieron y con los datos obtenidos se realizó un análisis de varianza para un diseño en bloques completamente al azar y una prueba de medias de Tukey.

Los extractos serán considerados bactericidas frente a ambas bacterias si poseen la capacidad de matar a las bacterias y que éstas no sean capaces de reproducirse más, aún cuando sean retiradas del contacto con el agente. Según Brock, "Serán consideradas bacteriostáticos si inhiben el crecimiento de las bacterias sin causar su muerte"⁶⁵.

- **Actividad frente a *Escherichia coli*.** Se siguió el mismo procedimiento descrito para determinar la actividad antibacteriana en *H. pylori*.

Como un patrón de comparación se realizó el tratamiento anterior para *Helicobacter pylori* y *Escherichia coli* solo que esta vez se utilizaron extractos frescos y no secos.

Después de cada prueba se volvió a verificar la pureza de las cepas utilizadas mediante pruebas sugeridas para cada microorganismo. En el caso de *Helicobacter pylori* se realizó un GRAM, prueba de la ureasa y prueba de la catalasa, y en el caso de *Escherichia coli* se realizó un GRAM.

4.1.5 Análisis Estadístico. Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio en el que se evaluó seis tratamientos con 10 repeticiones; los tratamientos estan formados por los extractos de las cinco plantas y un testigo

⁶⁵ MADIGAN, M. *et al.* Biología de los microorganismos. 8 ed. Prentice hall Iberia. Madrid : 1999, p. 718 - 722

absoluto. La unidad experimental consistió en una caja petri la cual contenía Agar Columbia suplementado con sangre de cordero más sensidiscos impregnados con cada uno de los extractos de plantas que formen un halo de inhibición del crecimiento del microorganismo y a evaluar de acuerdo al tratamiento.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el anexo C se resumen los resultados obtenidos de la actividad antibacteriana de las especies vegetales evaluadas. La actividad de cada especie se catalogó de acuerdo a su grado de actividad referido al tamaño de las zonas de inhibición que se presentaron.

Debido a que los extractos vegetales están constituidos por sustancias de diversas características, no es posible comparar su potencia, sino que sólo se puede determinar para cada microorganismo el grado de actividad del extracto en relación con un patrón de referencia. Ese grado de actividad se refiere a la presencia y al tamaño de las zonas de inhibición observadas para un extracto en particular como resultado de la sumatoria de las actividades de varias sustancias o la actividad que pueda expresar una determinada sustancia como reflejo de su concentración en el extracto.

Cuadro 5. Cálculos de peso y concentración de los extractos.

Planta	Peso Seco(g)	Peso inicial B(H ₂ O)g	Peso inicial B(E)g	Peso final B(H ₂ O)g	Peso final B(E)g	Peso total B(H ₂ O)g	Peso total B(E)g	Concentración B(H ₂ O)mg	Concentración B(E)mg
Hierbamora	18	47,7609	51,0598	48,3778	52,7339	0,6169	1,6741	003,427222	009,300555
Caléndula	14	50,0895	49,2791	51,9410	50,8426	1,8515	1,5635	0,013225	0,011167857
Llantén	13	49,5634	46,9314	50,2638	47,4753	0,7004	0,5439	005,387692	004,183846
Ajo	30	50,3858	49,3111	51,8776	50,8199	1,4918	1,5088	004,497266	005,029333
Ají	19	47,4116	50,6083	48,9425	50,7726	1,5309	0,1643	008,057368	0008,647368

Como se muestra en el **Anexo C**, las cinco especies de plantas superiores estudiadas (100%) presentaron algún tipo de actividad antimicrobiana. Dentro de estas especies se destacaron por su actividad sobre las bacterias estudiadas en su orden ***Capsicum anuum***, ***Solanum nigrum*** (ambas Solanaceae) y ***Calendula officinalis*** (Asteraceae) quienes presentaron actividad sobre las dos bacterias gram negativas (***Escherichia coli*** y ***Helicobacter pylori***) con diámetros de inhibición ? a 18mm; la mayor actividad frente a estas dos bacterias la presentó ***Allium sativum***, la cual produjo diámetros de inhibición ? a 22 mm para ***E. coli*** ? a 22 mm para ***H. pylori***.

Figura 7. Microfotografía de *Escherichia coli*.

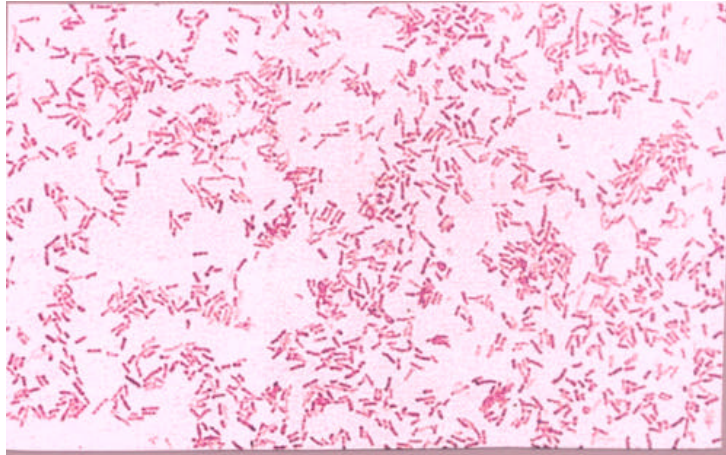
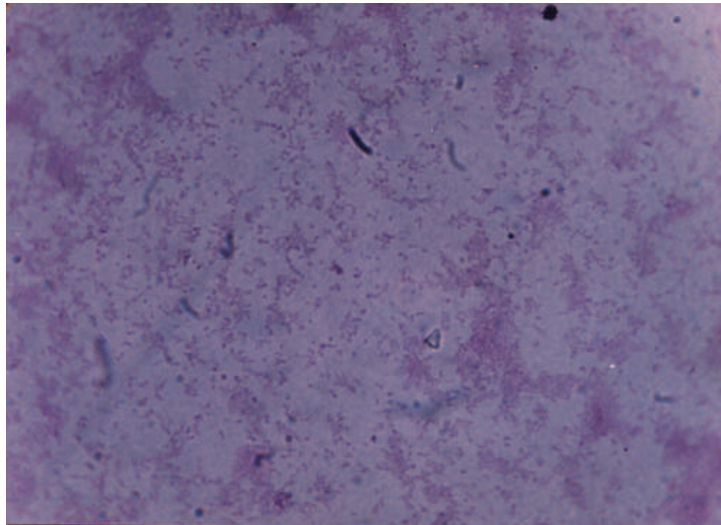
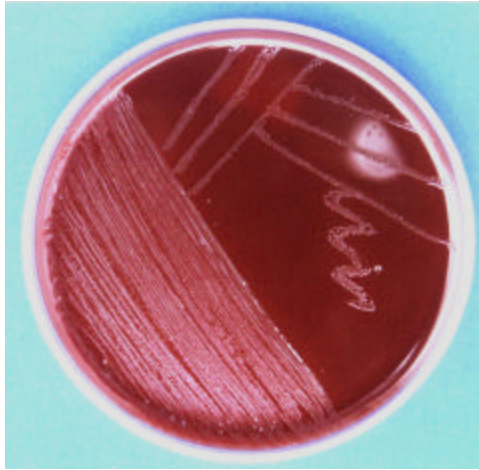


Figura 8. Microfotografía de *Helicobacter pylori*.



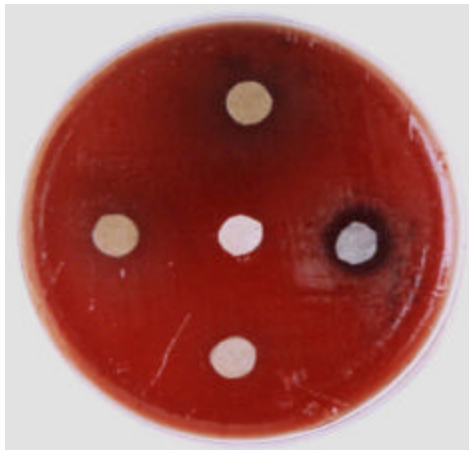
5.1 Actividad frente a *Helicobacter pylori*. El crecimiento de *H. pylori* fue exitoso se observaron colonias pequeñas, translúcidas parecidas a gotas de rocío, muestra de ello es la fotografía que aparece en la **Figura 9**.

Figura 9. *Helicobacter pylori* en Agar Sangre (AS).



- **Extracto Etéreo.** Con la impregnación de los sensidiscos con extractos vegetales etéreos y posterior siembra del agar sangre con *H. pylori* se observó que el mayor halo de inhibición lo presentó el extracto correspondiente a hierbamora con un promedio de 8.6mm seguido por el de ají con un promedio de 7.8 mm (**Figura 10**).

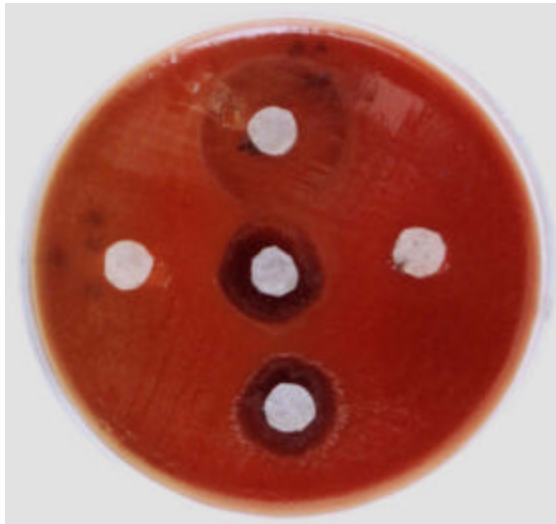
Figura 10. Antibiograma con extractos vegetales etéreos (parte superior ajo, derecha ají, inferior hierbamora, izquierda caléndula y central llantén) Vs *Helicobacter pylori* en AS.



- **Extracto Acuoso.** La impregnación de los sensidiscos con extractos vegetales acuosos y posterior siembra del agar sangre con *H. pylori* permitió observar que el extracto que mayor halo de inhibición presentó fue el de ajo con un promedio de

13mm seguido por el de ají con un promedio de 9.6mm y caléndula con un promedio de 9.4 (**Figura 11**).

Figura 11. Antibiograma con extractos vegetales acuosos (parte superior ajo, derecha llantén, izquierda hierbamora, inferior caléndula y central ají) Vs *Helicobacter pylori* en AS.



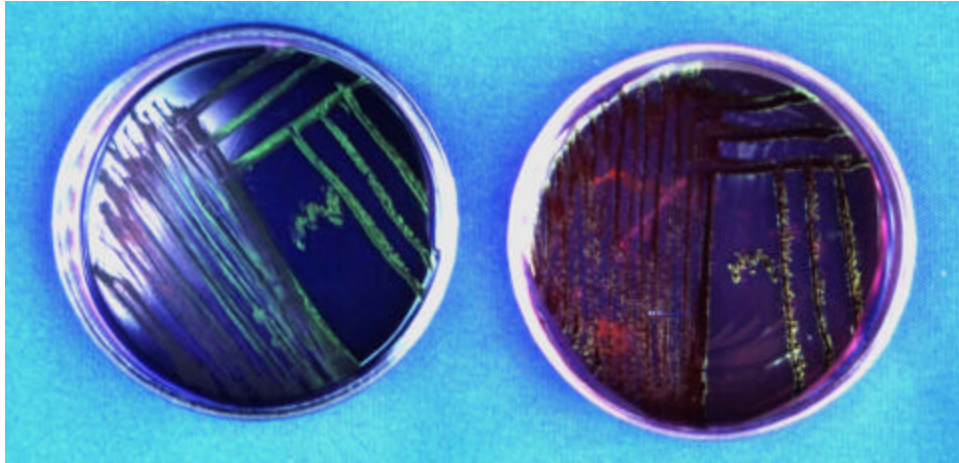
- **Extracto Fresco.** Con la impregnación de los sensidiscos con extractos frescos y la posterior siembra del agar sangre con *Helicobacter pylori* se observó que el mayor halo de inhibición lo presentó el extracto de ajo con un promedio igual a 18.6mm seguido por el de hierbamora con un promedio de 11.4mm y ají con un promedio de 10.4mm (**Figura 12**).

Figura 12. Extractos en fresco (parte superior ajo, derecha ají, izquierda hierbamora, inferior llantén y central caléndula) Vs *Helicobacter pylori* en AS.



5.2 Actividad frente a *Escherichia coli*.

Figura 13. *Escherichia coli* cultivada en Agar EMB.



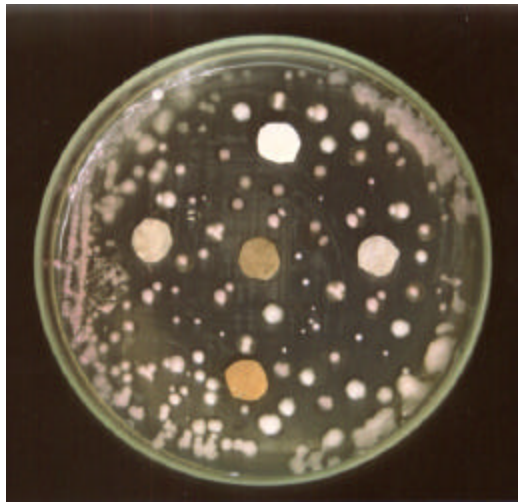
- **Extracto Etéreo.** Con la impregnación de los sensidiscos con extractos vegetales etéreos y posterior siembra del agar con *E. coli* se observó que el mayor halo de inhibición lo presentó el extracto correspondiente a caléndula con un promedio de 6.6mm seguido por el extracto de hierbamora con un promedio de 6.2mm (Figura 14).

Figura 14. Antibiograma con extractos vegetales etéreos (parte superior hierbamora, derecha ajo, izquierda caléndula, inferior ají y central llantén) Vs *Escherichia coli* en AMH.



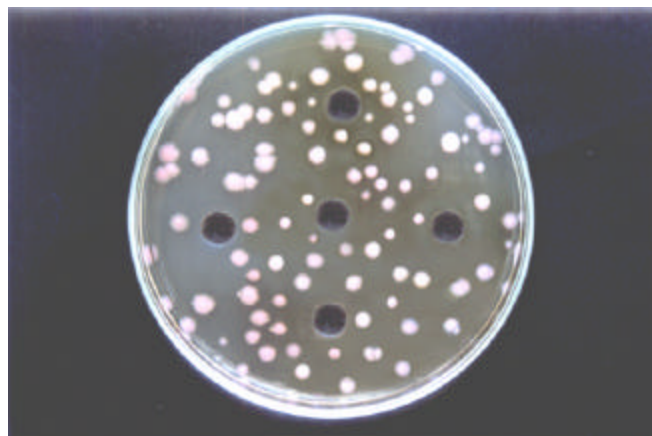
- **Extracto Acuoso.** La impregnación de los sensidiscos con extractos vegetales acuosos y posterior siembra del agar con *E. coli* se observó que el mayor halo de inhibición se presentó en ajo con un promedio de 10.8mm seguido por el de ají con un promedio igual a 9.6mm y caléndula con un promedio de 6.2mm (**Figura 15**).

Figura 15. Antibiograma de extractos vegetales acuosos (parte superior hierbamora, derecha ajo, izquierda caléndula, inferior ají y central llantén) Vs *Escherichia coli* en AMH.



- **Extracto Fresco.** Con la impregnación de los sensidiscos con los extractos frescos y la posterior siembra de *Escherichia coli* en el agar AMH se observó que el mayor halo de inhibición lo presentó el extracto de ajo con un promedio igual a 12mm seguido por el de ají con un promedio de 7.4mm y caléndula con un promedio de 6.8mm (**Figura 16**)

Figura 16. Extractos vegetales en fresco (parte superior hierbamora, derecha caléndula, izquierda ajo, inferior ají y central llantén) Vs *Escherichia coli* en AMH.



Todo lo observado anteriormente se lo puede analizar estadísticamente como se demuestra a continuación.

5.3 Análisis Estadístico.

Cuadro 6. Análisis de Varianza.

RECURSO	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA DE CUADRADOS	F	VALOR P
Efectos Principales					
A. Tratamiento	264.827	2	132.413	19.36	0.0001
B. Bacteria.	328.653	1	328.653	48.06	0.0001
C. Extracto	891.547	5	222.887	32.59	0.0001
Error	1996.72	292	6.83808		
Total(corregido)	3481.75	299			

El anterior Cuadro nos muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos de extractos etéreos, acuosos y frescos con un 95% de confiabilidad.

El **Cuadro 6** descompone la variabilidad del halo dentro de contribuciones debido a varios factores. Desde que la suma de cuadrados ha sido escogida, la contribución de cada factor es medida teniendo que quitar los efectos de todos los otros factores. Desde que los tres valores de P son menores de 0.05, estos factores tienen un efecto significativo estadísticamente sobre el halo a un nivel de 95% de confianza.

Cuadro 7. Prueba de medias de Tukey para halo Vs tratamiento.

TRATAMIENTO	CANTIDAD	MEDIA	GRUPO
ETEREO	100	7.58	A
ACUOSO	100	8.8	B
FRESCO	100	9.88	C

El **Cuadro 7** indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos siendo el mejor el extracto fresco, seguido por el acuoso y el etéreo que presentan los halos de inhibición más pequeños. Este Cuadro aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar que medias son diferentes significativamente de otras. Todos los datos muestran diferencias significativas con un 95% de confianza.

Cuadro 8. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.

EXTRACTO	CANTIDAD	MEDIA	GRUPOS
Testigo	60	0.0	A
Llantén	60	6.86667	B
Caléndula	60	8.03333	C
Hierbamora	60	8.3	C
Ají	60	8.56667	C
Ájo	60	12.0	D

En el **Cuadro 8** se puede apreciar que existen diferencias significativas entre los extractos siendo el mejor el extracto de ajo. Ají, hierbamora y caléndula presentan similitudes en los halos de inhibición. Llantén presenta los halos de inhibición menores.

El **Cuadro 8** aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar que medias son diferentes significativamente de otras. Estas diferencias significativas presentan un nivel de confianza del 95%.

Cuadro 9. Prueba de medias de Tukey para halo Vs bacteria.

BACTERIA	CANTIDAD	MEDIA	GRUPOS
<i>E. coli</i>	180	7.70667	A
<i>H. pylori</i>	180	9.8	B

5.3.1 Análisis para *Escherichia coli*.

Cuadro 10. Análisis de Varianza.

RECURSO	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA DE CUADRADOS	F	VALOR P
Efectos principales					
A. Tratamiento	55.0933	2	27.5467	8.17	0.0004
B. Extracto	337.76	5	84.44	25.04	0.0001
Error	482.24	143	3.37231		
Total(corregido)	875.093	149			

El **Cuadro 10** nos indica que hay diferencias significativas entre los tratamientos de extractos etéreos, acuosos y frescos con un 95% de confiabilidad para *Escherichia coli*.

Cuadro 11. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.

EXTRACTO	CANTIDAD	MEDIA	GRUPOS
Testigo	60	0.0	A
Llantén	60	6.33333	A
Caléndula	60	6.73333	A
Hierbamora	60	7.06667	A
Ají	60	7.86667	B
Ajo	60	10.5333	C

En el **Cuadro 11** existen diferencias significativas entre los extractos siendo el mejor el extracto de ajo seguida por ají. Caléndula, hierbamora y llantén presentan similitudes en los halos de inhibición.

Cuadro 12. Prueba de medias de Tukey para halo Vs tratamiento.

TRATAMIENTO	CANTIDAD	MEDIA	GRUPO
ETEREO	100	7.0	A
FRESCO	100	7.64	A
ACUOSO	100	8.48	B

En el **Cuadro 12** existen diferencias significativas entre los tratamientos siendo el mejor el tratamiento acuoso, seguido por el fresco y el etéreo que presentan los halos de inhibición más pequeños.

5.3.2 Análisis para *Helicobacter pylori*

Cuadro 13. Análisis de Varianza.

RECURSO	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA DE CUADRADOS	F	VALOR P
Efectos principales					
A. Tratamiento	426.72	2	213.36	24.25	0.0001
B. Extracto	593.333	5	148.333	16.86	0.0001
Error	1257.95	143	8.79683		
Total(corregido)	2278.0	149			

En el **Cuadro 13** existen diferencias significativas entre los tratamientos de extractos etéreos, acuosos y frescos con un 95% de confiabilidad.

Cuadro 14. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.

EXTRACTO	CANTIDAD	MEDIA	GRUPO
Testigo	60	0.0	A
Llantén	60	7.4	A
Ají	60	9.26667	B
Caléndula	60	9.33333	B
Hierbamora	60	9.53333	B
Ajo	60	13.4667	C

En el **Cuadro 14** existen diferencias significativas entre los extractos siendo el mejor el extracto de ajo. Hierbamora, Caléndula, y ají presentan similitudes en los halos de inhibición. Llantén presenta los halos de inhibición más pequeños.

Cuadro 15. Prueba de medias de Tukey para halo Vs tratamiento.

TRATAMIENTO	CANTIDAD	MEDIA	GRUPO
ETEREO	100	8.16	A
ACUOSO	100	9.12	B
FRESCO	100	12.12	C

En el **Cuadro 15** existen diferencias significativas entre los tratamientos siendo el mejor el tratamiento fresco seguido por el acuoso y el etéreo que presentan los halos de inhibición más pequeños.

Cuadro 16. Análisis de Varianza para tratamiento Acuoso.

RECURSO	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA DE CUADRADOS	F	VALOR P
Efectos principales	10.24	1	10.24	1.62	0.2062
A. Bacteria	331.6	5	82.9	13.12	0.0001
B. Extracto					
Error	594.16	94	6.32085		
Total(corregido)	936.0	99			

Cuadro 17. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.

EXTRACTO	CANTIDAD	MEDIA	GRUPOS
Testigo	60	0.0	A
Llantén	60	6.6	A
Hierbamora	60	7.8	AB
Caléndula	60	8.1	AB
Ají	60	9.6	AB
Ajo	60	11.9	C

Según el Cuadro 17 nos podemos dar cuenta que en el tratamiento acuoso, el extracto que mejor resultado mostró fue el de ajo seguido por los extractos de ají, caléndula y hierbamora que presentaron halos de inhibición similares.

Cuadro 18. Análisis de Varianza para tratamiento Etéreo.

RECURSO	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA DE CUADRADOS	F	VALOR P
Efecto principales					
A. Bacteria	33.64	1	33.64	14.74	0.0002
B. Extracto	42.16	5	10.54	4.62	0.0019
Error	214.56	94	2.28255		
Total(corregido)	290.36	99			

Cuadro 19. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.

EXTRACTO	CANTIDAD	MEDIA	GRUPOS
Testigo	60	0.0	A
Llantén	60	6.9	A
Ají	60	7.2	A
Caléndula	60	7.5	AB
Hierbamora	60	7.5	AB
Ajo	60	8.8	C

El anterior Cuadro nos indica que el extracto de ajo fue el que mostró los halos de inhibición más grandes en el tratamiento etéreo. El extracto de hierbamora y caléndula muestran halos de inhibición similares por eso se los ubica en el mismo grupo.

Cuadro 20. Análisis de Varianza para tratamiento fresco.

RECURSO	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA DE CUADRADOS	F	VALOR P
Efectos principales					
A. Bacteria	106.408	1	106.408	78.34	0.0001
B. Extracto	269.075	5	53.815	39.62	0.0001
Error	146.7	108	1.35833		
Total(corregido)	570.125	119			

Cuadro 21. Prueba de medias de Tukey para halo Vs extracto.

EXTRACTO	CANTIDAD	MEDIA	GRUPOS
Testigo	60	0.0	A
Llantén	60	0.55	A
Caléndula	60	1.25	AB
Ají	60	1.45	AB
Hierbamora	60	1.8	AB
Ajo	60	4.7	C

Se puede decir que el extracto de ajo muestra los halos de inhibición mayores y que los extractos de hierbamora, ají y caléndula los muestran similares ubicándose en el mismo grupo.

El tratamiento testigo simplemente no aplica.

6. CONCLUSIONES

El extracto que mejor funcionó fue el de ajo con una media de 13.4667 en el caso de *Helicobacter pylori* y de 10.53 en el caso de *Escherichia coli*, seguido por el de hierbamora con una media de 9.53 para *Helicobacter pylori*. En el caso de *Escherichia coli* el ajo fue seguido por el ají con una media de 7.86.

El tratamiento que mejor funcionó para ambas bacterias es el fresco con una media de 12.12 para *Helicobacter pylori* y de 9.88 para *Escherichia coli* por lo que se puede decir que el metabolito secundario presente o soluble en agua es el responsable de la inhibición. Puede ser que este resultado se haya debido a que había mayor concentración del extracto.

Se concluye que los extractos de ajo, hierbamora y ají presentan un efecto bactericida frente a *Escherichia coli* y *Helicobacter pylori* ya que poseen la capacidad de matar a las bacterias. La acción bactericida difiere de la bacteriostática únicamente en que es irreversible; es decir, el microorganismo "muerto" no puede reproducirse más, aún cuando sea retirado del contacto con el agente.

7. RECOMENDACIONES

Las especies anteriormente citadas presentaron una actividad antimicrobiana tan destacada que amerita profundizar en el aislamiento e identificación de las sustancias responsables de dicha bioactividad.

Se recomienda realizar el estudio *in vivo* ya que *in vitro* el trabajo arrojó resultados positivos.

Se deben tomar precauciones si se desea extrapolar los resultados de este estudio *in vitro* a condiciones *in vivo* por posibles consecuencias como que el consumo del ají como condimento reduce las propiedades curativas y al consumirlo en grandes cantidades, sin ser sometido a cocción, para lograr los efectos curativos, produciría anemia.

Recomendar continuar con la investigación haciendo un análisis químico de los extractos que presentaron mejor actividad biológica para poder determinar los posibles metabolitos implicados en dicha actividad.

BIBLIOGRAFÍA

ALVAREZ, L. *Helicobacter pylori* en enfermedad ácido péptica. En : CONGRESO NACIONAL DE BACTERIOLOGÍA. (1º : 1996: Medellín). Memorias I Congreso Nacional de Bacteriología. Medellín : 1996, 39 p. 11 - 12

BRAY, J. Isolation of antigenically homogeneous strains of *Bac coli neapolitanum* from summer diarrhoea of infants. *J. Pathol*, 1945, 256 p.

BRAY, J; y BEAVAN, T. Slide agglutination of *Bacterium coli* in summer diarrhoea. *J. Pathol*. 1948, No. 60 : 512 p.

CIENCIA Y SALUD [en línea]. Agosto. 2003. [citado 10 jul.2003]. Disponible en internet : <URL : http://www.canaleslaverdad.es/ciencia_y_salud/5-3.html>. 200, 2 p.

CORREA, P. The epidemiology and patogénesis of chronic gastritis: Three etiologic entites. *Frontiers of Gastrointestinal research*. L. Van Der Reis. San Francisco, California : 1980, 2782 p.

CORREA, Pelayo, *et al.* Gastric cancer in Colombia. Natural history of precursor lesions. *National Cancer Institute*, Vol. III, no. 5 (Mayo). 1976, *s.n.*

CUELLO, C, *et al.* Gastric cancer in Colombia: Cancer risk and suspect environmental agents. *National Cancer Institute*, 1976, 68 p.

CUNNINGE, J. H; BINGHAM. A. Sociedad Argentina de Pediatría. [en línea]. Mrc Dunn Clinical Nutrition Centre. Cambridge. [Reino Unido]. 789 Dieta y prevención del cáncer. (citado 12 Ag. 2003). 3 p. Disponible en Internet : <URL : <http://www.sap.org.ar/publicaciones/correo/cor499/cor789A.html>>

ENLACES A MEDICINA. Librería digital: Salud productiva. Merk Generics. [en línea]. Jul 2003. [citado Ag. 2004]. Disponible en internet : <URL : www.encolombia.com/gastro15200.Helicobacter_pylori2htm>. 2003, 4 p.

_____, _____. Librería digital: Salud productiva. Merk Generics. [en línea]. Ag. 2003. [citado Sep. 2004]. Disponible en internet : <URL : www.encolombia.com/gastroeficacia>. 5 p.

FERRANDIZ, *et al.* *Helicobacter mustelae*. Isolation from feces of terrets: Evidence to support fecal - oral transmisión of a gastric *Helicobacter*. *Infect Immun*. Vol. 60: 1992, 800 p.

GARCIA, Hernán. Flora medicinal de Colombia. Tomo I. Imprenta Nacional. Bogotá : 1975, 251 p.

_____, _____. _____. Tomo II. Imprenta Nacional. Bogotá : 1975, 421 p.

_____, _____. _____. Tomo III. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional. Bogotá : 1975, 259 p.

GONZÁLEZ M., B. y GOMEZ, T. Manual probióticos. En: resdyn. Vol. 2, No. 3 (jul-sep. 2001). 64 p.

GRAY, L. D. ***Escherichia, Salmonella, Shigella and Yersinia***. En: Murria PR editor Manual of Clinical Microbiology. 6 ed. Washington : ASM Press, 1995, 89 p.

HANSON, L. E. *et al.* Prevalence of ***Helicobacter pylori*** infection in subtypes of gastric cancer. In: Gastroenterology. Vol. 109, no. (sep. 1995); 925 p.

HAENZEL, W, *et al.*. Serum micronutrients levels in relation to gastric pathology. National Cancer Institute, 1985, 179 p.

HAVENAAR, R. *et al.* Ciencia y Salud: La Alimentación. España : Proas Science. 1992, 47 p.

HIRSCHL, A. M. Infección por ***Helicobacter pylori*** en lesiones gastroduodenales: Microbiología de ***Helicobacter pylori***, aspectos generales, diagnóstico y resistencia. Barcelona, España : Prous Science, 1998. p. 17-19, 22-28.

JOSEPH, J, *et al.* Antibacterial treatment of gastric ulcer associated with ***Helicobacter pylori***. The New England Journal of Medicine. Vol. 32. 1995.

KATS, U, *et al.* Tratamiento combinado con lansoprazol, claritromicina y amoxicilina para la infección por ***Helicobacter pylori***. Club de revistas Americanas Journal of Gastroenterology. (No. 93. Abril. 1998). 700 p.

KATELARIS, P, *et al.* Field evaluation of a rapid, simple and inexpensive ureasa test for detection of ***Helicobacter pylori***. Journal of gastroenterology and hepatology. Vol. 7. no. 1982, p.

KAPER, J. B. Molecular pathogenics of enteropathogenic E. Coli. En : Miller VL, Kaper J. B, Portnoy DA, Isberg RR eds. Molecular genetics of bacterial pathogenesis. Washinton DC: ASM Press, 1994, 400 p.

KELLER, J, *et al.* Treatment of *Helicobacter pylori*: A review of world literature. *Helicobacter* 1996 Mar;1 (1) :6-19

KLEANTHOUS, H, *et al.* Rectal and intranasal immunizations with recombinant urease induce distinct local and serum immune responses in mice and protect against *Helicobacter pylori* infection. *Infect Immun* 1998 Jun; (Vol. 6, 1998) No. 66: p. 2879 – 86.

LA RED DE TOD@S. Plantas curativas. [en línea]. Ag. 2004. [citado, Feb. 2004]. Disponible en internet : <URL : <http://www.plantascurativas.com/verplantas.phtml?> 1 p.

LEVINE, M. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohemorrhagic, and enteroadherent. *J Infect Dis.* 1987, No. 155 : 400 p.

LOZANO, J. A. Ciencia y Salud, La alimentación. Barcelona, España : 1997, p.

LYNCH, R, *et al.*. Métodos de Laboratorio. Interamericana, 2 ed. México : 1980, p.

MADIGAN, M. *et al.* Biología de los microorganismos. 8 ed. Prentice Hall Iberia. Madrid : 1999, 921 p.

MALFERTHEINER, P, *et al.*. Modified rapid urease test for detection of *Helicobacter pylori* infection. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology.* Vol. 8, No. 1, 1996, p..

MARSHAL, B. Y WARREN, Robin. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, No. 8390. 1994, p.

MEGRAUD. F. *Helicobacter pylori*. Infection in the Colombian Andes. A population – Based study of transmission. No. 3. 1996. 299 p.

MEJIA, H. Manual de Aleopatía básica y Productos botánicos. Didácticas Kingraf - SIMPOAGRO. Universidad Nacional. Bogotá : 1995, 108 p.

MINISTERIO DE EDUCACIÓN Y CIENCIA. Ciencia y tecnología. [en línea]. [citado Mayo, 2003,]. Disponible en Internet : <URL : <http://www.sgci.mec.es/uk/pub/tecla/2003/mayo2i.html>>. 3 p.

MONTES, G, *et al.* Sodium intake and gastric cancer. National Cancer Institute. 1985, p.

MONTES, A; *et al.* Efecto in vitro de *Lactobacillus casei*, sobre el crecimiento de un aislado de *Helicobacter pylori*. Trabajo de grado (Biólogo con énfasis en

microbiología) San Juan de Pasto : 2003, Universidad de Nariño. Programa de Biología.

PAJARES, J. M.; CORREA, P. Y PEREZ, G. I. Infección intestinal *Helicobacter pylori* en lesiones gastroduodenales. Barcelona, España : Prous Science, 1998, p. 83 - 84

PÉREZ, G. I. Infección por *Helicobacter pylori* en lesiones gastroduodenales; Mecanismo de Patogenicidad de *Helicobacter pylori*. Barcelona, España : Prous Science, 1998, p. 107-113.

QUAN KIU VAZQUEZ, Elizabeth. Probióticos: Protección para la salud intestinal. En : Gastroenterología. Vol. 201 (abr. 2000); p. 1-2.

RIOS, A. Y VILLAR, M. Ethnopharmacol. Vol. 23, no. 127. 1988, 214 p.

SANABRIA, Antonio. Análisis fitoquímico preliminar. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá : 1983, 4 p.

SARMIENTO, Q. Fernando; JARAMILLO, Lina y MURCIA, Susana. Pruebas diagnósticas para *Helicobacter pylori*. (1998). s.i.

SGCI.MEC.ES/UK/PUB/TECLA/2003/MAYO2I.HTML

TANNENBAUM, S, *et al.* Endogenous formation of N-nitrosos compounds and gastric carcinoma. Monograf. 1987, 178 p.

TANNOCK, G.W. Normal Microflora. London : Chapman and Hall, 1995, 315 p.

THE EMPIRE ESTATE. Department of Health. [en línea]. (New York State). Jul. 2004. [citado 10 Ag. 2003]. Disponible en Internet: <URL <http://www.Health.state.ny.us/nisboh/communicable.diseases/en/E.coli.html>>.

ANEXOS

Anexo A. Aislamiento y purificación de *Helicobacter pylori*.

Según metodología propuesta por Montes, A. *et al* 2003. Se aisló ***Helicobacter pylori*** de fragmentos obtenidos por biopsia de mucosa gástrica de pacientes que acuden a consulta por síndrome ulceroso.

Estandarizando la siguiente metodología:

- El procedimiento a realizar consistió en tomar tres fragmentos de biopsias de 1 a 2mm de diámetro que se depositaron en: un fragmento en tubo ependorff que contiene 1ml de solución de test de urea, para determinar la presencia inicial de ***Helicobacter pylori***; el segundo fragmento en tubo nunc con 1ml de tioglicolato (BBL, Merck), para su conservación en nitrógeno líquido a -196°C., y el tercer fragmento en un tubo ependorff con 1ml de solución salina fisiológica estéril al 0.9% de NaCl para su cultivo.

- El proceso de aislamiento parte del tercer fragmento, se llevó a maceración en mortero estéril, con 200µl de solución salina 0.9% estéril, se sembró el macerado con asa de argolla por el método de estría en agar base columbia (Oxoid) suplementado con sangre desfibrinada de cordero al 8% más suplemento Dent (Oxoid) el cual contiene Vancomicina, Cefsulodin, Lactato de trimetropin y Anfotericina B.

- Se incubó las cajas a 37°C en jarra anaeróbica con sobres de Campypack (BBL), al que se le adicionó 10ml de agua destilada estéril para inducir un ambiente microaerófilico, los sobres se cambiaron en el momento que se hace cada evaluación. Opcionalmente se puede utilizar una gasa estéril humedecida con agua destilada estéril para inducir humedad.

- Se evaluó el crecimiento de 48 a 72 horas y luego se realizó evaluaciones periódicas cada día hasta 7-10 días. Las primeras colonias pueden aparecer de los tres a cuatro días aunque habitualmente, tardan hasta diez días (Hirschl, A. M 1998).

- Las evaluaciones tendieron a detectar morfología de las colonias compatibles con ***Helicobacter pylori***, o sea colonias circulares con una apariencia convexa translúcida en forma de gotas de rocío, de 1 a 2mm de diámetro (Hirsch, A. M 1998). A estas colonias se les realizó tinción de Gram para observar morfología celular compatible con bacterias Gram negativas pleomórficas, espiriladas, curvas y típicas en alas de gaviota.

Para la purificación de las bacterias se tomaron colonias con asa de argolla y se sembraron en agar columbia (Oxoid) con sangre de cordero desfibrinada al 8% sin suplemento, por el método de siembra por estrías, además se sembró en tubos tapa rosca con 10ml de tioglicolato (BBL; Merck) ó caldo Brusella; al colocar los tubos en la jarra no se deben tapar completamente para proporcionarles la atmósfera adecuada, se incubó a 37°C de 24 a 48 horas en las condiciones antes mencionadas. Los tubos se evaluaron mediante la turbidez del medio en la parte media superior del mismo.

- **Preservación y activación de *Helicobacter pylori*.** - Del aislado purificado de *Helicobacter pylori* se tomaron colonias con escobillón estéril que se transfirieron a un tubo nunc con 0.8?l de caldo tioglicolato (BBL) estéril, posteriormente se adicionó 0.2?l de glicerol (20%) (V/V), se agitó para lograr una buena homogeneización y se llevaron los tubos finalmente a nitrógeno líquido a -196°C para su conservación.

- Para la activación se partió del preservado criogénico e inmediatamente con una hoja de bisturí No 11 o una lanceta se raspó una fracción del contenido del tubo realizándolo en el menor tiempo posible para evitar el descongelamiento del contenido del tubo. La fracción se depositó en una caja petri con agar columbia (Oxoid) y sangre desfibrinada de cordero al 8% sin suplemento, el resto del contenido del tubo se llevó nuevamente a nitrógeno líquido a -196°C para futuras activaciones.

- Posteriormente se hizo un rayado con escobillón estéril por el método de siembra en masa en toda la placa, el mismo escobillón se lo utilizó para transferir las bacterias restantes a un tubo nunc con tioglicolato (BBL, Merck) estéril, a tubos tapa rosca con 10ml de caldo tioglicolato (BBL, Merck) estéril ; y/o caldo Brusella (Merck), se incubó a 37°C en jarra anaeróbica con un sobre Campipack (BBL) al cual se adicionó 10ml de agua destilada estéril. Se evaluó el crecimiento de 48 a 72 horas observando la morfología propia de las colonias en las cajas y la turbidez del caldo.

Anexo B. Composición de medios de cultivo.

- Medio Agar Sangre.

? 19.5 g de agar columbia.

? 40ml de sangre desfibrinada de corderoal 8%.

? 460 ml de agua destilada estéril.

- Medio Agar Sangre con suplemento Dent. Se adiciona 2ml de agua destilada estéril en el frasco de suplemento Dent (Oxoid), este contenido se utiliza para 500ml de medio agar sangre.

- Test de Urea.

Urea al 10% ----- 10 g de urea.
100 ml de agua destilada estéril.

Rojo fenol al 0.1% ----- 0.1 g de rojo fenol
100 ml de agua destilada estéril

Preparación: Se adiciona 50 gotas de rojo fenol por cada 25ml de urea.

- Solución Salina.

NaCl al 0.9% ----- 0.9 g de NaCl
100 ml de agua destilada estéril

- Solución Peptonaza.

Peptona al 0.1% ----- 0.1g de peptona bacteriológica.
100ml de agua destilada estéril

Anexo C. Resultados de la actividad antibacteriana de especies de plantas superiores.

TRATAMIENTO	BACTERIA	EXTRACTO	HALO(mm)	TRATAMIENTO	BACTERIA	EXTRACTO	HALO(mm)
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	12	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ajo	10
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	8	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	12	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	6	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	8	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	6	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ajo	10
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	8	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ajo	10
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	8	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	8	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	10	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ajo	10
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ají	12	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Caléndula	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ají	8	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Caléndula	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ají	10	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ají	8	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Caléndula	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ají	6	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ají	6	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Caléndula	6
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ají	8	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ají	8	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ají	6	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Caléndula	6
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Ají	6	Etéreo	<i>H. pylori</i>	Caléndula	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Llantén	8	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	6
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	10
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	6
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	6
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Llantén	10	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	6
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Llantén	8	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	6
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	6
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	8
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Llantén	8	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	6
Etéreo	<i>H. pylori</i>	Llantén	8	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	8
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ajo	20	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ají	12

Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ajo	12	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ají	6
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ajo	18	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ají	10
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ajo	10	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ají	6
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ajo	20	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ají	12
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ajo	14	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ají	6
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ajo	6	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ají	16
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ajo	12	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ají	10
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ajo	10	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ají	8
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ajo	8	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Ají	10
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Caléndula	14	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Llantén	8
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Caléndula	14	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Caléndula	8	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Llantén	6

Acuoso	<i>H. pylori</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Llantén	8
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Llantén	8
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Llantén	8
Acuoso	<i>H. pylori</i>	Caléndula	14	Acuoso	<i>H. pylori</i>	Llantén	6
Fresco	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	10	Fresco	<i>H. pylori</i>	Ajo	22
Fresco	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	10	Fresco	<i>H. pylori</i>	Ajo	20
Fresco	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	18	Fresco	<i>H. pylori</i>	Ajo	14
Fresco	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	18	Fresco	<i>H. pylori</i>	Ajo	18
Fresco	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	10	Fresco	<i>H. pylori</i>	Ajo	18
Fresco	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	16	Fresco	<i>H. pylori</i>	Ajo	20

TRATAMIENTO	BACTERIA	EXTRACTO	HALO(mm)	TRATAMIENTO	BACTERIA	EXTRACTO	HALO(mm)
Fresco	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	16	Fresco	<i>H. pylori</i>	Ajo	22
Fresco	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	10	Fresco	<i>H. pylori</i>	Ajo	22
Fresco	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	14	Fresco	<i>H. pylori</i>	Ajo	12
Fresco	<i>H. pylori</i>	Hierbamora	10	Fresco	<i>H. pylori</i>	Ajo	18
Fresco	<i>H. pylori</i>	Ají	10	Fresco	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10
Fresco	<i>H. pylori</i>	Ají	14	Fresco	<i>H. pylori</i>	Caléndula	8
Fresco	<i>H. pylori</i>	Ají	14	Fresco	<i>H. pylori</i>	Caléndula	12
Fresco	<i>H. pylori</i>	Ají	10	Fresco	<i>H. pylori</i>	Caléndula	8
Fresco	<i>H. pylori</i>	Ají	8	Fresco	<i>H. pylori</i>	Caléndula	12
Fresco	<i>H. pylori</i>	Ají	10	Fresco	<i>H. pylori</i>	Caléndula	12
Fresco	<i>H. pylori</i>	Ají	8	Fresco	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10
Fresco	<i>H. pylori</i>	Ají	10	Fresco	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10
Fresco	<i>H. pylori</i>	Ají	8	Fresco	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10
Fresco	<i>H. pylori</i>	Ají	12	Fresco	<i>H. pylori</i>	Caléndula	10
Fresco	<i>H. pylori</i>	Llantén	10	Testigo	<i>H. pylori</i>	Agua	6
Fresco	<i>H. pylori</i>	Llantén	6	Testigo	<i>H. pylori</i>	Agua	6
Fresco	<i>H. pylori</i>	Llantén	10	Testigo	<i>H. pylori</i>	Agua	6
Fresco	<i>H. pylori</i>	Llantén	6	Testigo	<i>H. pylori</i>	Agua	6
Fresco	<i>H. pylori</i>	Llantén	12	Testigo	<i>H. pylori</i>	Agua	6
Fresco	<i>H. pylori</i>	Llantén	6	Testigo	<i>H. pylori</i>	Agua	6
Fresco	<i>H. pylori</i>	Llantén	6	Testigo	<i>H. pylori</i>	Agua	6
Fresco	<i>H. pylori</i>	Llantén	8	Testigo	<i>H. pylori</i>	Agua	6
Fresco	<i>H. pylori</i>	Llantén	12	Testigo	<i>H. pylori</i>	Agua	6
Fresco	<i>H. pylori</i>	Llantén	6	Testigo	<i>H. pylori</i>	Agua	6
Etéreo	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Ajo	12
Etéreo	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Ajo	12
Etéreo	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Ajo	6
Etéreo	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Hierbamora	8	Etéreo	<i>E. coli</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Ajo	8

Etéreo	<i>E. coli</i>	Hierbamora	8	Etéreo	<i>E. coli</i>	Ajo	10
Etéreo	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Ajo	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Ají	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Etéreo	<i>E. coli</i>	Ají	8	Etéreo	<i>E. coli</i>	Caléndula	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Ají	8	Etéreo	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Etéreo	<i>E. coli</i>	Ají	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Caléndula	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Ají	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Etéreo	<i>E. coli</i>	Ají	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Etéreo	<i>E. coli</i>	Ají	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Etéreo	<i>E. coli</i>	Ají	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Etéreo	<i>E. coli</i>	Ají	6	Etéreo	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Etéreo	<i>E. coli</i>	Ají	8	Etéreo	<i>E. coli</i>	Caléndula	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Hierbamora	10
Etéreo	<i>E. coli</i>	Llantén	8	Acuoso	<i>E. coli</i>	Hierbamora	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Hierbamora	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Llantén	10	Acuoso	<i>E. coli</i>	Hierbamora	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Hierbamora	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Hierbamora	10
Etéreo	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Hierbamora	10
Etéreo	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Hierbamora	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Hierbamora	8
Etéreo	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Hierbamora	10
Acuoso	<i>E. coli</i>	Ajo	10	Acuoso	<i>E. coli</i>	Ají	10
Acuoso	<i>E. coli</i>	Ajo	12	Acuoso	<i>E. coli</i>	Ají	12
Acuoso	<i>E. coli</i>	Ajo	8	Acuoso	<i>E. coli</i>	Ají	10
Acuoso	<i>E. coli</i>	Ajo	10	Acuoso	<i>E. coli</i>	Ají	12

TRATAMIENTO	BACTERIA	EXTRACTO	HALO(mm)	TRATAMIENTO	BACTERIA	EXTRACTO	HALO(mm)
Acuoso	<i>E. coli</i>	Ajo	10	Acuoso	<i>E. coli</i>	Ají	8
Acuoso	<i>E. coli</i>	Ajo	10	Acuoso	<i>E. coli</i>	Ají	8
Acuoso	<i>E. coli</i>	Ajo	12	Acuoso	<i>E. coli</i>	Ají	8
Acuoso	<i>E. coli</i>	Ajo	14	Acuoso	<i>E. coli</i>	Ají	8
Acuoso	<i>E. coli</i>	Ajo	10	Acuoso	<i>E. coli</i>	Ají	10
Acuoso	<i>E. coli</i>	Ajo	12	Acuoso	<i>E. coli</i>	Ají	10
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	8	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	8
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	8	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	8
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	6	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	8	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	6
Acuoso	<i>E. coli</i>	Caléndula	8	Acuoso	<i>E. coli</i>	Llantén	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Ajo	14
Fresco	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Ajo	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Ajo	12
Fresco	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Ajo	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Ajo	8
Fresco	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Ajo	14
Fresco	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Ajo	14
Fresco	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Ajo	12
Fresco	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Ajo	22
Fresco	<i>E. coli</i>	Hierbamora	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Ajo	12

Fresco	<i>E. coli</i>	Ají	8	Fresco	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Ají	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Ají	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Caléndula	8
Fresco	<i>E. coli</i>	Ají	8	Fresco	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Ají	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Caléndula	8
Fresco	<i>E. coli</i>	Ají	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Ají	8	Fresco	<i>E. coli</i>	Caléndula	10
Fresco	<i>E. coli</i>	Ají	10	Fresco	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Ají	10	Fresco	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Ají	6	Fresco	<i>E. coli</i>	Caléndula	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Testigo	<i>E. coli</i>	Agua	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Testigo	<i>E. coli</i>	Agua	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Testigo	<i>E. coli</i>	Agua	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Testigo	<i>E. coli</i>	Agua	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Testigo	<i>E. coli</i>	Agua	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Testigo	<i>E. coli</i>	Agua	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Testigo	<i>E. coli</i>	Agua	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Testigo	<i>E. coli</i>	Agua	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Testigo	<i>E. coli</i>	Agua	6
Fresco	<i>E. coli</i>	Llantén	6	Testigo	<i>E. coli</i>	Agua	6