



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO



FACULTAD DE QUIMICOFARMACOBIOLOGIA

“ANALISIS DE LA ACTIVIDAD ANTI-BACTERIANA *In vitro* DE EXTRACTOS DE BERRO (*Nasturtium officinale*)”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICOFARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

GERARDO MADRIGAL MURILLO

Doctora en Ciencias Fisiológicas
BERTHA FENTON NAVARRO

MORELIA, MICHOACÁN, ENERO 2015.

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de Glicobiología de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo; bajo la dirección de la D.C. Bertha Fenton Navarro.

Parcialmente apoyado por CIC-UMSNH 16.2-2013, 2014

COMITÉ TUTORAL

MC. Blanca Nateras Marín

MC. Manuel López Rodríguez

QFB. Alma Rosa García Ríos

DC. Ma.de los Dolores López Calvillo

QFB. Armando Ordaz Rodríguez

AGRADECIMIENTOS

Primeramente quiero agradecerle a dios por darme vida, por ponerme en el camino de una hermosa familia, por darme las herramientas para hacer lo que hago y lo que soy, porque gracias a él estoy rodeado de gente maravillosa y por permitirme cumplir este objetivo de muchos más en mi vida.

Agradezco enormemente a mi familia por ser un apoyo incondicional y porque sin ellos no sería lo que soy, A mis padres Gerardo Madrigal Zamora y Gina Catalina Murillo Aguila porque siempre han sido mis instructores de vida y por ende, mi motivación, permitiéndome hacer lo que siempre me ha gustado apoyándome al 100% y nunca decirme un no, sí no mas bien, adelante, Agradezco a mis hermanos porque siempre han estado en el momento indicado cuando los he necesitado, también a mis sobrinos, primos, tíos, abuelos y amigos porque son una parte importante de mi y porque sin ellos mi vida no sería lo que es.

Agradezco a mi esposa Marlene Westfalia Mier Garcia porque en el transcurso de mi carrera profesional siempre ha sido un apoyo incondicional, además de ser siempre mi consejera, mi amiga y mi mayor motivación, estando siempre en las buenas y en las malas.

Agradezco a mi directora de tesis la D.C Bertha Fenton Navarro, por darme la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo, porque en esta investigación fue un pilar importante ya que sus enseñanzas, dedicación, consejos y apoyo ocasionaron resultados satisfactorios completando mi formación.

Agradezco a mis sinodales, por haber aceptado ser jueces y parte de este trabajo, por todas sus recomendaciones, mismas que fueron parte muy importante en mi formación.

Agradezco a mis compañeros de laboratorio porque gracias ellos los momentos difíciles se convertían en horas más amenas además de sus buenos consejos y motivaciones.

INDICE GENERAL

Contenido	
COMITÉ TUTORAL	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
INDICE DE TABLAS	xi
INDICE DE ABREVIATURAS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
ABSTRACT	xvi
I.-INTRODUCCION	17
1. Principales Enfermedades en México	17
1.1 Enfermedades Gastrointestinales	18
1.2 Fármacos y efectos secundarios.....	20
1.3 Restricción económica en población de bajos y muy bajos recursos	23
1.4 Terapias alternas	24
2. Uso de Plantas Medicinales.....	24
2.1 Fitoterapias	26
2.2 Principios activos en plantas medicinales.....	27
2.2.1 Péptidos antimicrobianos	28
2.2.2 Pigmentos con actividad antibacteriana.	30
3. Berro.....	33
3.1 Descripción de la planta.....	34
3.2 Clasificación Taxonómica	35
3.3 Propiedades Farmacológicas reportadas	35
4. Contaminación en sistemas de riego.....	36
II JUSTIFICACION	39
III HIPOTESIS.....	41
IV OBJETIVO GENERAL	41
V OBJETIVOS PARTICULARES.....	41
VI MATERIAL Y METODOS	41
MÉTODOS.	42
VI RESULTADOS.....	48

VIII CONCLUSION.....	100
IX PERSPECTIVAS	101
X REFERENCIAS.....	102

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Sitios de acción de los medicamentos.	32
Figura 2	Berro. A) <i>Nasturtium officinale</i> con todos sus componentes; B) Flores de <i>N. officinale</i> ; C) hojas de <i>N. officinale</i> ; D) Tallo y raíz de <i>N. officinale</i> .	33
Figura 3	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar McConkey; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	49
Figura 4	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar McConkey; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	49
Figura 5	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar McConkey; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	50
Figura 6	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar Sal y Manitol; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	50
Figura 7	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar Sal y Manitol; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	51
Figura 8	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar Sangre; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	51
Figura 9	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar SS; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	52
Figura 10	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar Sangre; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	53

Figura 11	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar Sangre; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	53
Figura 12	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar SS; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	54
Figura 13	(a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar SS; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram	55
Figura 14	(a) Siembra masiva del extracto crudo de berro de mercado; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano	56
Figura 15	(a) Siembra masiva del extracto crudo de berro del supermercado; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano	56
Figura 16	(a) Crecimiento bacteriano del extracto crudo de berro de mercado tratado con desinfectante comercial; (b) Crecimiento bacteriano del extracto crudo de berro de supermercado tratado con desinfectante comercial; (c) Crecimiento bacteriano del extracto crudo de berro de mercado tratado con cloro; (c) Crecimiento bacteriano del extracto crudo de berro de supermercado tratado con tratada con cloro	58
Figura 17	(a) Siembra masiva del extracto crudo de berro del mercado tratado con desinfectante comercial; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano	59
Figura 18	(a) Siembra masiva del extracto crudo de berro del supermercado tratado con desinfectante comercial; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano	59
Figura 19	(a) Siembra masiva del extracto crudo de berro del mercado tratado con cloro; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano	60

Figura 20	(a) Siembra masiva del extracto crudo de berro del supermercado tratado con cloro; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano	60
Figura 21	Antibiograma del extracto crudo de berro contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	63
Figura 22	Antibiograma del extracto crudo de berro contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	64
Figura 23	Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra <i>Escherichia coli enterotoxigenica</i> S/N	67
Figura 24	Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	68
Figura 25	Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 27543	69
Figura 26	Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra <i>Shigella sonnei</i> S/N	70
Figura 27	Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	71
Figura 28	Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	72
Figura 29	Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	73
Figura 30	Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	74
Figura 31	Actividad antibacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	76
Figura 32	Antibacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	77
Figura 33	Actividad antibacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro contra <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	78

Figura 34	Actividad antibacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro contra <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	79
Figura 35	Actividad antibacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro contra <i>Pseudomonas eruginosa</i> ATCC 27853	80

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Antibióticos antibacterianos, objetivos, vías y reacciones adversas	21
Tabla 2	Clasificación científica del Berro (<i>Nasturtium officinale</i>)	35
Tabla 3	Aporte nutricional de la planta de Berro	35
Tabla 4	Crecimiento de extractos de berro obtenidos de dos diferentes lugares	57
Tabla 5	Inhibición de crecimiento de extractos de berro tratados con desinfectante comercial y cloro.	61
Tabla 6	Cepas ATCC utilizadas en los antibiogramas y medicamentos	62
Tabla 7	Concentración inhibitoria mínima (CIM) del extracto crudo de berro contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	63
Tabla 8	Concentración inhibitoria mínima (CIM) del extracto crudo de Berro contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	64
Tabla 9	Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de antibióticos y del extracto crudo de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra las distintas bacterias	65
Tabla 10	Concentración inhibitoria mínima de la fracción sin pigmentos de berro de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra las distintas bacterias	66
Tabla 11	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa ETEC S/N.	67
Tabla 12	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	68
Tabla 13	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 27543	69
Tabla 14	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa <i>Shigella sonnei</i> S/N	70
Tabla 15	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	71
Tabla 16	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	72
Tabla 17	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	73

Tabla 18	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	74
Tabla 19	Resultados generales de la actividad antibacteriana de pigmentos acetónicos de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra las distintas bacterias	75
Tabla 20	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos alcohólicos contra la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	76
Tabla 21	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos alcohólicos contra la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	77
Tabla 22	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos alcohólicos contra la cepa <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	78
Tabla 23	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos alcohólicos contra la cepa <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644.	79
Tabla 24	Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos alcohólicos contra la cepa <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	80
Tabla 25	Resultados generales de la inhibición bacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra todas las distintas bacterias	81
Tabla 26	Concentración bactericida mínima (CBM) del extracto crudo de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	83
Tabla 27	Concentración bactericida mínima (CBM) del extracto crudo de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922	84
Tabla 28	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>ETEC</i> S/N.	84
Tabla 29	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	85
Tabla 30	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Escherichia coli</i> ATCC 27543	85
Tabla 31	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Shigella sonnei</i> S/N.	86
Tabla 32	Concentración bactericida mínima (CBM) del de los pigmentos acetónicos de berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	86
Tabla 33	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (<i>Nasturtium officinale</i>)	87

	contra <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14879	
Tabla 34	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	87
Tabla 35	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	88
Tabla 36	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos alcohólicos de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	88
Tabla 37	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos alcohólicos de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	89
Tabla 38	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos alcohólicos de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.	89
Tabla 39	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos alcohólicos de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	90
Tabla 40	Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos alcohólicos de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) contra <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	90

INDICE DE ABREVIATURAS

°C	Grados centígrados.
μl	Microlitros.
ATCC	American Type Culture Collection.
CBM	Concentración Bactericida Mínima.
CIM	Concentración Inhibitoria Mínima.
Cm	Centímetro.
CNA	Comisión Nacional del Agua.
CO ₂	Dióxido de carbono.
CONEVAL	Consejo Nacional de Evaluación de la Política del Desarrollo.
Da	Dalton.
DNA	Acido Desoxirribonucleico.
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
FDA	Food and Drug Administration.
g	Gramos.
HBD	Defensinas Humanas beta (Human Beta Defensin).
HNP	Péptido de neutrófilo humano (Human Neutrophil Peptide).
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social.
INMUJERES	Instituto Nacional de las Mujeres.
ISEM	Instituto de Salud del Estado de México.
ISSSTE	Instituto de Seguridad y Servicio Social de los Trabajadores del Estado.
MAYTAC	Medicina Alternativa y Terapias Alternativas y Complementarias.
mg	Miligramos.
ml	Mililitros.
mM	Milimolar.
mm	Milímetros.
OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
PEMEX	Petróleos Mexicanos.
PM	Peso molecular.
PNS	Programa Nacional de Salud.
RNA	ÁcidoRibonucleico.
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno.
rpm	Revoluciones por minuto.
RTD	Defensina de Rhesus Tetha (Rhesus Tetha Defensin).
SAGARPA	Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
SEDESOL	Secretaría de Desarrollo Social.
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad, inocuidad y Calidad Agroalimentaria.
SSA	Secretaria de Salud.
TCA	Ciclo del ácido tricarboxílico.
tRNA	Ácido Ribonucleico Transferente.
UNIFEM	Fondo de Desarrollo de las Naciones Unidas para la Mujer.
VIH	Virus de Inmunodeficiencia Humana.

RESUMEN

El berro (*Nasturtium officinale*) es una planta que se utiliza en la medicina tradicional para distintas enfermedades como son enfermedades de las vías respiratorias altas, dolores menstruales, hipoglucemiante y antimicrobiano. En este trabajo se evaluó por primera vez la actividad antibacteriana de los extractos acuosos, fracción sin pigmentos, pigmentos acetónicos y alcohólicos de las hojas de Berro, contra bacterias ATCC. Se analizó la capacidad antimicrobiana de los desinfectantes más utilizados, uno a base de plata ionizada y cloro donde por medio de un cultivo y tinción de Gram observamos que el cloro es más eficiente para eliminar microorganismos.

Empleando la técnica de difusión en disco, se encontró que la concentración inhibitoria mínima (CIM) del extracto acuoso para *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 27543 fue de 0.1425 mg/ml. La fracción sin pigmentos no presentó efecto inhibitorio contra las bacterias analizadas. Los pigmentos acetónicos presentaron inhibición contra *ETEC* S/N, *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923 con una CIM de 1 mg/ml, mientras que para *E. coli* ATCC 27543, *S. sonnei* S/N, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. cereus* ATCC 14579 y *S. aureus* ATCC 25743 presentaron una CIM de 0.5 mg/ml. Los pigmentos alcohólicos tuvieron una CIM de 1 mg/ml contra *S. aureus* ATCC 25923 y *S. aureus* ATCC 27543, *B. cereus* ATCC 14579, *L. monocytogenes* ATCC 7644 y *P. aeruginosa* ATCC 27853 con una CIM de 0.5 mg/ml.

También se analizó la capacidad bactericida y bacteriostática, de los diferentes extractos donde se observó que estos presentan la capacidad bactericida contra todas las bacterias con excepción de *P. aeruginosa* ATCC 27859 y *B. cereus* ATCC 14579. En estas dos últimas se observó una actividad bacteriostática.

Palabras claves: Berro, *Nasturtium officinale*, Bacterias, bacteriostático, bactericida, antimicrobiano.

ABSTRACT

Watercress (*Nasturtium officinale*) is a plant used in traditional medicine for various diseases such as upper respiratory tract infections, menstrual cramps, as hypoglycemic and also as an antimicrobial remedy.

In this bachelor thesis the antibacterial activity of different extracts was evaluated for the first time.

The extracts included: aqueous, fraction without pigments and pigments from the acetone and alcoholic extractions. Also the efficiency of two disinfectants was analyzed. One based on ionized silver and the other one was chlorine. The efficiency was proven through bacterial culture and Gram staining, chlorine is more efficient to eliminate microorganism present in the watercress.

Using the disk diffusion technique, the minimum inhibitory concentration (MIC) of aqueous extract for *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 27543 was of 0.1425 mg/ml. The fraction without pigments did not show inhibitory effect against the bacteria analyzed. The acetone pigments exhibited inhibition against ETEC S/N, *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923 with a MIC of a 1 mg/ml, while for *E. coli* ATCC 27543, *S. sonnei* S/N, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. cereus* ATCC 14579 and *S. aureus* ATCC 25743 had a MIC of 0.5 mg/ml. Alcoholic pigments had an MIC of 1 mg/ml against *S. aureus* ATCC 25923 and *S. aureus* ATCC 27543, *B. cereus* ATCC 14579, *L. monocytogenes* ATCC 7644 and *P. aeruginosa* ATCC 27853 with a MIC of 0.5 mg/ml.

Bactericidal and bacteriostatic capacity of different extracts were analyzed, it was observed that these contain the bactericidal against all bacteria except *P. aeruginosa* ATCC 27859 and *B. cereus* ATCC 14579 were a bacteriostatic activity was observed.

Keywords: Watercress, *Nasturtium officinale* bacteria, bacteriostatic, bactericidal antimicrobial.

I.-INTRODUCCION

1. Principales Enfermedades en México

En México los daños a la salud tienen una problemática muy seria y significativa, tanto de morbilidad como mortalidad, presentando una transición epidemiológica caracterizada por un predominio mayor de enfermedades no transmisibles y lesiones, el 11% se deben a lesiones accidentales e intencionales y 73% a padecimientos no transmisibles, como la diabetes, los problemas cardiovasculares, el cáncer y obesidad, las enfermedades del primer mundo como lo muestra el panorama epidemiológico estatal, así como otras enfermedades de tercer mundo representadas por infecciones respiratorias agudas, desnutrición y enfermedades gastrointestinales (I.S.E.M, 2006; P.N.S, 2007–2012).

En la actualidad la mortalidad en menores de 1 año ha ido disminuyendo más del 30%, hasta alcanzar cifras de 188 en 1000 niños menores de un año. Entre los factores asociados a la reducción de esta mortalidad destacan la mejor educación de las madres, la creciente disponibilidad intra-domiciliara del agua potable, altas tasas de vacunación, mejor nutrición, una mejor atención médica oportuna y de calidad, sobre todo a servicios que modifican el curso de las infecciones respiratorias y las diarreicas, teniendo en cuenta que los problemas de salud de este tipo son las brechas que existen entre los estados y áreas más desarrolladas y las zonas marginadas. En la etapa preescolar una vez pasando el primer año de vida, las tasas de mortalidad disminuyen de manera muy importante, las muertes que se presentan en las niñas y niños de 1 a 4 años de edad se deben sobre todo a infecciones, problemas de nutrición y lesiones. Alrededor de 24% de las muertes en este grupo de edad se deben a infecciones intestinales, infecciones respiratorias, nutrición deficiente y anemia, el 17% de los decesos se deben a lesiones accidentales (accidentes de tránsito, ahogamiento, caídas accidentales, intoxicación accidental, y exposición al fuego y humo) y homicidios. En la etapa escolar (5 a 14 años) la tasa de mortalidad general disminuyó todavía más (30.6

muertes por 100,000 habitantes) las muertes entre ellos se deben de manera muy importante a accidentes de tránsito, ahogamiento, homicidios, suicidios y caídas accidentales produciendo el 26% de muertes y siendo otra causa importante de defunción son las leucemias. En etapa de edad productiva (15 a 64 años) las principales causas de muerte en este periodo son la diabetes, las enfermedades crónicas del hígado, las enfermedades isquémicas del corazón, los accidentes y lesiones, así como ciertos tumores malignos (mama, cuello del útero, pulmón, estómago). Aquí hace aparición el VIH/SIDA como cuarta causa de defunción mayormente en hombres de 25 a 34 años. En adultos mayores después de los 65 años de edad la tasa de mortalidad se incrementa de manera importante (4,697 por 100,000 habitantes). En esta etapa las muertes se deben sobre todo a diabetes, enfermedades isquémicas del corazón, enfermedades cerebro-vascular, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedades hipertensivas y tumores. (INMUJERES / UNIFEM, 2000-2006; P.N.S, 2007–2012; I.S.E.M. 2006).

1.1 Enfermedades Gastrointestinales

Las enfermedades gastrointestinales en México ocupan uno de los primeros lugares como causa de morbilidad en población menor de cinco años de edad, generando el 20% de la demanda de consulta en los servicios de salud y el 10% de las hospitalizaciones pediátricas. Este grupo de edad presenta entre 2 y 4 episodios diarreicos al año. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) cada año, se producen unos dos mil millones de casos de diarrea en todo el mundo. Las enfermedades diarreicas son una causa principal de morbilidad, mortalidad y además un factor importante de desnutrición en la niñez; y por lo general son consecuencias de la exposición a alimentos o agua contaminados. En todo el mundo, alrededor de mil millones de personas carecen de acceso a fuentes de agua mejoradas y unos 2 500 millones no tienen acceso a instalaciones básicas de saneamiento. Los problemas gastrointestinales causados por agentes virales y bacterianos es frecuente en países en desarrollo, los niños menores de tres años padecen en promedio 3.3 episodios de diarrea al año, pero en algunas áreas el promedio sobrepasa los 9 episodios al año. La morbilidad con diarrea en

estos niños representan cerca de un 15% de sus días, cerca de un 80% de las muertes por diarrea ocurren en los menores de 2 años y del total de todas las defunciones, el 18% se relacionan a la diarrea con deshidratación (ENSANUT, 2012; Hernández Cortez *et al.*, 2011; SSA, 2012).

Las enfermedades gastrointestinales infecciosas son causada por bacterias (principalmente *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* y *Shigella sp.*), parásitos (*Giardia lamblia* y *amibas*), y virus (*Rotavirus* y *virus Norwalk*) al consumir alimentos y agua contaminados con material fecal. Las infecciones agudas de tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes, los cuadros gastrointestinales pueden presentarse en cualquier época de año, pero el riesgo de sufrir estas enfermedades se incrementa en la temporada de calor. Las manifestaciones clínicas más destacadas de la gastroenteritis son: fiebre, vómito, dolor abdominal y diarrea moderada o intensa. A pesar de que su mayor incidencia se presenta en personas de 20 a 40 años, los niños y personas de tercera edad son los que suelen sufrir sus efectos fulminantes, debido a la excesiva pérdida de electrolitos que aflige al cuerpo durante la enfermedad y que puede causar una deshidratación grave. En México, un estudio gubernamental realizado en el 2003 reportó 4,556 decesos causados por infecciones intestinales. En 2001, la Secretaría de Salud (SSA) informó que las enfermedades gastrointestinales, ocasionadas por bacterias o parásitos, ocupaban la decimocuarta causa de fallecimientos a nivel nacional, y que los estados con mayor incidencia eran: Chiapas, Coahuila, Jalisco, Michoacán, Guerrero y Oaxaca. De acuerdo con estadísticas del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), las infecciones como gastroenteritis, salmonelosis, tifoidea, cólera y rotavirus representan un severo problema de salud pública para nuestro país.

De acuerdo a la etiología que causa problemas gastrointestinales son las siguientes (Hernández Cortez *et al.*, 2011; SSA, 2012):

- Bacterianas: *Campylobacter jejuni*, *Cryptosporidium sp.*, *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET), *Escherichia coli* enteroinvasiva (ECEI), *Escherichia coli*

enteropatógena (ECEP), *Escherichia coli hemorragica* (ECEH), *Salmonellae sp*, *Shigellae sp*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolítica*.

- Virales: Adenovirus entéricos, Astrovirus, Calcivirus, Rotavirus, Virus Norwalk.
- Parasitarias: *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*.

1.2 Fármacos y efectos secundarios

Desde el descubrimiento de tratamientos de enfermedades infecciosas, ha sido el comienzo de una nueva etapa que revoluciono al mundo, desde que detectaron los efectos curativos del colorante rojo de prontosil en 1935. El descubrimiento de la penicilina realizado por Fleming en 1929 y Florey en 1940 respectivamente, hasta la actualidad. El conocimiento actual sobre los medicamentos, hace esperar que cada vez más los nuevos antimicrobianos sean sustancias puramente sintéticas con gran especificidad por un sitio de acción precisamente elegido y con una adecuada resistencia a la inactivación de resistencia antibiótica. Los antimicrobianos son moléculas naturales (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus y hongos. Los antibióticos constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferentes comportamientos farmacocinéticos y farmacodinámicos, ejerciendo una acción específica sobre algunas estructuras o función fisiológica del microorganismo, teniendo una elevada potencia biológica actuando en bajas concentraciones y con una toxicidad selectiva. Los agentes antimicrobianos se comportan de manera diversa:

a) Como bactericida: producen la muerte de los microorganismos responsables del proceso infeccioso.

b) Como bacteriostáticos: inhiben el crecimiento bacteriano aunque el microorganismo permanece viable, de forma que, una vez suspendido el antibiótico, puede recuperarse y volver a multiplicarse. La eliminación de las bacterias exige la acción de las defensas del organismo infectado.

Es importante mencionar que cualquier sustancia que es capaz de producir un efecto terapéutico también es capaz de producir efectos no deseados o adversos,

entendiendo como tal, cualquier efecto perjudicial que el fármaco ocasiona en el organismo y que esta reacción nociva se presenta con la dosis normalmente utilizada en el hombre, para tratamientos, profilaxis, diagnósticos de una enfermedad o para la modificación de funciones fisiológicas. (Kohanski *et al.*, 2010; Mediavilla *et al.*, 1997; Seija y Vignoli, 2008).

Tabla 1 Antibióticos antibacterianos, objetivos, vías y reacciones adversas. (Aristil, 2010; Kohanski *et al.*, 2010.)

Droga	Derivado	Gama de especies	Objetivo primario	Forma en que actúa	Reacciones adversas
Tipo de droga: Fluoroquinolonas					
Ácido nalidixico, Ciprofloxacino, Levofloxacino y Gemifloxacino.	Sintéticas	Especies aerobias Gram-negativos y Gram-positivos, algunas especies anaerobias Gram-negativas	Topoisomerasa II (DNA girasa), topoisomerasa IV	Replicación DNA, respuesta SOS, división celular, ciclo TCA, síntesis del grupo Fe-S, formación ROS y el desarrollo de respuesta del segundo componente redox	Alteraciones gástricas y hematológicas, cefalea, visión borrosa, erupción cutánea, náuseas, diarrea, colitis, dolor abdominal, somnolencia, fatiga y toxicidad de cartilago.
Tipo de droga: sulfonamidas					
Trimetoprim-sulfametoxazol.	Sintético	Especies aerobias Gram-positivas y Gram-negativas	Inhibidor de la síntesis del ácido tetrahidrofólico	Biosíntesis de nucleótidos y replicación de DNA	Erupción cutánea, náuseas, vómito, diarrea, anorexia, hepatitis, hipotensión y alteraciones hematológicas.
Tipo de droga: Rifamicinas					
Rifamicinas, rifampicina y rifapentina.	Natural y semisintética	Especies Gram-positivas y Gram-negativa y <i>M. tuberculosis</i>	DNA-dependiente y RNA polimerasa	Transcripción de RNA, replicación del DNA y respuesta SOS	Erupciones, cutáneas, fiebre, síndrome pseudo-gripal y trombocitopenia
Tipo de droga: Macrólidos					
Eritromicina y azitromicina	Natural y semisintético	Especies Gram-negativas y aerobias y anaerobias Gram-positivas	Ribosoma 50S	La traducción de proteínas (a través de la inhibición de las etapas de elongación y translocación) y agotamiento libre de t-RNA	Trastornos gastrointestinales, náuseas, vómito, diarrea, tromboflebitis, ictericia, reacciones alérgicas, cefalea, y dolor.

Droga	Derivado	Gama de especies	Objetivo primario	Forma en que actúa	Reacciones adversas
Tipo de droga: Aminoglucósidos					
Penicilinas, cefalosporinas y carbapénicos amoxicilina, ampicilinas, amikacina.	Naturales y semisintéticos	Especies Gram-negativas y aerobias y anaerobias Gram-positivas	Proteínas de unión a penicilina	Síntesis de la pared y división celular, actividad autolítica, respuesta SOS, ciclo TCA, síntesis clúster de Fe-S, formación ROS, y la respuesta del 2º componente redox.	Cefalea, depresión respiratoria, temblor, vértigo, ototoxicidad, nefrotoxicidad, diarrea, anafilaxia, urticaria, rinitis, edema, prurito, neutropenia y rx. Alérgicas.
Tipo de droga: Carvopenemas (Glicopéptidos y glicolipopéptidos)					
Vancomicina, teicoplanina	Natural y semisintético	Especies Gram-positivas	Unidades de peptidoglicano (terminal D-ala-D-ala dipéptido)	Síntesis de la pared celular, transglicosilación, transpeptidación y activación de la autolisis	Nauseas, vómito, diarrea, dolor, elevación de las enzimas hepáticas, convulsiones, síndrome de hombre rojo, hipotensión, taquicardia, nefrotoxicidad y ototoxicidad.
Tipo de droga: Lipopéptidos					
Daptomicina y polimixina B	Natural y semisintético	Especies Gram-positivas y Gram-negativas	Ribosoma 30S	La traducción de proteínas, ETC, respuesta SOS, ciclo TCA, síntesis clúster de Fe-S, formación ROS, y el desarrollo de la respuesta del segundo componente redox	Infección fúngica y del tracto urinario, candidiasis, anemia, hipertensión, hipotensión, ansiedad, insomnio, mareo, cefalea, dolor gastrointestinal y abdominal, vómitos, constipación, diarrea, hinchazón, distensión, exantema, prurito
Tipo de droga: Tetraciclinas					
Tetraciclina, doxiciclina y cloranfenicol.	Natural y semisintético	Especies Gram-negativas y aerobias Gram-positivas	Ribosoma 30S	La traducción de proteínas (a través de la inhibición de la aminoacil tRNA unión a ribosoma)	Reacción cutánea, fluorosis, anorexia, vómito, disfagia, prurito anal, síndrome del niño gris.

DNA: Ácido desoxirribonucleico, SOS: sistema de reparación de emergencia, ciclo de TCA: Ciclo del ácido tricarboxílico (ciclo de Krebs), Fe-S: Hierro- Azufre, ROS: Especies Reactivas de oxígeno, RNA: Ácido ribonucleico, ETC: Cadena de transporte de electrones.

1.3 Restricción económica en población de bajos y muy bajos recursos

En México, el derecho a la salud forma parte de los derechos sociales, el cual es reglamentado a través de la Ley General de Salud. Su observancia es general y establece que el derecho a la protección de la salud permita: alcanzar el bienestar físico y mental de los mexicanos, la protección y el acrecentamiento de los valores que coadyuvan a la creación, conservación y disfrute de condiciones de salud que contribuyan al desarrollo social, alargar y mejorar la calidad de vida. (www.coneval.gob.mx) Creando así diferentes instituciones gubernamentales como Seguro Popular, Seguro Social, Secretaría de Salud, etc. Las cuales puedan brindar cobertura de atención médica básica a toda la población mexicana. (OCDE). Sin embargo, en la actualidad se sufre de discriminación a personas de acuerdo a su posición social y la situación económica, los orígenes étnicos, la edad y el sexo, además de que muchas veces no se encuentran medicamentos para los diferentes tratamientos a infecciones y enfermedades ocasionando una problemática muy fuerte. (www.ohchr.org/Documents; fra.europa.eu/en/fra)

La carencia que más afectó a la población nacional fue la relacionada con el acceso a la seguridad social, pues 71.8 millones de personas (tres de cada cinco) presentaron esta privación. En segundo lugar, la carencia por acceso a la alimentación perjudicó a 27.4 millones, poco más de una quinta parte de la población nacional. En tercer lugar, poco más de una quinta parte de la población (25.3 millones) no tuvo acceso a los servicios de salud y el indicador de esta última que corresponde a la carencia por acceso a los servicios de salud. Puebla, Michoacán y Veracruz se colocan en los primeros lugares a nivel nacional de acuerdo con el porcentaje de personas con esta privación (29.6, 28.6 y 25.7 por ciento cada uno). Según el consejo nacional de evaluación de la política de desarrollo social se considera que una persona es carente por acceso a los servicios de salud cuando no está afiliada o inscrita a una institución de salud pública o privada o no cuenta con un seguro privado de gastos médicos. (CONEVAL, 2012)

1.4 Terapias alternas

Desde tiempos antiguos por medio de la tradición oral se transmitía el uso de ciertas plantas y alimentos con uso terapéutico, tales como para calmar calambres, insomnio o fiebre (Conway, 2011). Evolucionando a lo que ahora conocemos como terapia alternativa o bien medicina tradicional, se ha mantenido como la más económica y una fuente accesible de tratamiento en sistemas primarios de salud de las comunidades de escasos recursos, ya que alrededor del 80% de la población en países de desarrollo utiliza medicina tradicional, como se sabe la sociedad de bajos recursos no pueden pagar el alto costo de los productos farmacéuticos occidentales para el cuidado de la salud, además de que el uso de las plantas es más aceptable desde el punto de vista cultural y espiritual (Maroyi, 2013). Dado el amplio uso de hierbas medicinales en países en vías de desarrollo la OMS (Organización Mundial de la Salud) ha desarrollado monografías con conocimientos científicos de dichas plantas.(World Health Organization, 2007). Las cuales se han convertido en una opción tanto para la industria de medicamentos como para la alimentaria, ya que gran número de plantas aromáticas producen compuestos bioactivos que podrían emplearse tanto para preservar la salud como la producción de alimentos (Mesa *et al.*, 2000; Schuck *et al.*, 2001),

2. Uso de Plantas Medicinales.

La investigación de las plantas, así como la utilización de los recursos del medio ambiente bajo condiciones de racionalidad (mínimo costo y alto grado de satisfacción social), se han convertido en una premisa fundamental que debe ser considerada para orientar la incorporación sistemática de los conocimientos científicos y tecnológicos a las actividades económicas, sociales y culturales. No obstante, a pesar de la gran utilización de las plantas medicinales por la población, cada vez mayor, pocas de ellas han sido estudiadas siguiendo métodos científicos válidos y atendidos a las normas éticas definidas internacionalmente. Si bien el uso popular es un indicador importante, no es garantía la actividad terapéutica, existiendo, además, factores muy importantes como son las variaciones ecológicas, por las cuales una misma especie puede presentar concentraciones

diferentes de los mismos principios activos, debido a que el metabolismo secundario de los vegetales superiores es responsable de la síntesis de sustancias químicas, con poca acción, del propio vegetal, aunque orientadas por características genéticas de las plantas. La síntesis química de estas sustancias, es controlada por factores del ecosistema (luz, calor, temperatura, humedad y suelo), (Sharapin N. *et al* 2000; Ibáñez, 2002).

La utilización medicinal de las plantas tiene su origen desde el inicio de la historia del ser humano sobre la tierra que, en íntimo contacto con la naturaleza, se fue desarrollando con la imitación de las costumbres de otros animales y con la experiencia acumulada tras la ingesta accidental o voluntaria de algunas especies vegetales. (Cruz Suárez, 2007). Por ello, la importancia de las plantas medicinales se ha hecho más patente en la actualidad en los países en vías de desarrollo. En Pakistán se estima que un 80% de las personas dependen de éstas para curarse y un 40% en China. En países tecnológicamente avanzados como los Estados Unidos la población utiliza habitualmente también plantas medicinales para combatir ciertas dolencias y en Japón hay más demanda de plantas medicinales que de medicinas de patente (Magaña *et al.*, 2010). Por ello, mediante la práctica de la etnobotánica se relaciona de forma directa el ambiente y su aprovechamiento por grupos humanos, en busca de estrategias que conlleven al manejo sustentable de los recursos naturales, por lo tanto, la etnobotánica aporta en el conocimiento de la relación ecosistema-cultura, contribuyendo en el entendimiento y búsqueda de soluciones de la problemática ambiental. Según Muriel (2000), el ambiente es un sistema dinámico definido por las interacciones biológicas, sociales y culturales. De acuerdo con Ángel-Maya (1996), la problemática ambiental es el precio que el hombre tiene que pagar por su desarrollo tecnológico, es decir, es el complejo de relaciones entre el ecosistema y la cultura, la cual depende básicamente de las formas tecnológicas y culturales de adaptación del hombre (Rodríguez-Echeverry, 2010). El uso de plantas medicinales como medicina Alternativa y Terapias Alternativas y complementarias (MAYTAC) conforman un sistema médico y de terapias relacionadas, reconocido en muchos países del mundo, no solo por los legisladores y administradores del

sector salud, sino por los usuarios, porque se constituyen en una opción para la atención de sus necesidades de salud a un bajo costo (SENA, 2006).

2.1 Fitoterapias

La fitoterapia es la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para atenuar, o para curar un estado patológico. La vida vegetal se caracteriza por su ser autótrofo, lo que significa capacidad de las plantas para nutrirse a sí mismas; a partir de sustancias inorgánicas, del agua, CO₂ y el sol; esta herboristería es común en medicina popular basa su empleo en la experiencia tradicional o empírica transmitida por las culturas tradicionales. Cabe mencionar que el concepto de que la medicina herbal son seguras y libres de efectos secundarios, no siempre se da, ya que tienen cientos de compuestos de los cuales pueden ser algunos tóxicos (Shirwaikar, 2008). Por ello, la tendencia lógica nos conduce al rigor científico en la utilización de las plantas medicinales, de acuerdo a esto la fitoterapia pretende razonar y justificar el uso de las plantas medicinales en base al conocimiento científico derivado del estudio y de la experimentación clínica con sus principios activos, así sus fines terapéuticos equivaldrán a los de un medicamento de patente (Cruz Suárez, 2007). La Organización Mundial de la Salud no sólo reconoce la importancia de las terapias tradicionales y su alcance en el ámbito mundial, sino que incluso ha creado una Oficina de medicinas tradicionales, destacando que éstas siguen estando muy poco reglamentadas, en términos generales, en todos los países. Por esa razón es necesario que los consumidores dispongan de información contrastada que les permitan acceder a productos eficaces, seguros y de calidad. Precisamente, la OMS ha publicado el pasado año una serie de directrices destinadas a las autoridades sanitarias de los diferentes Estados, basadas en pruebas y experiencias realizadas en un centenar de países durante el año 2004, con el fin de que puedan preparar información fiable y adaptable a contextos específicos relativa al uso de las medicinas alternativas. (Papaver Rhoas. 2007).

2.2 Principios activos en plantas medicinales.

Como ya se describió anteriormente, el uso de las plantas medicinales ha sido desde el principio de la humanidad hasta la actualidad, estando siempre envuelta en una aureola de misterio y espejismo en muchos grupos sociales, utilizadas para solucionar problemas de salud en el ser humano, esto derivado de la existencia de propiedades terapéuticas, descubiertas mediante la práctica. (Puelles Gallo *et al.*, 2010) llamándole principios activos a las sustancias que se encuentran en las distintas partes y órganos de las plantas y que alteran o modifican el funcionamiento de órganos y sistemas del cuerpo humano y animal, de tal manera que la investigación científica descubrirá una variada gama de principios activos, de los cuales los más importantes desde el punto de vista de la salud, son los aceites esenciales, los alcaloides, los glucósidos o heterósidos, los mucílagos y gomas, los taninos, existiendo otros principios activos relevantes denominados nutrientes esenciales, como las vitaminas, minerales, aminoácidos, carbohidratos, fibras, ácidos orgánicos, lípidos y los antibióticos (López, 2012).

Las propiedades farmacológicas de las plantas se deben principalmente a que contienen metabolitos o compuestos secundarios, los cuales ejercen sus efectos una vez que han sido ingeridos o aplicados los contenidos en infusiones, cataplasma y otras preparaciones (Cortés, 2005). Los compuestos que se encuentran presentes en las plantas son agrupados en cuatro grupos principales: compuestos fenólicos (taninos, fitoestrógenos y cumarinas); toxinas nitrogenadas (alcaloides, glicósidos cianogenéticos, glucosinolatos, aminoácidos tóxicos, lectinas e inhibidores de las proteasas); terpenos (lactonas sesquiterpénicas, glicósidos cardíacos, saponinas); hidrocarburos poliacetilénicos y oxalatos (Mantecón *et al*, 1998).

Por lo anteriormente mencionado se creó la farmacognosia, que es la ciencia farmacéutica que se ocupa del estudio de las drogas y las sustancias medicamentosas de origen natural; bien sea vegetal, microbiano (hongos, bacterias) y animal. Es la ciencia encargada del estudio de las fuentes naturales de materia prima de interés farmacéutico, estudiando tanto sustancias con

propiedades terapéuticas como sustancias tóxicas, excipientes u otras sustancias de interés farmacéutico, aunque su uso sea básicamente tecnológico y no terapéutico (Osorio, 2009).

2.2.1 Péptidos antimicrobianos

Los organismos vivos son sistemas abiertos que se encuentran constantemente expuestos al ambiente, lo cual implica afrontar el riesgo constante de adquirir infecciones; para defenderse de este tipo de amenazas han desarrollado mecanismos de defensa que conforman el sistema inmune, clasificados de forma didáctica como los sistemas innato y adaptativo. Los péptidos antimicrobianos hacen parte de los efectores más importantes de la respuesta inmune innata. Generalmente, estos péptidos, o polipéptidos, contienen menos de 200 aminoácidos y son producidos por diferentes tipos de células, se expresan de forma constitutiva o inducible dependiendo del organismo y del tejido en el que estén presentes al momento de la infección, tienen un amplio espectro antimicrobiano y múltiples mecanismos de acción. La situación actual de resistencia de los microorganismos a los antibióticos convencionales ha llevado a la búsqueda de nuevas alternativas. Los péptidos antimicrobianos han surgido en los últimos 25 años como una familia de sustancias con gran potencial para uso clínico, debido a sus múltiples mecanismos de acción, amplio espectro de actividad y bajo potencial de resistencia. Estos péptidos antimicrobianos se han encontrado en casi todos los seres vivos, desde los procariotas, eucariotas, bacterias, como mamíferos, anfibios, insectos y plantas con una familia diversa de péptidos (Téllez y Castaño, 2010; Villarruel *et al.*, 2004).

Los péptidos antimicrobianos se agrupan en familias de acuerdo con su tamaño, su estructura y la organización de los aminoácidos. En humanos, están divididos en tres familias: defensinas, catelicidinas e histaminas. Existen dos características comunes en la mayoría de los péptidos antimicrobianos, sin importar su estructura o su tamaño. Primero, tienen carga positiva debido a la presencia de un gran número de aminoácidos básicos (en su mayoría lisina y arginina), y segundo,

aproximadamente 50% de los aminoácidos que los constituyen son hidrofóbicos (Rivas S. *et al.*, 2006)

Los péptidos antimicrobianos son un grupo único y diverso de moléculas, que está dividido en 4 subgrupos con base en su composición de aminoácidos y estructura (Castañeda C. *et al.*, 2009):

- 1er grupo. Contiene péptidos antimicrobianos aniónicos (por ejemplo con carga negativa a pH fisiológico), son péptidos muy pequeños, con un tamaño entre 721.6 - 823.8 Da. Éstos se encuentran en extractos surfactantes, fluidos de lavados bronquio-alveolares y células epiteliales del tracto respiratorio. Se producen en concentraciones milimolares (mM), requieren Zinc como cofactor para la actividad antimicrobiana y son activos contra bacterias Gram positivas y Gram negativas; son similares a los pro-péptidos neutralizadores de carga de zimógenos de mayor tamaño, presentan actividad antimicrobiana cuando se encuentran solos.
- 2º grupo. Está constituido por 290 péptidos catiónicos, tienen un tamaño de 40 aminoácidos (PM $\approx$ 4,000 Da) carecen de residuos de cisteína y algunas veces tienen una bisagra en el centro. En solución acuosa muchos de estos péptidos no tienen una estructura definida, pero en presencia de trifeniletanol, SDS, micelas, vesículas fosfolipídicas, liposomas o lípido A, toda la molécula o una parte de ésta adopta estructura de α -hélice. Sin embargo en soluciones 15 mM de bicarbonato o sulfitos, el péptido adopta una estructura helicoidal. Para el caso de buforina II y catelicidina la extensión de α -hélice correlaciona directamente con la actividad bactericida contra Gram positivos y Gram negativos; al incrementarse el contenido de α -hélice la actividad antimicrobiana se incrementa.
- 3er grupo. Formado por $\sim$ 44 péptidos catiónicos que son ricos en ciertos aminoácidos. Este grupo incluye a bactericinas y PR-39, los cuales son ricos en residuos de prolina (33- 49%) y arginina (13-33%), profenina que es rica en prolina (57%) y fenilalanina (19%) e indolicidina rica en triptófano. Estos péptidos carecen de residuos de cisteína y son lineales, aunque algunos pueden formar estructuras de giros extendidos.

- 4to grupo. Está formado por péptidos catiónicos y aniónicos, consta de 380 miembros, los cuales contienen residuos de cisteína, forman enlaces disulfuro y estructuras β -plegadas estables. Este grupo incluye protegrina de leucocitos porcinos, formada por 16 residuos de aminoácidos, incluyendo 4 cisteínas que forman dos puentes disulfuro intramoleculares, y una diversa familia de defensinas. En mamíferos se han identificado 55 alfa-defensinas, que incluyen los péptidos HNP 1-4 (por sus siglas en inglés Human Neutrophil Peptide) y criptidinas, que contienen de 29 a 35 aminoácidos incluyendo 6 cisteínas que forman 3 puentes disulfuro. También hay 90 beta-defensinas de humanos (HBD, del inglés Human Beta Defensin), que presentan de 36 a 42 aminoácidos y 6 cisteínas que estabilizan a la molécula con 3 puentes disulfuro. Además hay 54 defensinas de artrópodos, 58 de plantas y una defensina θ de Rhesus (RTD-1, del inglés Rhesus Tetha Defensin), que consta de un péptido de 18 aminoácidos que forma una molécula circular y se estabiliza por tres puentes disulfuro. Las θ -defensinas se identificaron en leucocitos de macacos Rhesus y se originan por un proceso de «splicing» y ciclización de dos segmentos peptídicos de 9 aminoácidos precursores de las α -defensinas.(Castañeda C. *et al.*, 2009).

2.2.2 Pigmentos con actividad antibacteriana.

Un pigmento es cualquier sustancia que absorbe luz. El color de un pigmento es el resultado de la longitud de onda reflejada (no absorbida). La clorofila, el pigmento verde de todas las células fotosintéticas, absorbe todas las longitudes de onda, excepto el verde, el cual es reflejado y percibido por nuestros ojos. Los pigmentos son sustancias químicas que imparten color a otros materiales por el efecto óptico de la refracción de la luz del sol. Igualmente, puede ser definido como una sustancia en polvo que cuando se mezcla con un vehículo líquido imparte color a una superficie (Wani *et al*, 2004). La importancia de los pigmentos radica en que éstos pueden ser de utilidad industrial y alimentaria, como aditivo e intensificador de color y la farmacéutica (en los cosméticos). Se ha investigado una forma alternativa de producir pigmentos de origen natural, las fuentes pueden ser de plantas y microorganismos (Durán *et al*, 2002).

Los pigmentos de los cloroplastos se pueden clasificar en dos grupos principales: las clorofilas y los carotenoides. Las clorofilas son los pigmentos verdes del cloroplasto y son las más importantes de las plantas. En la actualidad se pueden distinguir por lo menos ocho tipos de clorofilas: las clorofilas a, b, c, d, y e, la bacterioclorofila a, bacterioclorofila b, y clorofila de clorobio (bacterioviridina). Las clorofilas a y b son las mejor conocidas y las más abundantes. La clorofila a se encuentra en todos los organismos fotosintéticos (plantas, ciertos protistas y cianobacterias). La clorofila b, está presente en todas las plantas verdes (algas verdes, euglenophytas y plantas superiores). Los carotenoides son el segundo grupo y son compuestos lipídicos que se encuentran ampliamente distribuidos tanto en animales como en plantas y presentan colores que varían desde el, amarillo hasta el púrpura. Los carotenoides hidrogenados (es decir, exclusivamente formados por carbono e hidrógeno) se llaman carotenos y aquellos que contienen oxígeno reciben el nombre de xantofilas. (Dawes, 1989; Jensen y Salisbury, 1988; Melgarejo L: *et al.*, 2010)

La información sobre tintes naturales (pigmentos) y las publicaciones sobre esta actividad biológica son escasas. No obstante, empieza a haber bibliografía sobre el efecto de los pigmentos vegetales en el control del colesterol. Los pigmentos vegetales fenólicos como la antocianina, que a su vez son también flavonoides, son capaces de constituir formas complejas con iones metálicos. Poseen propiedades antioxidantes y la capacidad de adherirse a macromoléculas como las proteínas y los polisacáridos. Los pigmentos vegetales carotenoides son precursores de la vitamina A. Desempeñan diversas funciones en el organismo, como la protección de la piel y la mucosa, provocando un papel fundamental en el mecanismo de visión y el aumento de la comunicación en el hiato aniónico, la estimulación del sistema inmunológico y la actividad antioxidante, también son importantes para los órganos reproductores, además de que se han registrado propiedades fisiológicas en el organismo. (Toledo de Oliveira *et al.*, 2004)

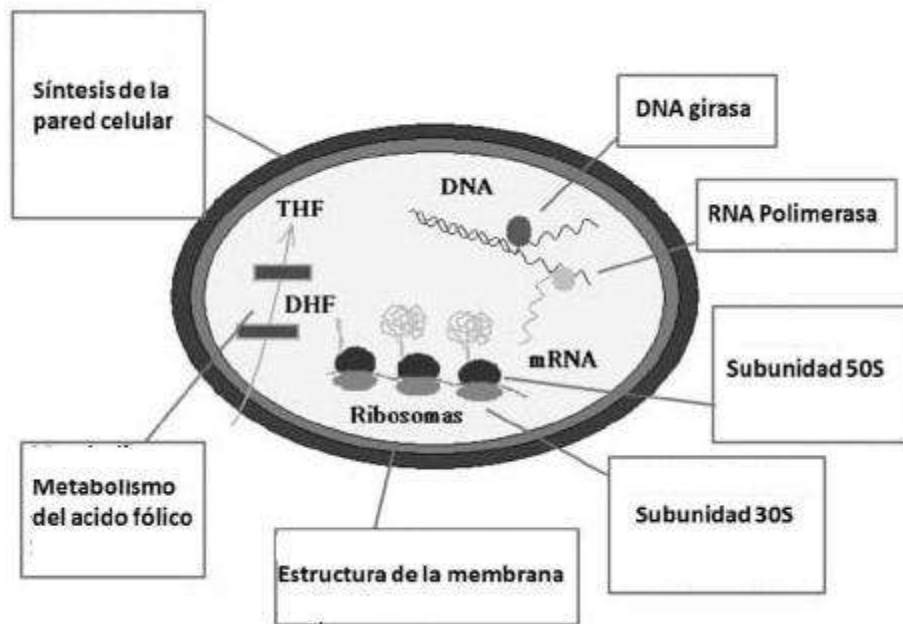


Figura 1. Sitios de acción de los medicamentos. (Tafur J. 2008)

Existen diferentes mecanismos de acción para combatir a las bacterias causantes de enfermedades infecciosas como se muestra en la figura 1, las cuales se describen a continuación:

- 1.- Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana afectando a la formación del polímero peptidoglucano que conforma la estructura de la pared bacteriana.
- 2.- Inhibición de la síntesis de proteínas a nivel ribosomal, actuando sobre la subunidad 30S y la subunidad 50S
- 3.- Afectando al metabolismo de los ácidos nucleicos.
- 4.-Antagonizando los pasos metabolizando la síntesis de ácido fólico.
- 5.- Actuando directamente sobre la membrana celular del microorganismo, uniéndose a la pared celular (Aristil, 2010, Tafur J. 2008).

El mecanismo de acción de los pigmentos vegetales fenólicos como las antocianinas, que a su vez son flavonoides pueden ser de dos formas diferentes, la primera sería actuando en la inhibición de la síntesis de la pared bacteriana

afectando a la formación del polímero peptidoglucano (número uno de la lista anterior), que conforma la estructura de la pared bacteriana o bien de la segunda manera, actuando directamente sobre la membrana celular del microorganismo, uniéndose a la pared celular (número cinco de la lista anterior), por la razón de que poseen propiedades como es la capacidad de adherirse a macromoléculas como las proteínas y los polisacáridos. (Aristil, 2010, Tafur J. 2008).

3. Berro

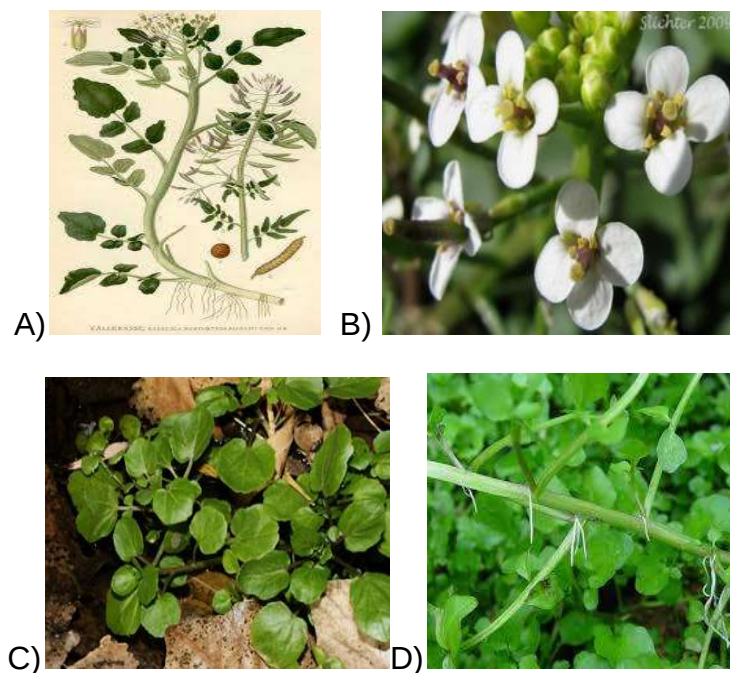


Figura 2 Berro. A) *Nasturtium officinale* con todos sus componentes (es.wikipedia.org/wiki); B) Flores de *N. officinale* (wisplants.uwsp.edu); C) hojas de *N. officinale* (www.fireflyforest.com/flowers); D) Tallo y raíz de *N. officinale* (gobotany.newenglandwild.org).

Nasturtium officinale, comúnmente llamado berro, berro de agua o mastuerzo de agua, es una planta común en arroyos, torrentes de aguas claras y pantanos, originaria de Europa y Asia Central. Se considera uno de los vegetales más antiguos consumidos por el ser humano. Actualmente se ha extendido por todo el

mundo por ser una planta de consumo doméstico muy apreciada en ensaladas. Se ha convertido en una especie invasora en la región de los Grandes Lagos, donde fue localizada por primera vez en 1847. (http://es.wikipedia.org/wiki/Nasturtium_officinale; <http://conabio.inaturalist.org/taxa>)

3.1 Descripción de la planta

Nasturtium officinale es una hierba perenne (Figura 2). Por lo general se encuentra en grumos en climas húmedos y fríos, donde fluye agua dulce suavemente poco profunda. En invierno se emerge a través del agua que no se congela. Las hojas de esta planta son de sabor fuerte (pimienta), lo que lleva para su uso comercial en ensaladas en muchos países del mundo. Las hojas la planta son de entre 4 y 12 cm de largo, siendo una planta herbácea grande y el área que cubren es grande, este tamaño varía de acuerdo al lugar de procedencia, tiene de 10 a 60 cm de altura en su tallo con raíces delgadas y fibrosas en la parte inferior. En la parte superior de los tallos sus flores son de 3-5 mm de largo y tienen 4 pétalos blancos. Ellos se encuentran por encima del agua, sus frutos son de 10 a 25 mm de largo y 2 mm de ancho y se encuentra en los tallos que son de 8 a 12 mm de largo. Son delgadas, ligeramente curvadas, cilíndricas y contiene 4 filas de pequeñas y redondas semillas. Las hojas más viejas suelen tener una forma ondulada, ovalada o en forma de lanza. Esta planta se produce desde principios a finales de la primavera, la planta comienza a florecer y sus frutos maduran sobre 2 meses después de las primeras flores. Después de los frutos despojan semillas mientras que otras no germinan, si no que permanecen latentes hasta la primavera siguiente, sus necesidades son las mismas que cualquier otra planta para la fotosíntesis. Si bien obtiene como nutrientes al nitrato del agua y hierro del sustrato del suelo (Barker, 2009).

3.2 Clasificación Taxonómica.

Tabla 2. Clasificación científica del Berro (*Nasturtium officinale*).
(http://es.wikipedia.org/wiki/Nasturtium_officinale)

Clasificación	
Nombre común	Berro
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Brassicales
Familia	Brassicaceae
Tribu	Cardamineae
Género	<i>Nasturtium</i>
Especie	<i>officinale</i>

3.3 Propiedades Farmacológicas reportadas

Tabla 3. Aporte nutricional de la planta de Berro (*Nasturtium officinale*).
(<http://saludybuenosalimentos.es/alimentos>)

Aporte Nutricional 100 gr.					
Energía 20.20 kcal	Potasio 276.00 mg	Vit. A 816.60 µg	Proteína 1.60 g	Fósforo 64.00 mg	Vit. B1 0.09 mg
Hidratos 2.03 g	Fibra 1.47 g	Vit. B2 0.17 mg	Agua 94.60 g	Grasa 0.30 g	Vit. B3 0.73 mg
Calcio 180.00 mg	Colesterol 0.00 mg	Vit. B6 0.23 mg	Hierro 3.10 mg	AGS 0.08 g	Vit. B9 214.00 mg
Yodo 12.00 µg	AGM 0.02 g	Vit. C 96.00 µg	Magnesio 34.00 mg	AGP 0.11 g	Zinc 0.70 mg
Carotenos 4.900 µg	Selenio 0.90 µg	Vit. E 1.46 µg	Sodio 12.00 mg		

El Berro se utiliza más como alimento que como medicina, pero este contiene principios activos muy importantes que a la planta le proporcionan propiedades medicinales destacadas (<http://www.botanical-online.com/medicinalsberro>) Sus principales componentes son glucosinolatos, vitaminas A, C, B y E; minerales

como sodio, yodo, hierro, fósforo y manganeso. Los glucosinolatos contribuyen al aroma y sabor de la planta y tienen un potencial como anticarcinogénico. La hidrólisis de estos compuestos origina productos con actividad biológica con potencial antioxidante (Navarro Cruz et al., 2008). Morgan (1997) y Silva (2001), reportaron que el berro (*Nasturtium officinale*), puede prevenir la caries dental, al comer las hojas crudas en ensalada, el berro se considera estimulante de los órganos digestivos, diuréticos y antihelmínticos; ser empleados para combatir el raquitismo, contra la atonía intestinal, la esrófula y escorbútics y trastornos broncopulmonares (Cruz Magalhães, 2005).

En la medicina tradicional suelen utilizar el berro (*Nasturtium officinale*) para contrarrestar males del aparato respiratorio, ya sea bronquitis, tos, resfriado, entre otros; también suele usarse para ayudar al metabolismo del organismo, como es la retención de líquidos, diabetes, obesidad, cálculos biliares o renales e hígado de manera interna y para curar herida en la piel, úlceras en la boca, gingivitis y calvicie de manera externa (<http://www.botanical-online.com/medicinalsberro>).

Además se ha reportado que los extractos acuoso en una concentración de 50g, acetónico, alcohólico y n-hexano con una concentración de 1000 µg/disco de esta planta, solo el extracto acuoso tuvo actividad contra bacterias como *S. aureus*, *B. subtilis* y *P. aeruginosa*, mientras que otros extractos no fueron efectivos (Penecilla y Magno 2011).

4. Contaminación en sistemas de riego.

Desde la década de los 80s, el comercio hortícola mundial ha crecido mayormente al resto del comercio agrícola aumentado de un 12.1% hasta por encima del 17%, (Maya. 2012). En la actualidad las ensaladas frescas constituyen un alimento esencial en la dieta de las personas que incluyen frutas y hortalizas, debido a los diferentes nutrientes que estas aportan, estos alimentos están compuestas en su mayoría por hortalizas como: cebolla, lechuga, tomate, zanahoria, pepino, berro (Avalos. 2009; Rivera, et al 2009.)

Las hortalizas precisan de unas condiciones ambientales adecuadas para realizar sus funciones vitales, la sociedad actual genera infinidad de desechos que pasan al medio ambiente e inciden de muchas maneras afectándolas por ello, es importante tratarlos desde que se les cultiva hasta que se les cosecha (<http://www.slideshare.net/fmedin1/>). El agua que requieren los cultivos es aportada en forma natural por las precipitaciones, ríos y lagos, pero cuando ésta es escasa o su distribución no coincide con los períodos de máxima demanda de las plantas, es necesario aportarla artificialmente, es decir a través del riego, que ocasiona un problema, ya que se utilizan aguas residuales o aguas negras para su riego, lo que promueve que las hortalizas sufran deterioro por la contaminación, que en muchos casos es también amenazada por la adulteración de los cursos fluviales o la salinización de las capas freáticas, provocando que las plantas utilizadas por los seres vivos estén contaminadas debido a la presencia de elementos o sustancias extrañas a la composición normal, la CNA (Comisión Nacional del Agua) maneja un porcentaje total entre el 70% y 75% el cual representa la suma del agua contaminada más la que no lo está, esta última representada por un 60% (Cisneros. 2003; Prieto J. 2004).

Por lo anterior los vegetales pueden jugar un papel importante en la transmisión de enfermedades de origen alimentario y constituyen un problema de salud pública importante, tanto en países desarrollados como en países en vías de desarrollo, son causa frecuente de mortalidad. Dentro de las bacterias causantes de enfermedades de origen alimentario se destacan el *Staphylococcus aureus* y *Clostridium botulinum* como agentes causantes de intoxicación, el *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens* como agentes causantes de toxiinfección, y diversos géneros causantes de infección, como la *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli*, bacterias descritas por la Organización Mundial de la Salud como "una nueva y significativa amenaza a la salud pública" favoreciendo a que se generen fuertes problemas de salud, productivos y económicos a la población (Arias E. 2000; Carpenter P. 1979; González F. T. et al 2006).

Por otra parte el agua, es un alimento esencial para los seres vivos, y ésta frecuentemente actúa como agente transmisor de microorganismos entéricos. Las aguas negras son la principal fuente de organismos patógenos debido al desembogue de los drenajes. Estas aguas se usan con frecuencia para el riego de cultivos de Hortalizas los cuales son consumidos por las personas. (Carpenter, P. 1979).

Algunos ejemplos de los microorganismos patógenos presentes en las aguas contaminadas y de origen entérico tales como: *Salmonella*: Bacilos (Gram negativos), *Shigella*: Bacilos (Gram negativos), *Vibrio cholerae*: bacilos (Gram negativos) y parásitos intestinales como: *Entamoeba histolytica*, *Aeromonas mesófilas*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium*: como *Schistosoma* y virus como la hepatitis, etc. (Apella, M. 2006).

Es importante hacer énfasis en el grupo de los microorganismos como las bacterias coliformes que corresponden a la flora normal del suelo, vegetación y agua. Estas pertenecen al grupo de las Enterobacterias las cuales tienen la capacidad de colonizar el interior de las plantas y desarrollarse como patógenos oportunistas. Este grupo de Enterobacterias posee resistencia a antibióticos y sobreviven por largo tiempo en el suelo. Los agentes bacterianos pueden ser *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter* y *Proteus* todos Bacilos (Gram negativos), siendo estos los más comunes encontrados en el interior de las plantas (Pérez, S. 2012).

También se puede encontrar otro grupo de bacterias que pueden contaminar las plantas por medio del suelo, aire y riego con aguas residuales, como son los enterococos, (cocos Gram positivos), estos se encargan de colonizar el aparato digestivo de los humanos y animales, de los más importantes encontramos a *E. faecalis* y *E. faecium*. Relativos a las heces y Bacillus: Bacilos Gram positivos presentes prácticamente en todos los ambientes, las personas de riesgo son las que consumen comida contaminada con la bacteria (por ejemplo vegetales), de los más comunes de estos microorganismos se encuentra *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis* (Murray, R. 2006; Pérez, S. 2012)

II JUSTIFICACION

El acceso a los servicios de salud es un elemento importante para mantener un nivel de vida adecuado, ya que la salud es la base necesaria para tener un buen funcionamiento físico y mental. Cuando las personas carecen de acceso a los servicios de salud de manera oportuna, el costo de la atención de una enfermedad o accidente puede afectar el patrimonio familiar o, también, su integridad física. De manera que se considera que se tiene carencia a acceso a los servicios de salud cuando no cuenta con acceso a servicios médicos ofrecidos por instituciones como el Seguro Popular, IMSS, ISSSTE federal o estatal, PEMEX, Ejército o Marina, así como a servicios médicos privados (SEDESOL, 2011). Ya que en México poco más de una quinta parte de la población no cuenta con acceso a los servicios de salud según el consejo nacional de evaluación de la política de desarrollo social (CONEVAL, 2012). Existe una necesidad por acudir a la medicina tradicional ya que ofrece una solución a los problemas relacionados con la salud.

Debido a las propiedades farmacológicas de las plantas medicinales se puede lograr una rápida solución del problema además de tener un menor costo y ser menos agresivas que la medicina convencional.

En ese sentido el interés por la investigación y comercialización de la flora medicinal se incrementa continuamente tanto por el aumento y la revitalización del consumo actual como por el patentado de extractos vegetales.

La vigencia del uso de las plantas medicinales en amplios sectores de la población de México, expresa la permanencia de esta práctica cultural y pone de manifiesto la revalorización del conocimiento tradicional al momento de solucionar los problemas de salud (Magaña et al., 2010).

En la literatura se encuentra reportado que el extracto hexánico de *N. officinale* era muy eficaz contra 3 diferentes bacterias patógenas como son *S. aureus*, *B. subtilis* y *P. aeruginosa*, mientras que otros extractos como el etanólico, acuoso y acetónico fueron efectivos (Penecilla y Magno. 2011).

También se ha reportado que al combinar el extracto acuoso y metanólico con un antibiótico estándar se provoca un sinergismo ya que encontraron que hay un aumento de la actividad antibacteriana del antibiótico contra diferentes especies

de *E. coli* por el método de concentración inhibitoria mínima del ensayo de difusión en disco (Saavedra *et al*, 2013).

En México se utiliza al berro principalmente en su consumo como ensaladas y como remedio para distintas dolencias, en particular infecciones provocadas por bacterias patógenas. No existen reportes de estudios realizados en nuestro país sobre la actividad antibacteriana de los extractos de berro. Por lo que en éste trabajo se plantea el análisis antibacteriano tanto del extracto acuoso de la fracción sin pigmentos y los pigmentos acetónicos y alcohólicos extraídos, debido al potencial de uso en la industria farmacéutica, medicina veterinaria y producción animal.

III HIPOTESIS

Los extractos de la planta del Berro (*Nasturtium officinale*) presentan actividad antibacteriana.

IV OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad anti-bacteriana de extractos de hojas de berro (*Nasturtium officinale*)

V OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar el grado de contaminación de muestras de extractos crudos de hojas de berro (*Nasturtium officinale*).
- Analizar el efecto antibacteriano contra cepas ATCC de EC, FSP de los pigmentos acetónicos y alcohólicos de hojas de berro
- Obtener la Concentración mínima inhibitoria del extracto analizado.
- Obtener la Concentración mínima bactericida del extracto analizado.

VI MATERIAL Y METODOS

MATERIALES.

- Extractos de Planta de Berro (*Naturtium officinale*).
- Agar Mueller Hinton.
- Cepas ATCC (*E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 27543, *ETEC* s/n, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 27543, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. typhimorium* ATCC 14028, *S. sonnei* s/n, *L. monocytogenes* ATCC 7644 y *B. cereus* ATCC 14579).
- Reactivos de grado analítico.
- Antibióticos: Penicilina (500 mg/ 2 ml), Ciprofloxacino (750 mg/5ml), Gentamicina (80 mg/ml).

MÉTODOS.

OBTENCION DEL EXTRACTO CRUDO:

Se pesaron 50 gramos de la planta Berro previamente desinfectados, se trituran en mortero hasta maceración completa, ya que este bien homogéneo se filtra y se centrifuga (3000 rpm/ 15 minutos), al sobrenadante se le denominó extracto crudo.

EXTRACCION ACETONICA Y ALCOHOLICA DE PIGMENTOS:

Se realizó la extracción de pigmentos acetónicos y alcohólicos, comenzando por pesar 770 g de Berro, se le hicieron lavados de acetona hasta despigmentación verdosa, después lavados de alcohol hasta despigmentación amarillosa, una vez habiendo obtenido los extractos se procesan mediante la destilación simple para obtener los pigmentos, este proceso consta en una operación en la cual se produce la vaporización de un material por la aplicación de calor, es decir, si una mezcla contiene algún solvente en cierta cantidad se carga en el recipiente hervidor (matraz balón) y se calienta, la mezcla empezará a hervir a cierta temperatura de acuerdo al disolvente (acetona: 56°C; alcohol: 78 °C) y de acuerdo al punto de ebullición del solvente este empezara a evaporarse, pasando por el refrigerante en el cual se condensara, así de esta manera el solvente va disminuyendo progresivamente permitiendo obtener los pigmentos de un lado y del otro recuperar el solvente utilizado (Zitlalpopoca. 2008).

OBTENCION DE LA FRACCION SIN PIGMENTO:

La hojas obtenidas cuyos pigmentos fueron removidas tanto de los lavados acetónicos como alcohólicos se deja secar hasta que pierda por completo los restos de solvente que le pudieron haber quedado, se tritura hidratándola con agua estéril hasta homogenización y una vez macerada se recupera y se centrifuga (3000 rpm/ 15 minutos), separamos el sobrenadante llamándole fracción sin pigmentos (FSP).

CUANTIFICACION DE PROTEINAS.

Evaluación de cuantificación de proteínas se realizó por medio del método de cuantificación de proteínas de Bradford MM. (1975). Que utiliza el colorante Coomassie, que en su estado libre es rojo y al reaccionar con las proteínas vira a color azul, cuya tonalidad varía respecto a la concentración de proteína presente en la muestra. Este colorante se une selectivamente a los aminoácidos de las cadenas polipeptídicas, y posteriormente, se lee en un espectrofotómetro de absorción a una longitud de onda de 595 nm. En el ensayo, se realizó una curva patrón utilizando BSA (Albumina Sérica Bovina 0-20 mg/mL), donde la concentración de las muestras problema se obtuvo al interpolar la absorbancia en la curva.

PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO

❖ Mueller Hinton Agar

Se pesó 38 g del polvo (MH) y fue disuelto en 1000 ml de agua destilada. Se dejó reposar durante 10 a 15 minutos calentándolo con agitaciones frecuentes durante 1 minuto para disolución total. La esterilización se realiza a 121°C durante 15 minutos dejándolo atemperar de 45 - 50°C y se distribuye en placas de Petri estériles en un volumen apropiado para que el espesor sea de 4 mm sobre una superficie horizontal. (Olivas E. E y Alarcón. 2004; Laboratorio Britania. 2010)

❖ Mueller Hinton Caldo

Se Pesar 22 g del polvo (MH) y estos son suspendidos en 1000 ml de agua destilada. Se Deja reposar 5 minutos para aplicar calor con agitación frecuente durante 1 minuto hasta disolución total. Se Distribuye en tubos esterilizados (Olivas E. E y Alarcón. 2004; Laboratorio Britania. 2010).

❖ Agar Sangre

Se pesan 40 g de polvo para un volumen de 1000 ml. Se suspendió en agua destilada calentando y agitando frecuentemente hasta disolución completa. Se

agregó del 5–10 % de sangre ovina desfibrinada estéril al medio esterilizado homogeneizándolo y distribuyendo en placas petri estériles (Olivas E. E y Alarcón. 2004; Laboratorio Britania. 2010).

❖ Agar S.S.

Se pesó 60 g de polvo en 1000 ml de agua destilada. Se dejó reposar durante 5 min mezclando hasta homogenizar. Se calentó con agitación frecuente hasta ebullición durante 1 min para disolución total y después de atemperar se vierte en cada placa hasta solidificar (Olivas E. E y Alarcón. 2004; Laboratorio Britania. 2010).

❖ Agar McConkey

Se suspendió 50 g del polvo en 1000 ml de agua destilada. Se dejó reposar por 5 minutos calentando con agitación frecuente hasta ebullición de 1 a 2 minutos, se atempero para servir en cada placa hasta solidificarse (Olivas E. E y Alarcón. 2004; Laboratorio Britania. 2010).

❖ Agar Sal y Manitol.

Se suspendió 111 g de medio en 1000 ml de agua destilada, se mezcló vigorosamente, calentamos con agitación suave hasta su completa disolución y se hierve durante un minuto, se esterilizo y se dejó atemperar, vertiendo en cada placa hasta solidificar (Olivas E. E y Alarcón. 2004; MCD Lab 2009).

TINCIÓN GRAM

En un porta objetos de coloco una gota de solución salina, en ella se diluyo un pequeño inculo de la bacteria, dejando secar a temperatura ambiente, una vez seca, se fijó al calor, una vez fijada se cubrió el frotis con cristal violeta (colorante primario) dejando actuar por un minuto, se retiró el exceso y se añadió solución yodo–lugol (mordente) dejando actuar por un minuto, se lavó con abundante agua, se añadió el decolorante alcohol/cetona 1/1 durante 5 segundos, se lava con abundante agua y se agregó safranina (colorante de contraste) dejando actuar

durante un minuto, se lavó el exceso de colorante con abundante agua, se deja secar a temperatura ambiente y se observó al microscopio a 100 X con aceite de inmersión (Pelczar y Reid, 1980).

ESTANDARIZACION DEL ANTIBIOTICO:

Para la selección de los antimicrobianos de las pruebas de sensibilidad se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones: eficacia, prevalencia de resistencia, costo, indicaciones del FDA, recomendaciones consenso para drogas de primera elección y alternativos, además de que se estandariza al usar el antibiótico impregnado en el disco con la concentración que provoca un halo de inhibición de 5 mm correspondiente con productos naturales, ya que los antibióticos comúnmente utilizados contienen altas concentraciones (Pasterán y Gales. 2008; Somchit *et al.*, 2003).

ESCALA DE MCFARLAND

Procedimiento estándar que se realizó como es descrito por McFarland (McFarland J. 1907) En un tubo de ensayo se mezcla 0.1 ml de una solución de cloruro de bario anhidro al 1% con 9.9 ml de una solución fría de ácido sulfúrico químicamente pura al 1%. El tubo se cierra herméticamente y se mantiene en el refrigerador hasta formación de un precipitado fino de color blanco de sulfato de bario, el cual se hace visible después de una vigorosa agitación. En ese momento el tubo tiene una densidad correspondiente a 1.5×10^8 ml de suspensión, o bien, comprobando la densidad del patrón de turbidez determinada la absorción mediante un espectrofotómetro con un haz luminoso de 1 cm y la celdilla correspondiente. La absorción a 625–630nm debe ser de 0.08 a 0.10 (Bollela *et al.*, 1999).

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA (DIFUSION EN DISCO).

Evaluamos la sensibilidad de bacterias ATCC (*E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 27543, *ETEC* s/n, *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 27543, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. typhimorium* ATCC 14028, *S. sonnei* s/n, *L. monocytogenes*

ATCC 7644 y *B. cereus ATCC 14579*) contra extracto crudo (EC), pigmentos acetónico, pigmentos etanólicos y la fracción sin pigmentos (FSP), las cepas se mantuvieron en medio líquido a temperatura de refrigeración. Se empleó el método de difusión en disco basada en el método de Kirby Bauer para la determinación de la actividad antibacteriana y así evidenciar la inhibición que provocan los extractos. Para la activación de los microorganismos se aislaron las bacterias en agar nutritivo Mueller Hinton, preparada según especificaciones del medio y se esteriliza en autoclave a 121 °C y 15 libras de presión durante 15 min. El procedimiento se realizó por la técnica de siembra por estría cruzada, en cajas de Petri servidas con un espesor de agar de 20 mL e incubadas por un tiempo de 18-24 h. a 37°C. Después del tiempo de incubación, con ayuda de un escobillón estéril se tomaron 2 a 5 colonias morfológicamente similares y se suspenden en agar Mueller Hinton caldo hasta alcanzar la turbidez comparable con el patrón 0.5 de McFarland equivalente a 0.08 a 0.10 de absorbancia a una longitud de onda de 625nm, para el ensayo de actividad antibacteriana se empleó agar Muller- Hilton preparado según especificaciones del medio y esterilizado en autoclave a 121 °C y 15 libras de presión durante 15 min. Servido en cajas de petri con un espesor de agar de 20 ml, las cuales fueron impregnadas mediante un hisopo por siembra masiva en 3 cuadrantes por cada bacteria indicadora, se emplearon discos estériles de 6 mm de diámetro los cuales fueron impregnados con 25 µl de extracto en diferentes diluciones (1:1; 1:2; 1:4; 1:8), además del control positivo y control negativo, como control positivo se usó Penicilina en una presentación de 500 mg/2ml, Ciprofloxacina en una presentación de 750 mg/5ml y Gentamicina en una presentación de 80 mg/ml de acuerdo a cada una de las bacterias y como control negativo se empleó agua o DMSO dependiendo el extracto. Seguido de una incubación a 36°C por 14 a 16 horas; los ensayos se realizaron por triplicado (Klančnik et al., 2010; Barragán, 2012).

OBTENCION DE LA CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA (CIM).

Este procedimiento se realizó por el método de Kirby Bauer utilizando la misma metodología descrita anteriormente, para este ensayo de difusión en disco 1 ml de

cada bacteria se suspende y se extiende uniformemente en un medio de crecimiento sólido (caja de petri) y se colocan discos de papel estériles (6 mm de diámetro) y se impregnan con 25 µl de extracto crudo en diferentes diluciones un control positivo y respectivamente el control negativo, se incuban a 37°C durante 24 horas. La actividad inhibitoria mínima se determinó con la concentración más baja de extracto de la planta que produjo una zona de inhibición. (Ardila *et al.*, 2009; Klančnik *et al.*, 2010) Este se calculó teniendo como referencia la medición del diámetro de la zona de inhibición del control positivo y la medición del halo de los extractos (Barragán, 2012)

OBTENCION DE LA CONCENTRACION BACTERICIDA MÍNIMA.

Para este procedimiento se realizó por el método de Courvalin *et al* (2006). Preparando 1 ml de la muestra para añadirla a 9 ml de caldo estéril MH que contiene bacterias en una concentración de 1×10^7 UFC/ml. Un control positivo que contiene 1ml de bacterias en 9 ml de caldo estéril MH, Dos controles negativos, uno que contiene 10 ml de caldo estéril MH y el otro que contiene 1 ml de muestra en 9 ml de caldo estéril MH. Las colonias supervivientes son evaluadas a diferentes tiempos fijos (0, 5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 24 h). Un efecto bactericida se definió como una reducción del 5 log para el inóculo inicial en un plazo de 1 h, según lo recomendado por la asociación Francesa de Normalización (AFNOR). (Mayaud *et al.*, 2008)

ANALISIS ESTADISTICO.

Realizar el análisis de datos, por medio de estadística descriptiva donde se utilizarán las medidas de tendencia central como la media ($\bar{x}$), desviación estándar (S) y error estándar (E.E). Así mismo, se realizara un análisis de varianza (ANOVA).

VI RESULTADOS

Identificación de cepas ATCC

Se hicieron diferentes tipos de medios selectivos para aislar los microorganismos y así llevar a cabo una identificación y corroboración bacteriana observando al microscopio las diferentes cepas con las que contamos como se describe a continuación: el medio Agar MacConkey utilizándolo para, *Escherichia. coli* 25922, *Escherichia. coli* ATCC 27543, *Escherichia. coli* Enterotoxigenico S/N, el Agar S110 utilizado para *Staphylococcus. aureus* ATCC 25923 y *Staphylococcus. aureus* ATCC 27543, Agar Sangre para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus cereus* ATCC 14879 y *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 y el Agar Shigella Salmonella para *Salmonella typhimurium* ATCC 14027 y *Shigella sonnei* S/N.

Una vez que se crece y se aíslan en medios selectivos se observan la caracterización e identificación de las cepas.

Como se ilustra en las (figura 3, figura 4 y figura 5) se observa la morfología que corresponde al microorganismos *Escherichia coli* como son colonias aisladas, medianas, circulares, convexas y bordes redondeados; y la vista microscópica a 100 X de una de las colonias al realizarle tinción Gram donde se observa una coloración rojiza por lo que corresponden a bacterias Gram negativa, además de ser bacterias en forma de bacilos cortos y rectos.

***Escherichia coli* ATCC 27543**

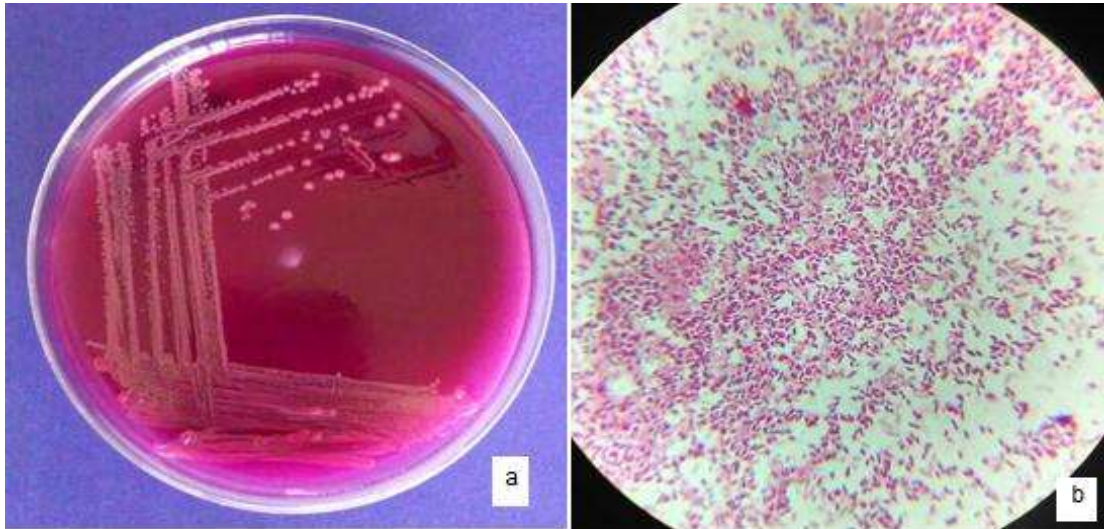


Figura 3 (a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar McConkey; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram.

***Escherichia coli* ATCC 25922**

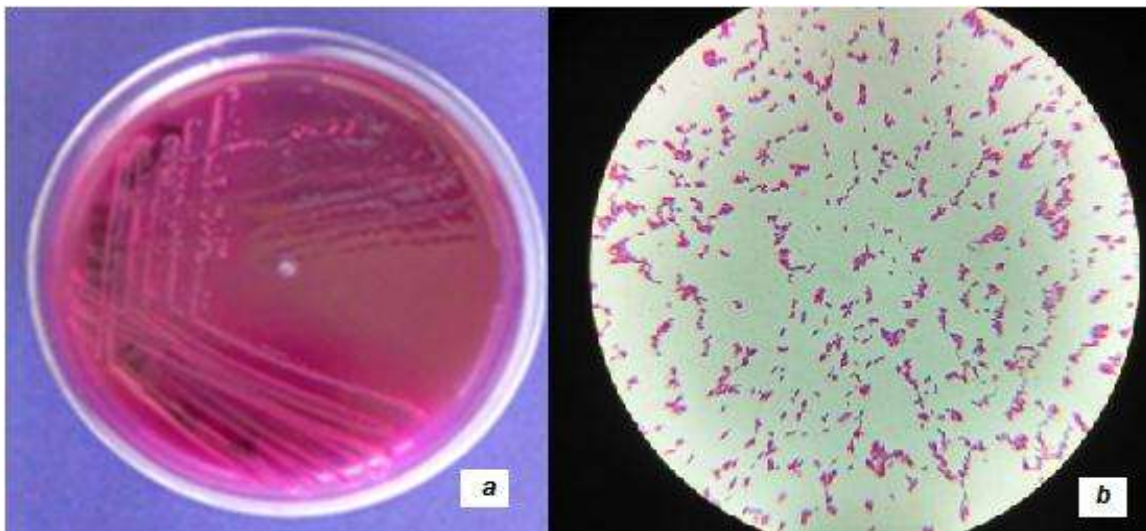


Figura 4 (a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar McConkey; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram.

***Escherichia coli* Enterotoxigenica S/N**

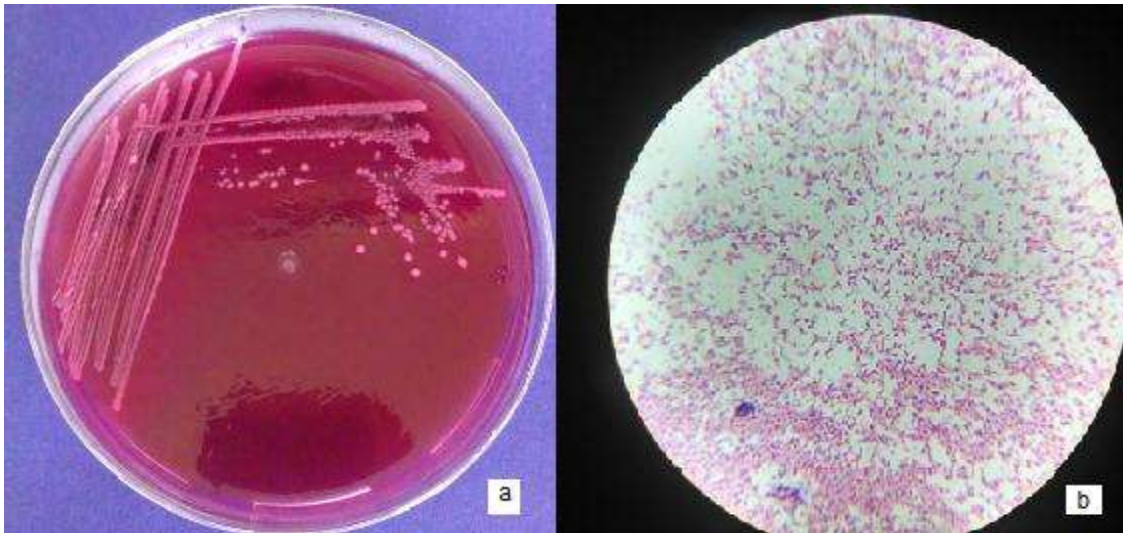


Figura 5. (a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar McConkey; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram.

A continuación en la (figura 6 y figura 7) se muestra la morfología que corresponde al microorganismo *Staphylococcus aureus*, siendo colonias circulares bien definidas, lisas y convexas, presentando la coloración dorada que ocasiona el medio, además se ilustra la vista microscópica a 100 X de una de las colonias al realizarle tinción Gram donde se observan cocos con una coloración morada de la bacteria que correspondiente a una bacteria Gram positiva y la formación de racimos siendo esta la forma en que se agrupa.

***Staphylococcus aureus* atcc 27543**

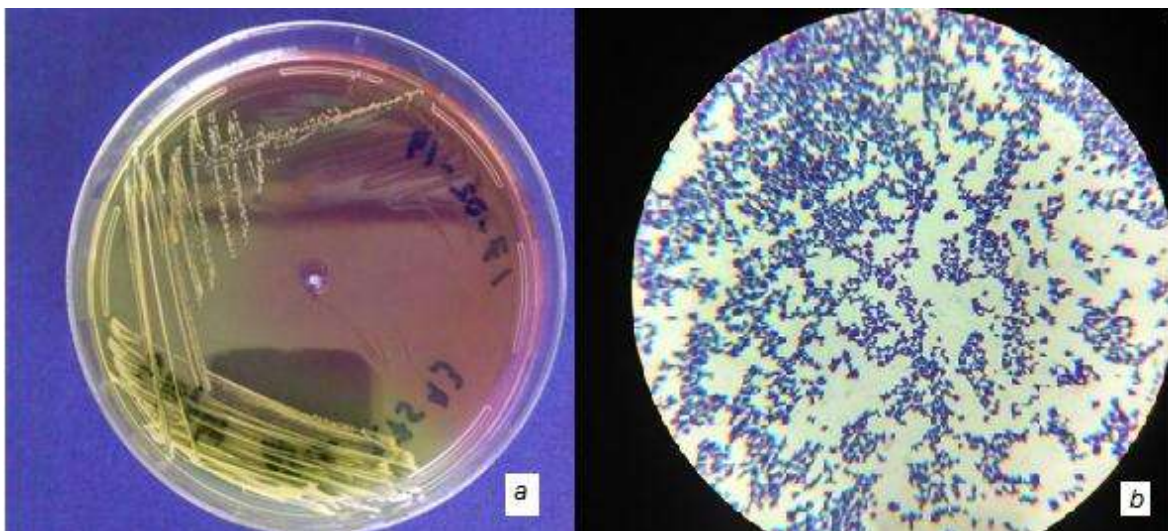


Figura 6. (a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar Sal y Manitol; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram.

***Staphylococcus aureus* atcc 25923**

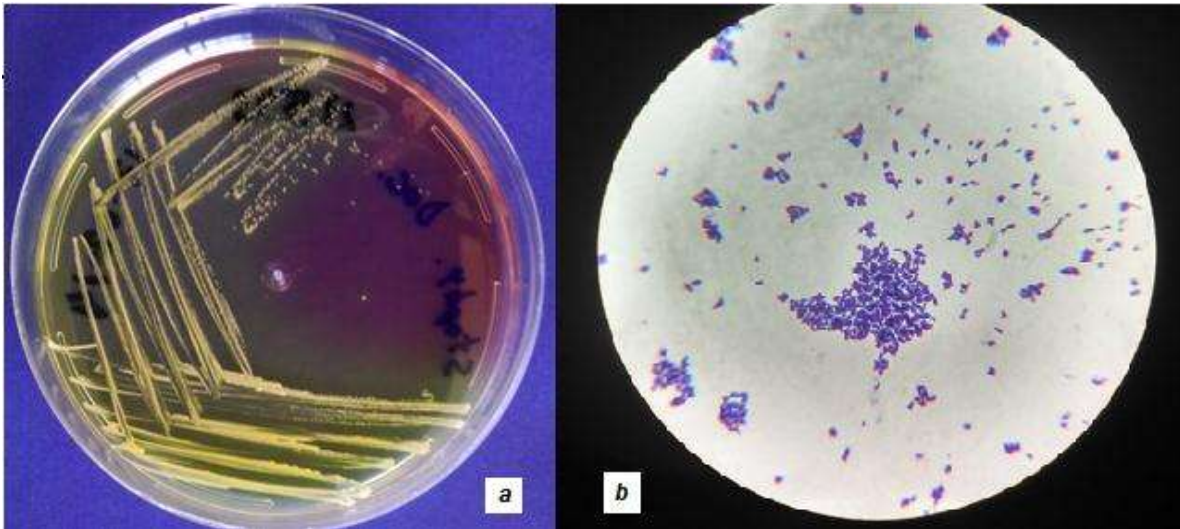


Figura 7. (a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar Sal y Manitol; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram.

En la (figura 8) se muestra la morfología correspondiente al microorganismo *Listeria monocytogenes* observando colonias circulares y pequeñas de color grisáceas y la presencia de B-hemolisis provocada por el medio; y la vista microscópica a 100 X de una de las colonias al realizarle tinción Gram donde se observa bacilos pequeños con una coloración morada por lo que representan a una bacteria Gram positiva.

***Listeria monocytogenes* ATCC 7644**

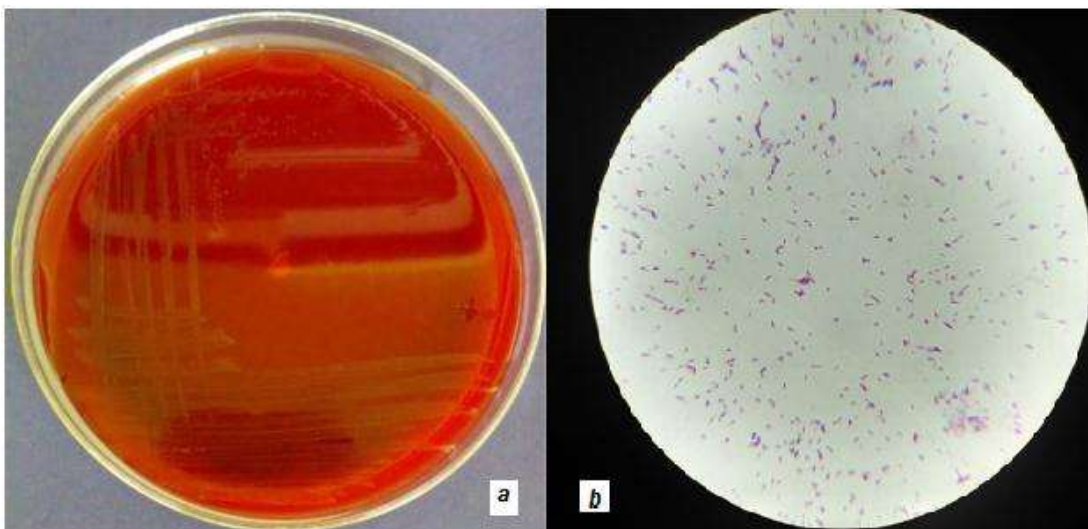


Figura 8. (a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar Sangre; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram.

Como se observa en la (figura 9) la morfología que corresponde al microorganismo *Salmonella typhimorium* como son colonias circulares bien definidas y convexas con un centro de color negro y un borde claro; y la vista microscópica a 100 X de una de las colonias al realizarle tinción Gram donde se observan bacterias en forma de bacilos cortos con una coloración rojiza por lo que corresponde a microorganismos Gram negativos.

***Salmonella typhimorium* ATCC 14028**

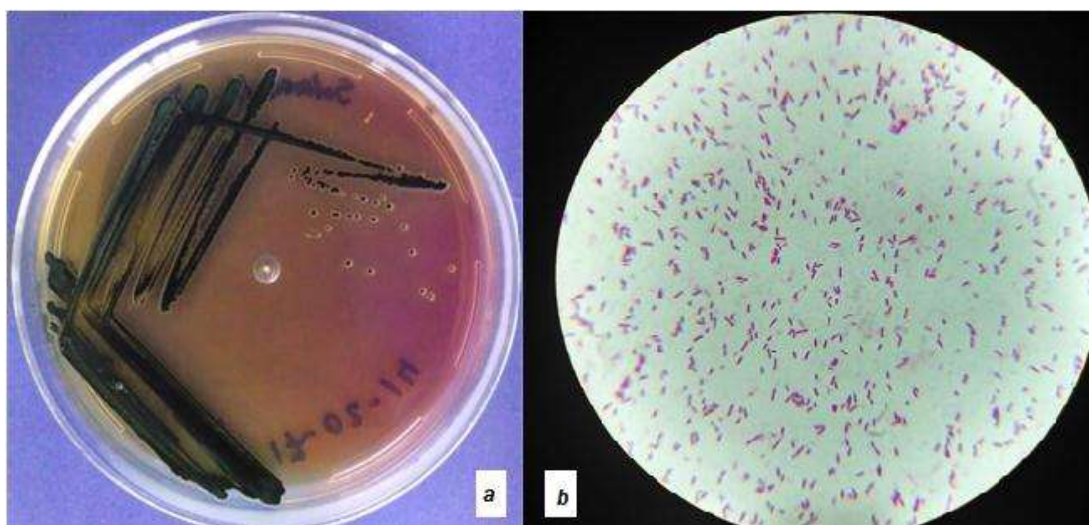


Figura 9. (a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar SS; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram.

Como se ilustra en la (figura 10) la morfología que corresponde al microorganismo *Pseudomonas aeruginosa* siendo colonias pequeñas, circulares, convexas, lisas, de una coloración opaca, además de la presencia de una β -hemolisis; y la vista microscópica a 100 X de una de las colonias al realizarle tinción Gram donde se observa microorganismos en forma de bacilos con una coloración rojiza por lo que corresponde a una bacteria Gram negativa.

***Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853**

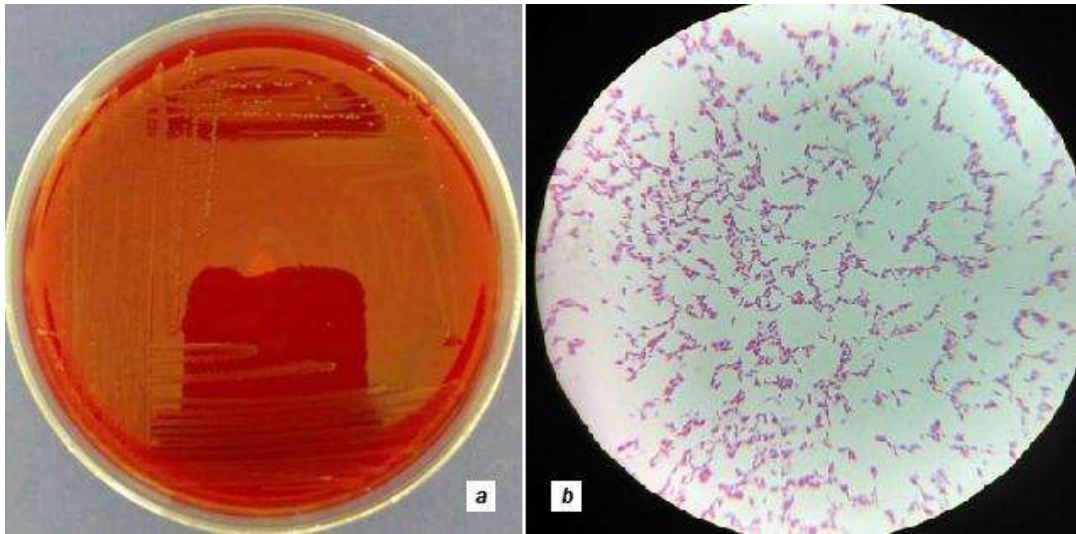


Figura 10. (a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar Sangre; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram

En la (figura 11) se observa la morfología correspondiente al microorganismo *Bacillus cereus* como son colonias grandes y circulares, ligeramente amarillas con un centro más brillante, además de la presencia de una B- hemolisis total y la vista microscópica a 100 X de una de las colonias al realizarles una tinción Gram observando bacterias en forma de bacilos muy largos y grandes teñidos de color morado correspondiente a microorganismos Gram positivos.

***Bacillus cereus* ATCC 14579**

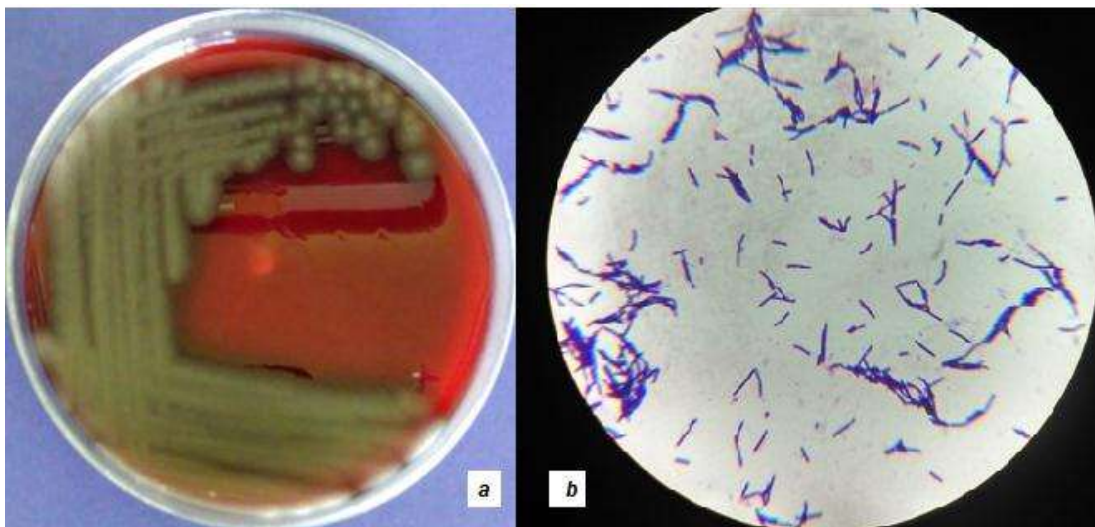


Figura 11. (a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar Sangre; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram.

Por último se muestra en la (figura 12), la morfología que corresponde al microorganismo *Shigella sonnei* S/N presentando colonias rosadas, chicas e irregulares, con un borde de apariencia trasparente; y la vista microscópica a 100 X de una de las colonias al realizarle tinción Gram donde se observan bacilos medianos con una coloración rojiza por lo que corresponde a bacterias Gram negativa.

***Shigella sonnei* ATCC S/N**

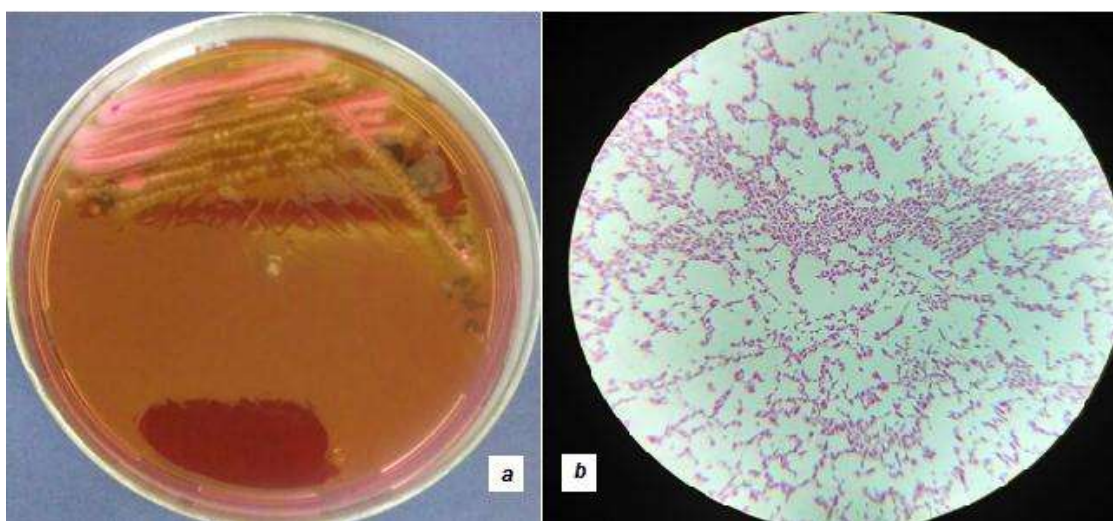


Figura 12. . (a) Características de las colonias típicas de los aislados cultivados en agar SS; (b) Micrografía (100x) de los aislados con tinción Gram

Evaluación de contaminación de muestras de extracto crudo de berro.

Se analizaron dos diferentes extractos crudos de Berro (*Nasturtium officinale*), uno fue de la planta recolectada en un mercado de la ciudad de Morelia, Michoacán; y el otro se recolecto en un supermercado del mismo lugar, ya que se supone que los productos que se venden en un supermercado llevan un proceso de inocuidad y este va regulado por las normas de la Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) y el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) de las reformas de la Ley de Sanidad Agropecuaria incorporada a la inocuidad, por lo que deben estar más limpios; mientras que el Berro de mercado es vendido una vez que se recolecta de lagos, ríos o lagunas y este no lleva un proceso de inocuidad, ya que

muchos de los sitios de recolección están contaminados por tener contacto con aguas negras, contaminación de suelo, por lo que puede estar sucio y contaminado de agentes infecciosos, de manera que las personas que lo consumen tienen que someterlo a un proceso de desinfección, como es un lavado con agua limpia y diversos desinfectantes.

Al hacer una siembra del extracto crudo de berro del mercado y supermercado, se observó crecimiento masivo de bacterias como lo podemos ver a continuación.



Figura 13. (a) Siembra masiva del extracto crudo de berro de mercado; (b) siembra del extracto crudo de berro del supermercado

En la (figura 13) se observa el crecimiento bacteriano de los extractos crudos de berro observadas después de 24 horas de incubación. Se observa el crecimiento bacteriano de cada uno de los extractos y se realiza una tinción Gram para observar sus características microscópicas determinando su diferenciación bacteriana para saber al grupo de microorganismos al que pertenecen siendo estas Gram positivas o Gram negativas según sea el caso.

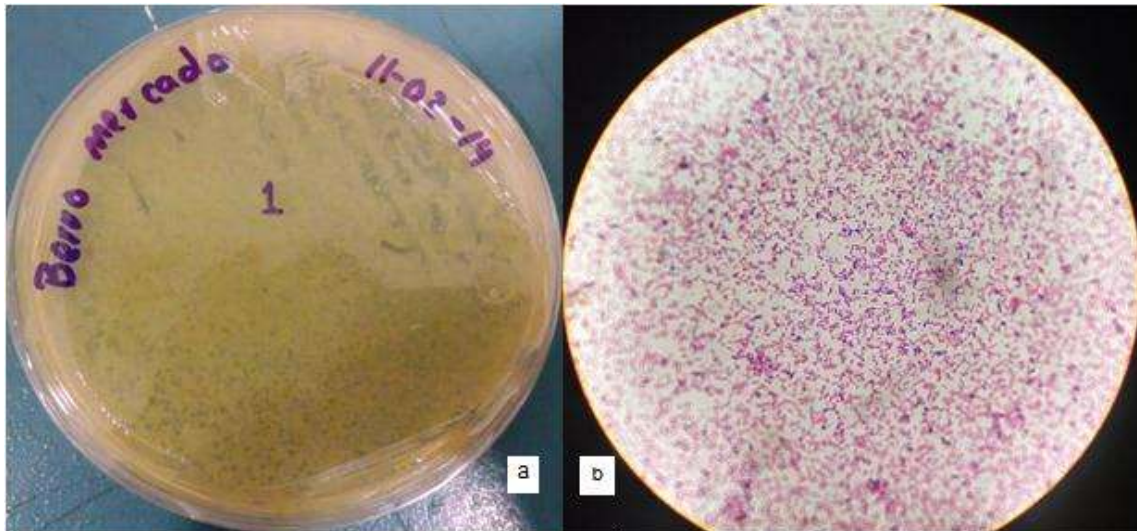


Figura 14 (a) Siembra masiva del extracto crudo de berro de mercado; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano.

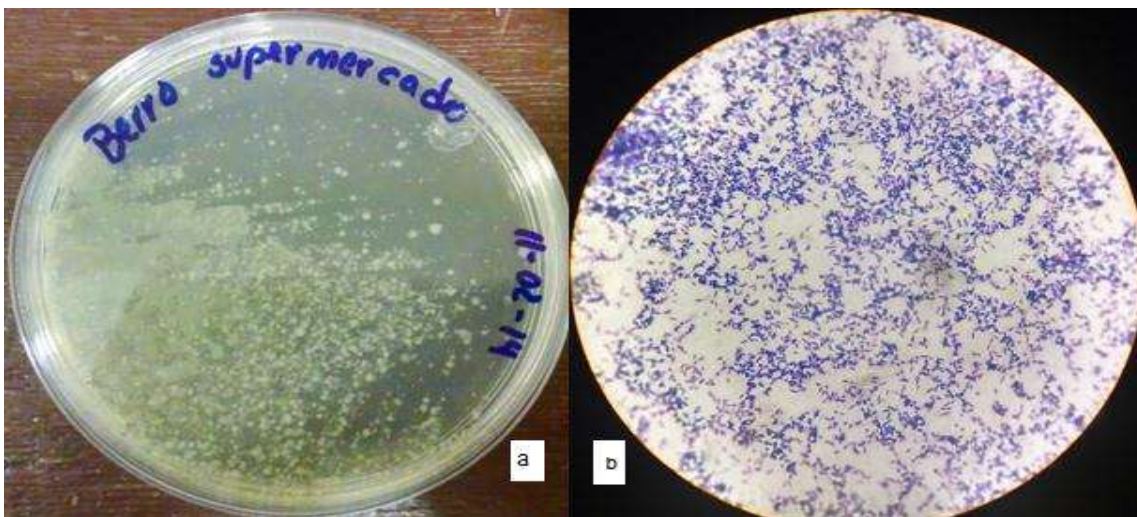


Figura 15. (a) Siembra masiva del extracto crudo de berro del supermercado; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano.

En la Tabla 4 se ilustran los resultados de las figuras 14 y 15, en las que se observó el crecimiento de los extractos obtenidos tanto del mercado como del supermercado, además de su morfología al realizarles tinción Gram. Encontrando que hay menor porcentaje de crecimiento bacteriano en la muestra obtenida del supermercado en comparación a la del mercado de acuerdo a un recuento de viables (UFC).

Tabla 4. Crecimiento de extractos de berro obtenidos de dos diferentes lugares.

Resultados de muestras de extractos crudos de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>)		
Muestra	Tinción Gram	Porcentaje de crecimiento
Extracto crudo de berro del mercado	Cocos y bacilos Gram negativos y cocos y cocobacilos Gram positivos.	95 % de crecimiento en placa
Extracto crudo de berro de supermercado	Bacilos Gram positivos y cocos y bacilos Gram negativos	65% de crecimiento en la placa

Evaluación de efectividad de antibacterianos comerciales

Al observar la contaminación de ambos extractos se prepararon 4 extractos más, dos de Berro del mercado y dos de Berro del supermercado, pero estos, sometidos a dos procesos de desinfección por separado, con la finalidad de determinar cuál desinfectante es más eficaz para el tratamiento de esta planta, Berro (*Nasturtium officinale*). Las primeras dos porciones de Berro (mercado y supermercado) se le aplicó un lavado con agua abundante y posterior se agregó el desinfectante comercial a base de plata ionizada al 0.35% con la cantidad de 8 gotas por litro de agua durante 15 minutos y a las dos porciones restantes se les aplicó un lavado con agua y se les sumergió en cloro comercial en una concentración de 10 gotas por litro de agua durante 15 minutos, pasando el tiempo se realizó un lavado con agua destilada, se hicieron los extractos y así una siembra masiva de cada uno de ellos.

En la (figura 16) se muestra el crecimiento bacteriano de cada uno de los extractos después de 24 horas de incubación, se tomó una muestra a la que se realizó una

tinción de Gram y se observó su diferenciación bacteriana así como al grupo de bacterias al que pertenecen siendo Gram positivas o Gram negativas.

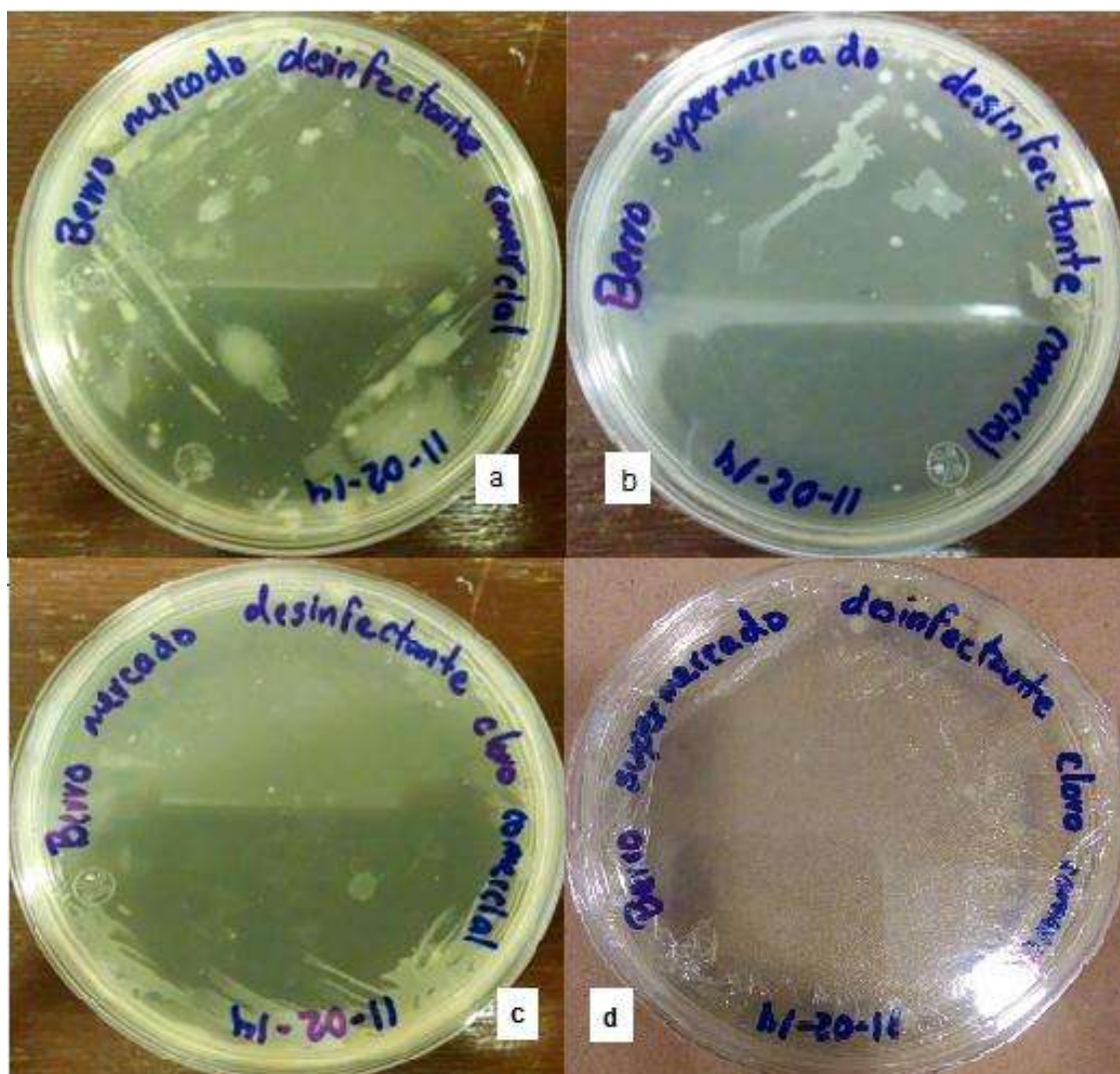


Figura 16. (a) Crecimiento bacteriano del extracto crudo de berro de mercado tratado con desinfectante comercial; (b) Crecimiento bacteriano del extracto crudo de berro de supermercado tratado con desinfectante comercial; (c) Crecimiento bacteriano del extracto crudo de berro de mercado tratado con cloro; (d) Crecimiento bacteriano del extracto crudo de berro de supermercado tratado con tratada con cloro.

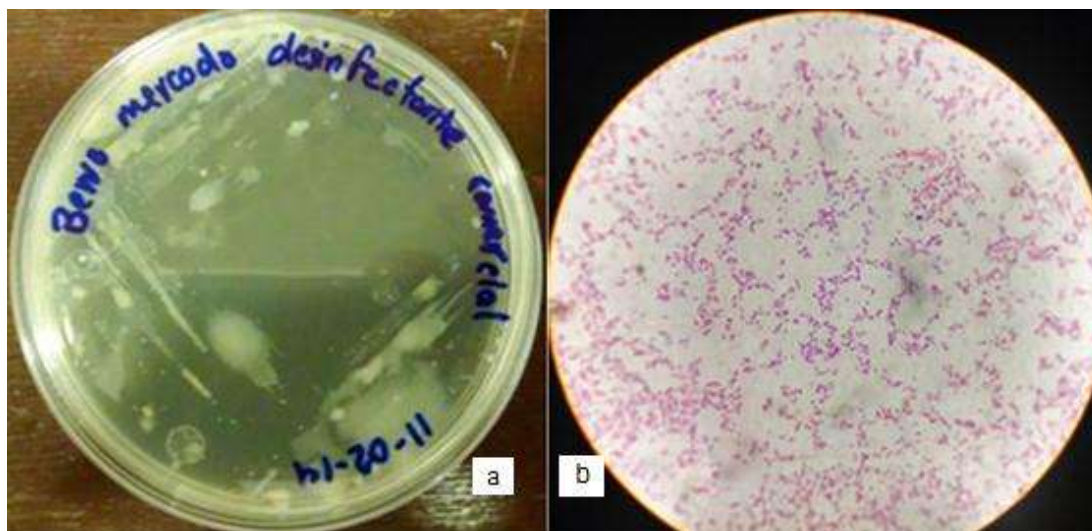


Figura 17. (a) Siembra masiva del extracto crudo de berro del mercado tratado con desinfectante comercial; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano.

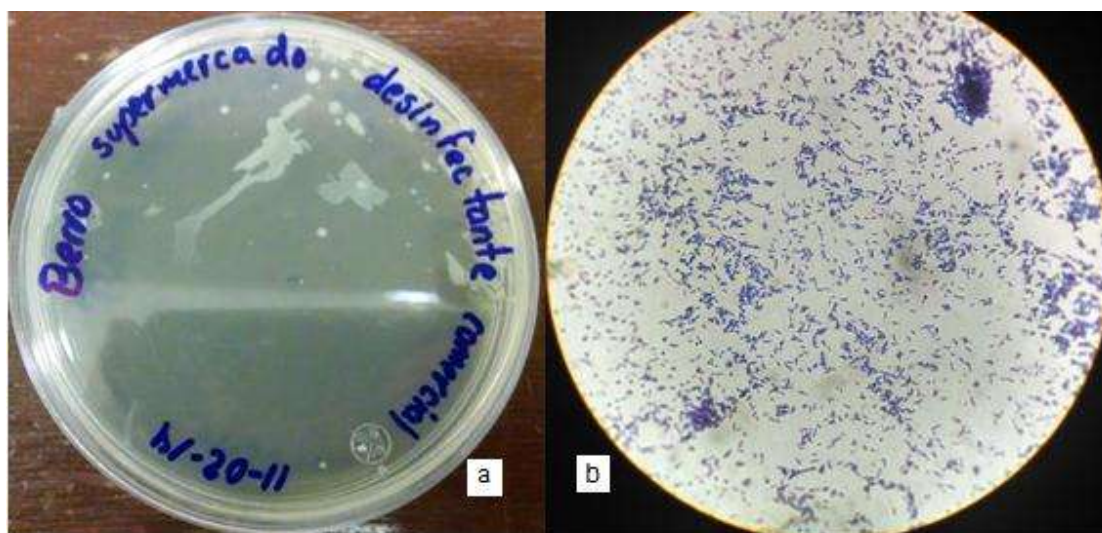


Figura 18. (a) Siembra masiva del extracto crudo de berro del supermercado tratado con desinfectante comercial; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano.

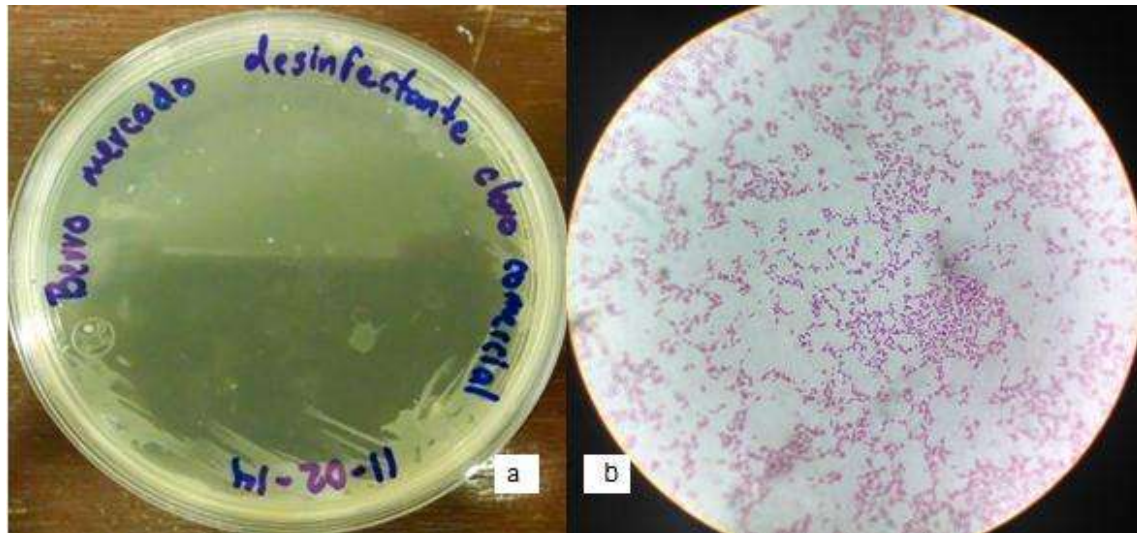


Figura 19(a) Siembra masiva del extracto crudo de berro del mercado tratado con cloro; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano.

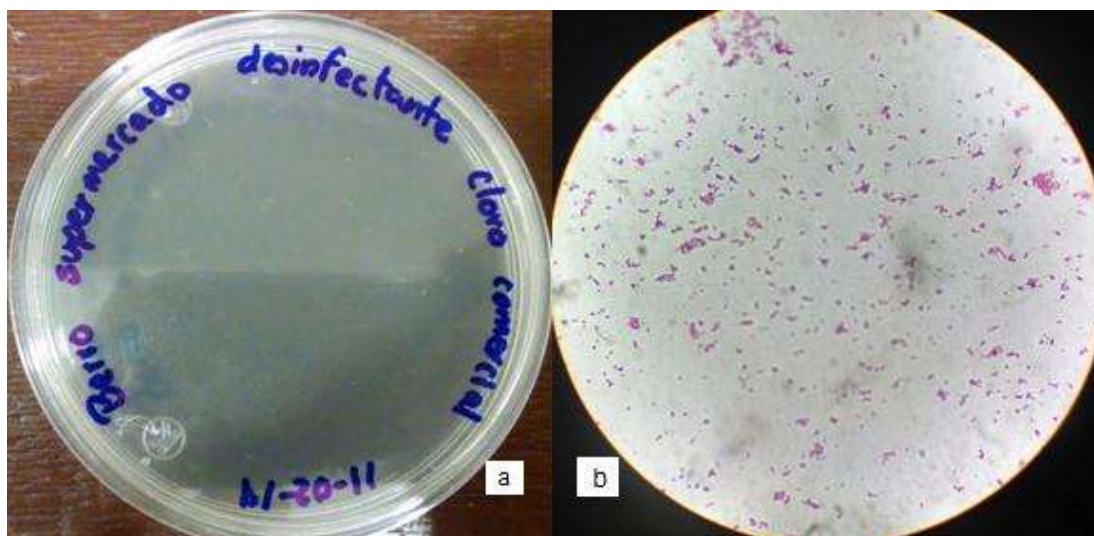


Figura 20. (a) Siembra masiva del extracto crudo de berro del supermercado tratado con cloro; (b) Micrografía (100x) del crecimiento bacteriano.

En la tabla 5 se puede observar resultados de las figuras 15, 16, 17 y 18, donde se pueden apreciar el crecimiento de los extractos tratados con diferentes desinfectantes encontrando que hay menor porcentaje de crecimiento bacteriano en las muestras tratadas con cloro en comparación a las tratadas con desinfectante a base de plata ionizada, esto de acuerdo a un recuento de viables (UFC).

Tabla 5 Inhibición de crecimiento de extractos de berro tratados con desinfectante comercial y cloro.

Resultados de muestras de extractos crudos de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>) sometidos a procesos de desinfección.		
Muestra	Tinción Gram	Porcentaje de crecimiento
Extracto crudo de berro del mercado tratado con desinfectante comercial.	Coco y bacilos Gram negativos.	45 % de crecimiento en placa
Extracto crudo de berro del mercado tratado con cloro.	Bacilos Gram negativos.	10 % de crecimiento en placa
Extracto crudo de berro del supermercado tratado con desinfectante comercial	Bacilos Gram positivos y bacilos grandes Gram negativos	15 % de crecimiento en placa
Extracto crudo de berro del supermercado tratado con cloro.	Bacilos, Gram negativos.	5 % de crecimiento en placa

Evaluación de actividad antibacteriana del extracto crudo

Se determinaron los valores de la concentración inhibitoria mínima (CIM) de extractos de la planta de berro, como una evaluación de su actividad antimicrobiana contra bacterias ATCC.

En la siguiente (tabla 3) se muestran las cepas ATCC utilizadas para evaluar la actividad antibacteriana de los diferentes extractos y medicamentos (controles positivos) a los que estos microorganismos son sensibles, así como su concentración y en que diluciones son utilizados.

Tabla 6. Cepas ATCC utilizadas en los antibiogramas y medicamentos.

Cepa ATCC	Antibiótico	Concentración	Dilución
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Gentamicina	80 mg/2mL	1:256
<i>Escherichia coli</i> ATCC 27543	Gentamicina	80 mg/2mL	1:256
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigenica LESP-1110-7	Gentamicina	80 mg/2mL	1:256
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Penicilina	500 mg/2mL	1:256
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	Penicilina	500 mg/2mL	1:256
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Gentamicina	80 mg/2mL	1:128
<i>Salmonella typhimorium</i> ATCC 14028	Ciprofloxacino	750 mg/5mL	1:8196
<i>Shigella sonnei</i> ATCC LESP-Sde 1308-1	Gentamicina	80 mg/2mL	1:256
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	Gentamicina	80 mg/2mL	1:256
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	Gentamicina	80 mg/2mL	1:256

Posteriormente se evaluó la actividad antibacteriana del extracto acuoso de Berro contra las diferentes bacterias de ATCC para saber si tiene efecto antibacteriano y determinar en qué dilución se encuentra la mínima concentración en la que el extracto acuoso empieza a inhibir el crecimiento de la bacteria con la formación de un halo.

A continuación en la (tabla 7 y figura 21) se observa la actividad antibacteriana que ejerce el extracto crudo de Berro contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mismas que expone la CIM necesaria para inhibir el crecimiento bacteriano.

Tabla 7. Concentración inhibitoria mínima (CIM) del extracto crudo de berro contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Extracto acuoso 0.57 mg/ml	1:1	12 mm	
	1:2	8.6 mm	
	1:4	8 mm	
	1:8	5.6 mm	0.071 mg/ml
Penicilina 500 mg/2mL	1:256	17.3 mm	1.953 mg/ml



Figura 21. Antibiograma del extracto crudo de berro contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

En la (tabla 8 y figura 22) se observa la actividad antibacteriana del extracto crudo de Berro contra *Escherichia coli* ATCC 25922, donde se puede observar que la CIM obtenida es menor que la encontrada ante *S. aureus* (Tabla 7).

Tabla 8. Concentración inhibitoria mínima (CIM) del extracto crudo de Berro contra *Escherichia coli* ATCC 25922

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Extracto acuoso 0.57 mg/ml	1:1	11.3 mm	0.1425 mg/ml
	1:2	8 mm	
	1:4	8 mm	
	1:8	-	
Gentamicina 80 mg/2mL	1:256	18 mm	0.3125 mg/ml



Figura 22. Antibiograma del extracto crudo de berro contra *Escherichia coli* ATCC 25922

Por último en la (tabla 9), se muestra una comparación de las concentraciones inhibitorias mínimas de antibióticos y del extracto acuoso de berro, se puede observar que hay algunas bacterias en las que el berro no mostro actividad antibacteriana.

Tabla 9. Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de antibióticos y del extracto crudo de Berro (*Nasturtium officinale*) contra las distintas bacterias.

Cepas ATCC	Antibióticos	Berro
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.3125 mg/ml	0.1425 mg/ml
<i>Escherichia coli</i> ATCC 27543	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>ETEC</i> S/N	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.953 mg/ml	0.316 mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	1.953 mg/ml	Negativo *
<i>Pseudomonas aeruginosas</i> ATCC 27853	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Salmonella typhimorium</i> ATCC 14028	11.728 mg/ml	Negativo *
<i>Shigella sonnei</i> S/N	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	0.3125 mg/ml	Negativo *

Los datos muestran la concentración inhibitoria mínima. Los asteriscos representan los valores estadísticos que tiene significancia ($p < 0.05$) (ANOVA seguida de una prueba de post-hoc de Tukey)

Evaluación de la actividad antibacteriana de la fracción sin pigmentos

Como se señala en la (tabla 10) la fracción sin pigmentos de la planta de berro, no se observó actividad antibacteriana contra las cepas ATCC analizadas.

Tabla 10. Concentración inhibitoria mínima de la fracción sin pigmentos de berro de Berro (*Nasturtium officinale*) contra las distintas bacterias.

Actividad antibacteriana de la Fracción sin Pigmentos		
Cepas ATCC	Antibióticos	Berro
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Escherichia coli</i> ATCC 27543	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>ETEC</i> S/N	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.953 mg/ml	Negativo *
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	1.953 mg/ml	Negativo *
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Salmonella typhimorium</i> ATCC 14028	11.728 mg/ml	Negativo *
<i>Shigella sonnei</i> S/N	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	0.3125 mg/ml	Negativo *

Los datos muestran la concentración inhibitoria mínima. Los asteriscos representan los valores estadísticos que tiene significancia ($p < 0.05$) (ANOVA seguida de una prueba de post-hoc de Tukey)

Evaluación de la actividad antibacteriana de pigmentos acetónicos y alcohólicos.

Al realizar la evaluación de la actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos de Berro (*Nasturtium officinale*) se observó actividad contra diferentes bacterias ATCC como: *ETEC* S/N, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 27543, *Staphylococcus aureus* ATCC 27543, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Shigella sonnei* S/N, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Bacillus cereus* ATCC 14579.

Tabla 11. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa *ETEC S/N*.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos acetónicos 4 mg/ml	1:1	8.6 mm	1 mg/ml
	1:2	8 mm	
	1:4	7.6 mm	
	1:8	-	
Gentamicina 80 mg/2MI	1:256	21.3 mm	0.312 mg/ml

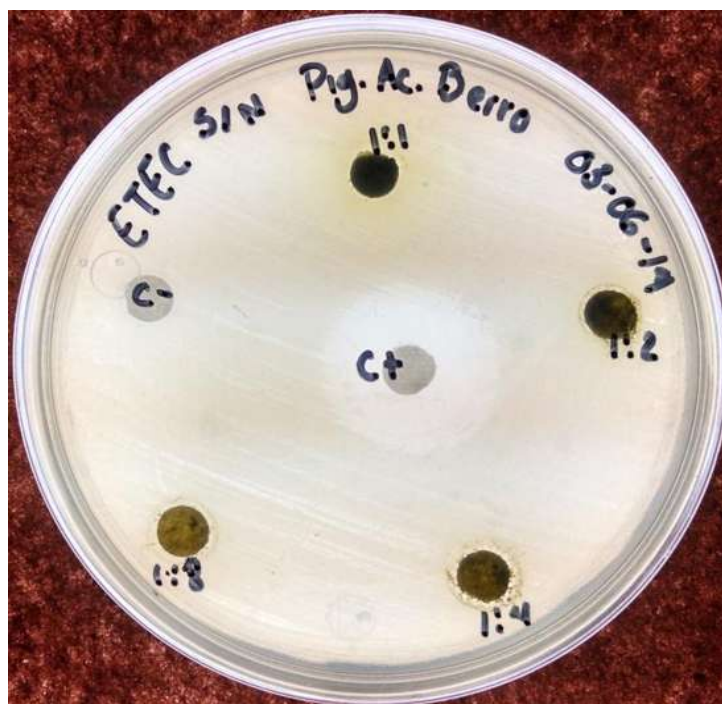


Figura 23. Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra *Escherichia coli* enterotoxigénica S/N.

Tabla 12. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos acetónicos 4 mg/ml	1:1	8.6 mm	1 mg/ml
	1:2	2.6 mm	
	1:4	2.6 mm	
	1:8	-	
Gentamicina 80 mg/2mL	1:256	16 mm	0.3125 mg/ml



Figura 24. Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabla 13. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa *Escherichia coli* ATCC 27543.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos acetónicos 4 mg/ml	1:1	9.3 mm	
	1:2	8 mm	
	1:4	5 mm	
	1:8	3 mm	0.5 mg/ml
Gentamicina 80 mg/2mL	1:256	18 mm	0.3125 mg/ml

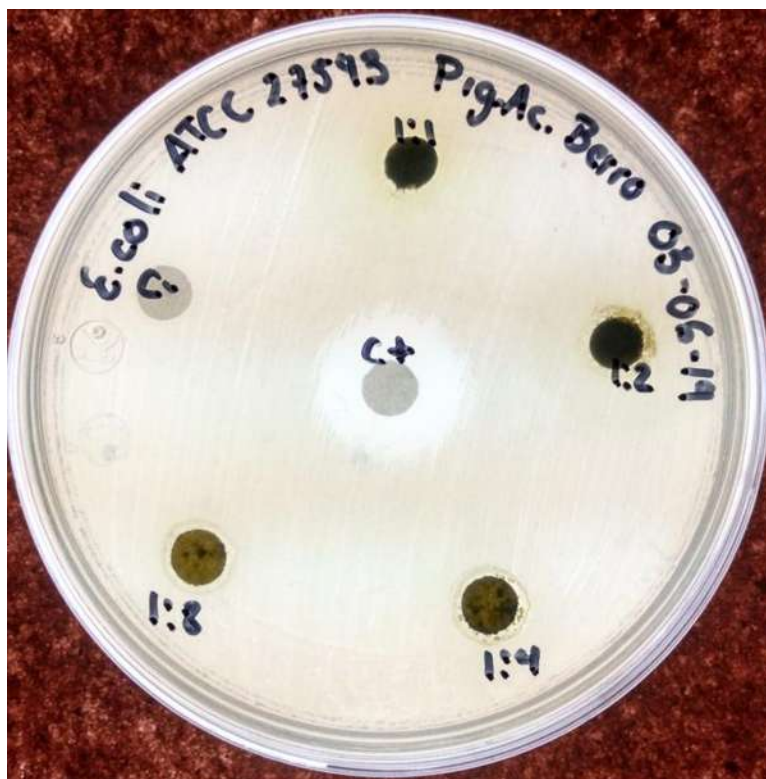


Figura 25. Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro (*Nasturtium officinale*) contra *Escherichia coli* ATCC 27543.

Tabla 14. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa *Shigella sonnei* S/N.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos acetónicos 4 mg/ml	1:1	8 mm	
	1:2	9.3 mm	
	1:4	8 mm	
	1:8	5.3 mm	0.5 mg/ml
Gentamicina 80 mg/2mL	1:256	17.3 mm	0.3125 mg/ml

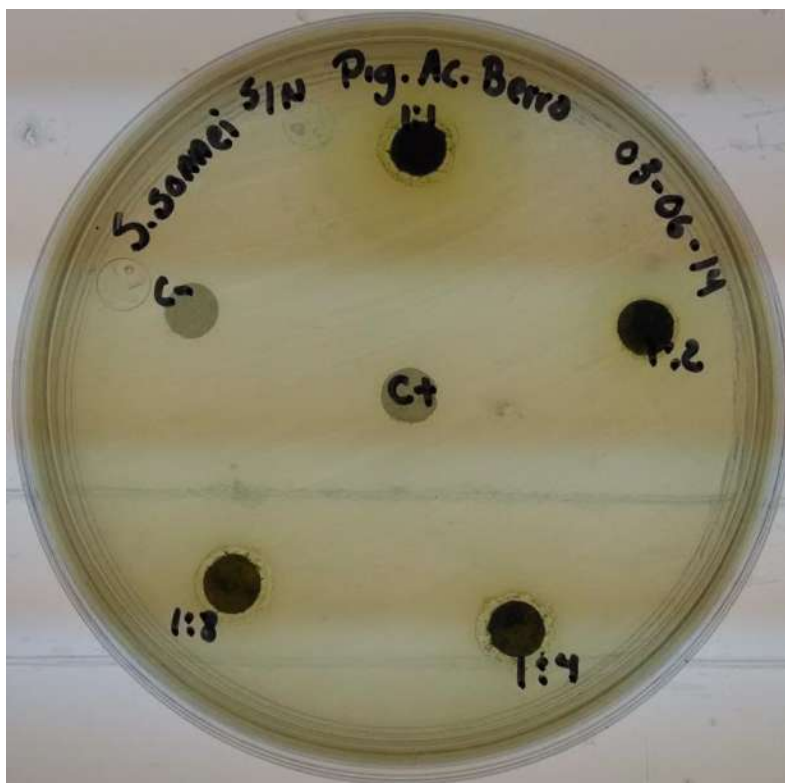


Figura 26. Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra *Shigella sonnei* S/N.

Tabla 15. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos acetónicos 4 mg/ml	1:1	7.3 mm	
	1:2	6 mm	
	1:4	8.3 mm	
	1:8	6.3 mm	0.5 mg/ml
Gentamicina 80 mg/2mL	1:256	12 mm	0.3125 mg/ml

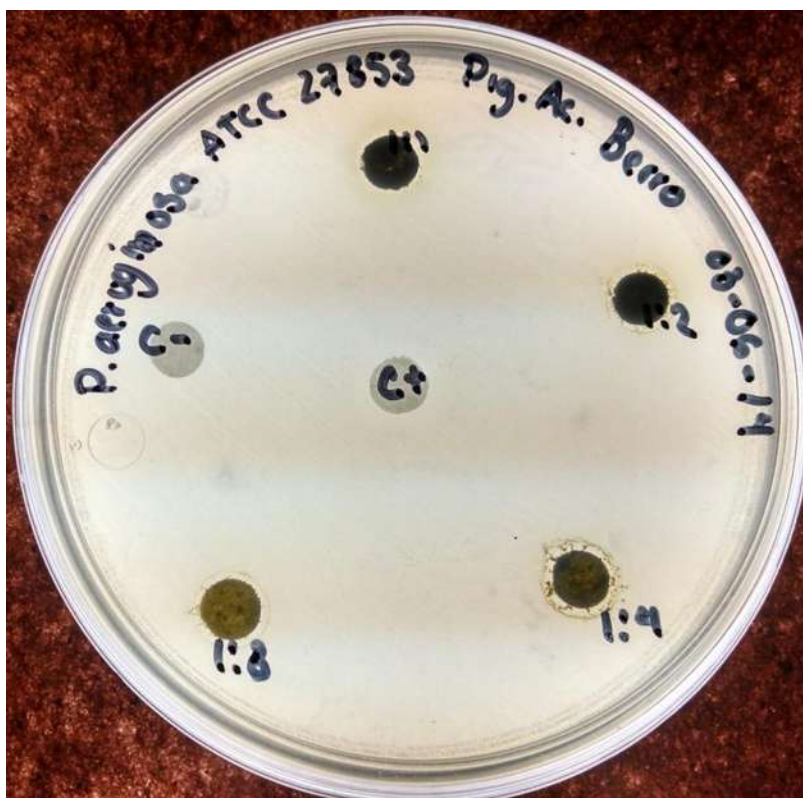


Figura 27. Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Tabla 16. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa *Bacillus cereus* ATCC 14579.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos acetónicos 4 mg/ml	1:1	6 mm	0.5 mg/ml
	1:2	6 mm	
	1:4	5.3 mm	
	1:8	4.6 mm	
Gentamicina 80 mg/2mL	1:256	14.6 mm	0.3125 mg/ml

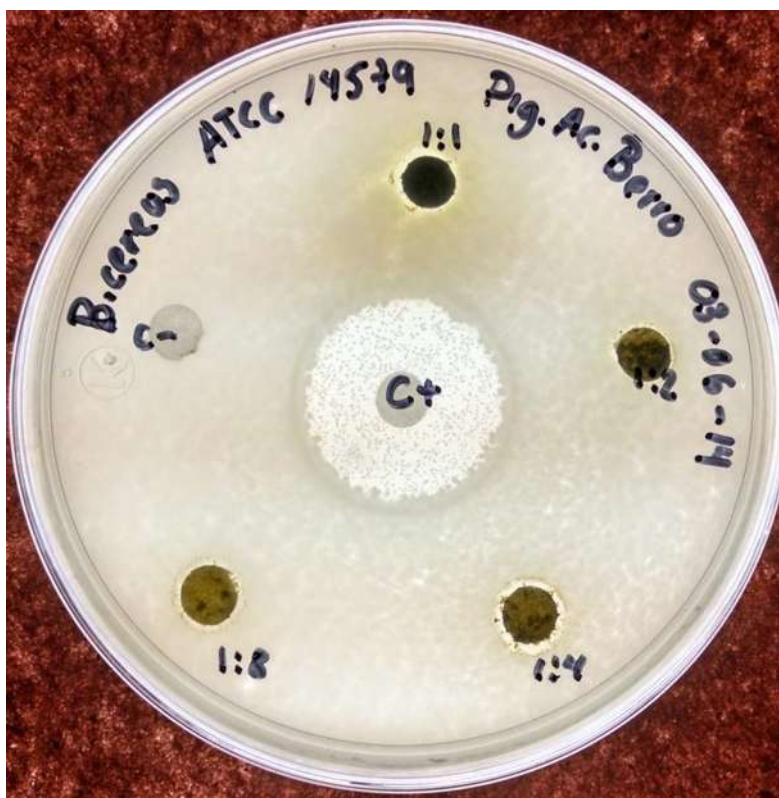


Figura 27. Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra *Bacillus cereus* ATCC 14579.

Tabla 17. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 27543.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos acetónicos 4 mg/ml	1:1	11.3 mm	0.5 mg/ml
	1:2	5.3 mm	
	1:4	3.3 mm	
	1:8	2.6 mm	
Penicilina 500 mg/2mL	1:256	14.6 mm	1.953 mg/ml



Figura 28. Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra *Staphylococcus aureus* ATCC 27543.

Tabla 18. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos acetónicos contra la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos acetónicos 4 mg/ml	1:1	8.6 mm	1 mg/ml
	1:2	5 mm	
	1:4	5 mm	
	1:8	-	
Penicilina 500 mg/2mL	1:256	32 mm	1.953 mg/ml



Figura 29. Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos del Berro contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

A continuación en la (tabla 19), se presentan los resultados generales de la actividad antibacteriana de pigmentos acetónicos de Berro (*Nasturtium officinale*) contra el grupo de cepas ATCC que tuvo un efecto antibacteriano y las bacterias a

las que no logro inhibir su crecimiento, así como la concentración inhibitoria mínima (CIM) con respecto al control positivo y con esto poder hacer un análisis de la inhibición que ocasiona este extracto.

Tabla 19. Resultados generales de la actividad antibacteriana de pigmentos acetónicos de Berro (*Nasturtium officinale*) contra las distintas bacterias.

Actividad antibacteriana de los pigmentos acetónicos.		
Cepas ATCC	Antibiótico	Berro
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.3125 mg/ml	1 mg/ml
<i>Escherichia coli</i> ATCC 27543	0.3125 mg/ml	0.5 mg/ml
<i>ETEC</i> S/N	0.3125 mg/ml	1 mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.953 mg/ml	1 mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	1.953 mg/ml	0.5 mg/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.3125 mg/ml	0.5 mg/ml
<i>Salmonella typhimorium</i> ATCC 14028	11.728 mg/ml	Negativo *
<i>Shigella sonnei</i> S/N	0.3125 mg/ml	0.5 mg/ml
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	0.3125 mg/ml	0.5 mg/ml
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	0.3125 mg/ml	Negativo *

Los datos muestran la concentración inhibitoria mínima. Los asteriscos representan los valores estadísticos que tiene significancia ($p < 0.05$) (ANOVA seguida de una prueba de post-hoc de Tukey).

PIGMENTOS ALCOHÓLICOS

Al evaluar la actividad antibacteriana de los pigmentos alcohólicos del Berro (*Nasturtium officinale*) observamos actividad contra diferentes bacterias ATCC como son *Staphylococcus aureus* ATCC 27543, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Bacillus cereus* ATCC 14579.

Tabla 20. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos alcohólicos contra la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 27543.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos alcohólicos 4 mg/ml	1:1	10 mm	
	1:2	8.3 mm	
	1:4	5 mm	
	1:8	2.3 mm	0.5 mg/ml
Penicilina 500 mg/2mL	1:256	13.3 mm	1.953 mg/ml

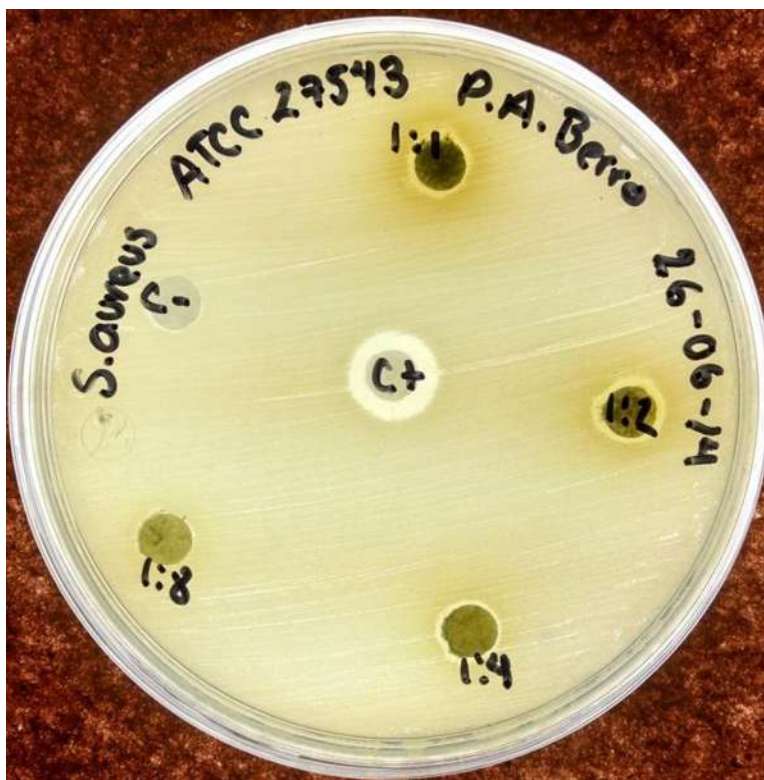


Figura 30. Actividad antibacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro contra *Staphylococcus aureus* ATCC 27543.

Tabla 21. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos alcohólicos contra la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos alcohólico 4 mg/ml	1:1	12.6 mm	1 mg/ml
	1:2	8.6 mm	
	1:4	7.3 mm	
	1:8		
Penicilina 500 mg/2mL	1:256	34.3 mm	1.953 mg/ml



Figura 31. Antibacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro contra *Staphylococcus aureus* ATCC 27543

Tabla 22. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos alcohólicos contra la cepa *Bacillus cereus* ATCC 14579.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos alcohólico 4 mg/ml	1:1	11.2 mm	0.5 mg/ml
	1:2	8.5 mm	
	1:4	7.6 mm	
	1:8	4.6 mm	
Gentamicina 80 mg/2mL	1:256	20 mm	0.3125 mg/ml

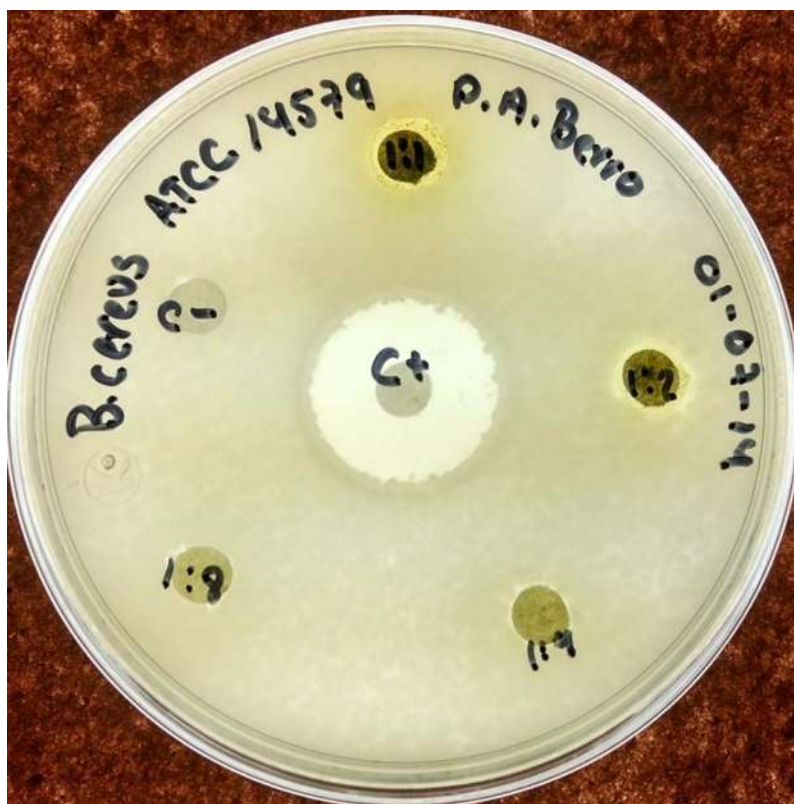


Figura 32. Actividad antibacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro contra *Bacillus cereus* ATCC 14579.

Tabla 23. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos alcohólicos contra la cepa *Listeria monocytogenes* ATCC 7644.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos alcohólico 4 mg/ml	1:1	10.6 mm	0.5 mg/ml
	1:2	9.6 mm	
	1:4	8.6 mm	
	1:8	7.3 mm	
Gentamicina 80 mg/2mL	1:256	18.6 mm	0.3125 mg/ml



Figura 33. Actividad antibacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro contra *Listeria monocytogenes* ATCC 7644.

Tabla 22. Concentración inhibitoria mínima (CIM) de pigmentos alcohólicos contra la cepa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Muestra	Dilución	Halo de inhibición	CIM
Pigmentos alcohólico 4 mg/ml	1:1	10.6 mm	
	1:2	8 mm	
	1:4	8 mm	
	1:8	7.6 mm	0.5 mg/ml
Gentamicina 80 mg/2mL	1:256	12 mm	0.3125 mg/ml

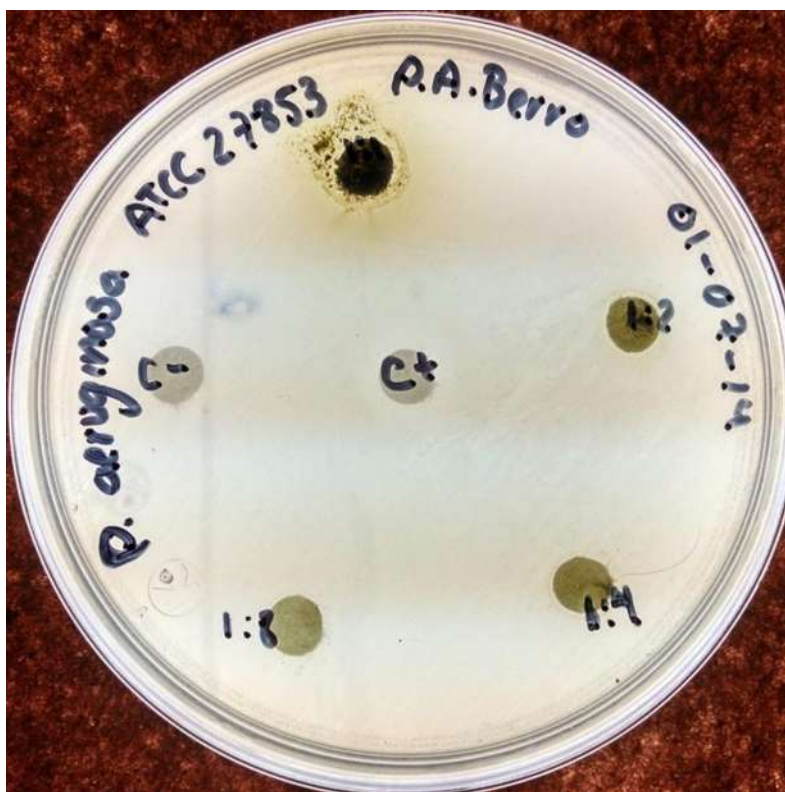


Figura 34. Actividad antibacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Por último, en la (tabla 25), se presentan los resultados generales de la actividad antibacteriana del pigmento alcohólico del Berro (*Nasturtium officinale*) contra el grupo de cepas ATCC que tuvo efecto antibacteriano y las bacterias a las que no inhibió su crecimiento, además de exhibir la concentración inhibitoria mínima (CIM) con respecto al control positivo.

Tabla 23. Resultados generales de la inhibición bacteriana de los pigmentos alcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) contra todas las distintas bacterias.

Actividad antibacteriana de los pigmentos alcohólicos		
Cepas ATCC	Antibiótico	Berro
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Escherichia coli</i> ATCC 27543	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>ETEC</i> S/N	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1.953 mg/ml	1 mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27543	1.953 mg/ml	0.5 mg/ml
<i>Pseudomonas aeruginosas</i> ATCC 27853	0.3125 mg/ml	0.5 mg/ml
<i>Salmonella typhimorium</i> ATCC 14028	11.728 mg/ml	Negativo *
<i>Shigella sonnei</i> S/N	0.3125 mg/ml	Negativo *
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	0.3125 mg/ml	0.5 mg/ml
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	0.3125 mg/ml	0.5 mg/ml

Los datos muestran la concentración inhibitoria mínima. Los asteriscos representan los valores estadísticos que tiene significancia ($p < 0.05$) (ANOVA seguida de una prueba de post-hoc de Tukey)

En los resultados anteriores se observa la actividad antibacteriana de los diferentes extractos de la planta de Berro (*Nasturtium officinale*), el extracto acuoso, la fracción sin pigmentos y los pigmentos acetónicos y alcohólicos contra las diferentes bacterias de ATCC utilizadas en el presente trabajo, señalando la

inhibición bacteriana que propicia cada una de las diluciones elaboradas y por ende la concentración inhibitoria mínima en cada una de las pruebas.

Evaluación de la Concentración Bactericida Mínima (CBM) del extracto acuoso, pigmentos acetónicos y alcohólicos de hojas de Berro (*Nasturtium officinale*)

Se determinaron los valores de la CBM de los diferentes extractos de la planta de Berro (*Nasturtium officinale*) evaluando su actividad bacteriostática o bactericida contra el grupo de bacterias que los extractos presentaron actividad antibacteriana, como se observa a continuación, la capacidad que tienen los extractos para lizar por completo a la bacteria llamándole bactericida, o bien solo detienen su crecimiento siendo bacteriostático, en el caso del extracto crudo tiene la capacidad de ser bactericida para las dos bacterias en las que presentaron halos de inhibición en el ensayo de Kirby Bauer como son *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923 ya que hubo un descenso de la absorbancia al realizarles las lecturas en los diferentes tiempo para la dilución 1:1 con una concentración de 0.4727 mg/ml para ambas bacterias como se observa en la (tabla 26 y 27), los pigmentos acetónicos también mostraron capacidad bactericida ya que se observa un descenso de la concentración de bacterias al realizar las lecturas en los diferentes tiempos contra las diferentes bacterias en las que hubo inhibición en el ensayo de Kirby Bauer como son *ETEC* S/N, *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 27543, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. cereus* ATCC 14579, *S. aureus* ATCC 25923 Y *S. aureus* ATCC 27543 mostrando el mínimo descenso en la dilución 1:2 con una concentración de 2 mg/ml para todas las bacterias anteriores, como se puede observar en las (tablas 28, 29, 30, 32, 33, 34, y 35), mientras que para *Shigella sonnei* S/N muestra el descenso en la dilución 1:1 a una concentración de 4 mg/ml como se observa en la (tabla 31).

Para los pigmentos alcohólicos contra las bacterias en las que hubo halos de inhibición en el ensayo Kirby Bauer también se observó un descenso en la lectura de la absorbancia conforme transcurrió el tiempo, para *S. aureus* ATCC 25923 la concentración mínima en la que hubo descenso se encontró en la dilución 1:4

teniendo una concentración de 1 mg/ml como se muestra en la (tabla 36), para *S. ATCC 27543* la mínima se encontró en la dilución 1:2 con una concentración de 2 mg/ml como se señala en la (tabla 37) y para *L. monocytogenes ATCC 7644* expone el mínimo descenso en la dilución 1:2 con una concentración de 2 mg/ml como nos muestra la (tabla 40), y a diferencia de las bacterias anteriores para *P. aeruginosa ATCC 27853* y *B. cereus ATCC 14579* no hay ningún descenso ni incremento de la absorbancia al realizarles las lecturas en los diferentes tiempos por lo que demuestra tener la capacidad de ser bacteriostática como se presenta en las (tablas 38 y 39).

En la (tabla 26) se observa la disminución de la concentración de la bacteria *E. coli ATCC 25922* conforme transcurre el tiempo en la dilución 1:1 trabajada con el extracto acuoso de Berro (*Nasturtium officinale*), exhibiendo la capacidad bactericida en esta dilución con una concentración de 0.4727 mg/ml.

Tabla 24. Concentración bactericida mínima (CBM) del extracto acuoso de Berro (*Nasturtium officinale*) contra *Escherichia coli ATCC 25922*.

CBM (Extracto crudo)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hora	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
<i>E. coli ATCC 25922</i>	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.007	0.008	0.008	0.008	0.009	0.043	0.207	0.376	0.876
	C.E	0.982	0.985	0.978	0.98	0.966	0.936	0.89	0.887	1.134
	1:1	1.245	1.151	1.158	1.188	1.105	1.094	1.028	0.991	0.929
	1:2	0.463	0.487	0.511	0.557	0.56	0.765	0.896	0.899	0.933
	1:4	0.251	0.285	0.323	0.35	0.38	0.56	0.791	0.826	1.022
	1:8	0.193	0.223	0.258	0.292	0.321	0.493	0.715	0.738	0.963

En la siguiente (tabla 27) se muestra la disminución de la lectura de la absorbancias en la dilución 1:1 de los diferentes tiempos medidos probando el extracto acuoso del Berro (*Nasturtium officinale*) ante *S. aureus ATCC 25922*, donde expone la capacidad bactericida a una mínima concentración de 0.4727 mg/ml.

Tabla 27. Concentración bactericida mínima (CBM) del extracto acuoso del Berro (*Nasturtium officinale*) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25922.

CBM (Extracto crudo)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
S. aureus ATCC 25923	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.008	0.014	0.015	0.015	0.019	0.055	0.12	0.259	0.428
	C.E	1.047	1.016	1.055	1.018	1.022	1.009	1.123	1.232	1.163
	1:1	1.246	1.165	1.217	1.153	1.156	1.122	0.895	0.887	0.882
	1:2	0.522	0.472	0.505	0.482	0.553	0.64	0.649	0.606	0.725
	1:4	0.276	0.222	0.258	0.244	0.29	0.428	0.489	0.459	0.815
	1:8	0.201	0.216	0.179	0.174	0.21	0.356	0.443	0.397	0.883

En la (tabla 28) se ilustra la disminución de la lectura conforme pasa el tiempo en la dilución 1:1 y 1:2 significando una menor concentración de la bacteria *ETEC* S/N contra el pigmento acetónico del Berro (*Nasturtium officinale*), esto comprueba la capacidad bactericida a una mínima concentración 2 mg/ml del extracto.

Tabla 25. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (*Nasturtium officinale*) contra *ETEC* S/N.

CBM (PIGMENTOS ACETONICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
ETEC S/N	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.003	0.004	0.005	0.01	0.014	0.018	0.034	0.105	0.383
	C.E	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:1	1	1	1	1	1.933	1.756	1.126	1.113	0.405
	1:2	1	1	1	1	1	1	1.504	1.13	0.855
	1:4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:8	1.227	1.283	0.365	1.387	1.455	1.492	1.668	0.52	0.554

En la (tabla 29) se expone la capacidad bactericida a una mínima concentración de 2 mg/ml del pigmento acetónico de berro (*Nasturtium officinale*), ya que muestra una disminución de la concentración de la bacteria *E. coli* ATCC 25922 en la dilución 1:1 y 1:2 con respecto a los diferentes tiempos medidos.

Tabla 29. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (*Nasturtium officinale*) contra *Escherichia coli* ATCC 25922.

CBM (PIGMENTOS ACETONICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
E. coli ATCC 25922	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.004	0.003	0.005	0.007	0.011	0.013	0.019	0.226	0.72
	C.E	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:1	1	1	1.853	1.736	1.482	1.427	1.048	0.947	0.695
	1:2	1	1	1	1	1	1	1	0.902	0.871
	1:4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:8	1.069	1.093	1.112	1.194	1.225	1.252	1.432	1.568	1.974

En la (tabla 30) se observa la disminución de la bacteria *E. coli* ATCC 27543 con respecto a los tiempos medidos en las diluciones 1:1 y 1:2, donde se exhibe la capacidad bacteriostática del pigmentos acetónicos de Berro (*Nasturtium officinale*) con el que se trabajó, dicha capacidad a una mínima concentración de 2 mg/ml.

Tabla 30. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos del berro (*Nasturtium officinale*) contra *Escherichia coli* ATCC 27543.

CBM (PIGMENTOS ACETONICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
E. coli ATCC 27543	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.004	0.005	0.007	0.012	0.015	0.023	0.209	0.502	0.795
	C.E	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:1	1	1	1.86	1.636	1.466	1.316	1.0795	0.97	0.77
	1:2	1	1	1	1	1	1	1	1	1.404
	1:4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:8	1.079	1.106	1.188	1.281	1.414	1.424	1.501	1.606	1.72

En la (tabla 31) se observa la disminución de la concentración de la bacteria *Shigella sonnei* S/N conforme transcurre el tiempo para la dilución 1:1 en una concentración mínima de 4 mg/ml, trabajada con el pigmento acetónico del Berro (*Nasturtium officinale*), este resultado demuestra la capacidad bactericida de este extracto.

Tabla 31. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (*Nasturtium officinale*) contra *Shigella sonnei* S/N.

CBM (PIGMENTOS ACETONICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
Shigella sonnei S/N	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.004	0.004	0.006	0.013	0.016	0.028	0.127	0.228	0.452
	C.E	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:1	1	1	1.897	1.812	1.76	1.649	0.933	0.938	0.631
	1:2	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:8	1	1	1	1	1	1	1	1	1

En la siguiente (tabla 32) que muestra la capacidad bactericida del pigmento acetónico de berro (*Nasturtium officinale*) contra *P. aeruginosa* ATCC 27853 al observar una disminución de la concentración de la bacteria conforme pasa el tiempo en la dilución 1:1 y 1:2, dicha capacidad con una concentración mínima de 2 mg/ml.

Tabla 32. Concentración bactericida mínima (CBM) del de los pigmentos acetónicos de berro (*Nasturtium officinale*) contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

CBM (PIGMENTOS ACETONICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 mi	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.003	0.005	0.007	0.01	0.014	0.025	0.064	0.147	0.288
	C.E	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:1	1	1	1.903	1.818	1.536	1.419	0.927	0.788	0.542
	1:2	1	1	1	1	1	1.931	1.452	0.829	0.713
	1:4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:8	1.241	1.281	1.323	1.341	1.388	1.417	1.523	1.587	1.884

En la siguiente (tabla 33) presenta la capacidad bactericida a una mínima concentración de 2 mg/ml del pigmento acetónico de berro (*Nasturtium officinale*) contra la bacteria *Bacillus cereus* ATCC 14879, ya que muestra una disminución

de la concentración en la dilución 1:1 y 1:2 con respecto a los diferentes tiempos medidos

Tabla 33. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (*Nasturtium officinale*) contra *Bacillus cereus* ATCC 14879.

CBM (PIGMENTOS ACETONICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
Bacillus cereus ATCC 14879	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.004	0.005	0.009	0.013	0.019	0.027	0.056	0.184	0.332
	C.E	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:1	1	1	1.938	1.834	1.618	1.546	0.993	0.648	0.432
	1:2	1	1	1	1	1	1	1	1	1.897
	1:4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:8	1.054	1.071	1.104	1.149	1.175	1.206	1.309	1.361	1.515

En la (tabla 34) se muestra la disminución de la absorbancias al realizar las lecturas en los diferentes tiempos de la bacteria *S aureus* contra el pigmento acetónico de berro (*Nasturtium officinale*), donde expresa la capacidad bactericida mínima en la dilución 1:1 y 1:2 en una concentración de 2 mg/ml.

Tabla 34. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (*Nasturtium officinale*) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

CBM (PIGMENTOS ACETONICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
S. aureus ATCC 25923	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.002	0.005	0.007	0.012	0.017	0.023	0.077	0.13	0.451
	C.E	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:1	1	1.981	1.909	1.637	1.484	1.311	0.944	0.813	0.636
	1:2	1	1	1	1.986	1.891	1.723	1.819	1.669	1.229
	1:4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:8	0.929	0.942	0.976	0.993	1.021	1.07	1.203	1.179	1.229

En la (tabla 35) se ilustra la disminución en la absorbancia conforme pasa el tiempo en la dilución 1:1 y 1:2 significando una menor concentración de la bacteria *S. aureus* ATCC 27543 contra el pigmento acetónico del Berro (*Nasturtium*

officinale), esto comprueba la capacidad bactericida a una mínima concentración de 2 mg/ml del extracto.

Tabla 35. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos acetónicos de berro (*Nasturtium officinale*) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 27543.

CBM (PIGMENTOS ACETONICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
S. aureus ATCC 27543	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.011	0.013	0.016	0.022	0.031	0.047	0.096	0.102	0.257
	C.E	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:1	1	1	1.974	1.793	1.621	1.528	0.96	0.921	0.712
	1:2	1	1	1	1	1	1.925	1.827	1.625	1.512
	1:4	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1:8	1.222	1.236	1.26	1.287	1.331	1.376	1.505	1.597	1.241

La (tabla 36) muestra la disminución de la concentración de la bacteria *S. aureus* ATCC 25922 con respecto a los tiempos leídos, en las que presenta capacidad bacteriostática para todas las diluciones del pigmento alcohólico de Berro (*Nasturtium officinale*) con una mínima concentración de 0.5 mg/ml.

Tabla 36. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos alcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

CBM (PIGMENTOS ALCOHÓLICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
S. aureus ATCC 25923	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.005	0.005	0.006	0.015	0.022	0.029	0.043	0.09	0.234
	C.E	0.307	0.292	0.245	0.286	0.227	0.287	0.276	0.278	1.243
	1:1	0.354	0.327	0.305	0.301	0.297	0.362	0.393	0.246	0.113
	1:2	0.221	0.209	0.18	0.178	0.17	0.24	0.285	0.201	0.179
	1:4	0.218	0.198	0.176	0.168	0.151	0.263	0.335	0.223	0.128
	1:8	0.094	0.113	0.125	0.123	0.085	0.2	0.271	0.141	0.055

En la (tabla 37) se observa una disminución de la concentración de bacteria *S. aureus* ATCC 27543 en la dilución 1:1 a medida de que transcurre el tiempo de

lectura, presentando capacidad bacteriostática en una mínima concentración de 4 mg/ml de los pigmentos alcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*).

Tabla 37. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos alcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) contra *Staphylococcus aureus* ATCC 27543.

CBM (PIGMENTOS ALCOHOLICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
S. aureus ATCC 27543	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.005	0.006	0.009	0.014	0.023	0.031	0.077	0.098	0.308
	C.E	0.224	0.228	0.235	0.23	0.23	0.248	0.242	0.236	0.24
	1:1	0.364	0.366	0.372	0.306	0.306	0.362	0.381	0.115	0.119
	1:2	0.234	0.238	0.243	0.161	0.161	0.241	0.298	0.256	0.286
	1:4	0.225	0.228	0.236	0.14	0.14	0.276	0.315	0.346	0.305
	1:8	0.159	0.162	0.177	0.098	0.098	0.235	0.281	0.221	0.252

En la (tabla 38) presenta la absorbancia leída con forme pasa el tiempo. Donde no se observa algún descenso o incremento de la absorbancia en la diferentes diluciones trabajadas con el pigmento alcohólico de Berro (*nasturtium officinale*), ante *P. aeruginosalo* ATCC 27853 que significa tener capacidad bacteriostática.

Tabla 38. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos alcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

IBM (PIGMENTOS ALCOHÓLICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.008	0.008	0.01	0.017	0.025	0.033	0.129	0.135	0.731
	C.E	0.218	0.222	0.221	0.222	0.223	0.255	0.256	0.238	0.239
	1:1	0.29	0.283	0.276	0.244	0.225	0.22	0.28	0.251	0.209
	1:2	0.139	0.138	0.136	0.107	0.096	0.218	0.233	0.204	0.242
	1:4	0.19	0.182	0.17	0.053	0.146	0.247	0.323	0.209	0.198
	1:8	0.113	0.129	0.144	0.14	0.133	0.291	0.321	0.186	0.126

En la siguiente (tabla 39) no se observa algún descenso o incremento de la concentración bacteriana leída en los diferentes tiempos trabajadas con el

pigmento alcohólicos de Berro (*nasturtium officinale*), ante *B. cereus* ATCC 14579 lo que significa tener capacidad bacteriostática.

Tabla 39. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos alcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) contra *Bacillus cereus* ATCC 14579.

IBM (PIGMENTOS ALCOHÓLICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.007	0.009	0.011	0.018	0.023	0.03	0.082	0.112	0.603
	C.E	0.225	0.223	0.233	0.231	0.23	0.239	0.238	0.253	0.248
	1:1	0.296	0.291	0.287	0.253	0.251	0.268	0.115	0.18	0.2
	1:2	0.169	0.164	0.162	0.136	0.111	0.282	0.078	0.103	0.209
	1:4	0.189	0.187	0.18	0.154	0.123	0.22	0.104	0.097	0.349
	1:8	0.085	0.093	0.095	0.076	0.044	0.131	0.044	0.044	0.339

Por último en la (tabla 40) se puede observar la disminución de la concentración de la bacteria *L. monocytogenes* ATCC 7644 en los diferentes tiempos trabajada con el pigmentos alcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*), donde expresa la capacidad bactericida mínima a una concentración de 2 mg/ml.

Tabla 40. Concentración bactericida mínima (CBM) de los pigmentos alcohólicos de Berro (*Nasturtium officinale*) contra *Listeria monocytogenes* ATCC 7644.

IBM (PIGMENTOS ALCOHÓLICOS)										
Bacteria	Dilución	Tiempo y absorbancia								
		0	5 min	15 min	30 min	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	24 hr
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	C -	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	C+	0.007	0.007	0.009	0.016	0.028	0.036	0.078	0.113	0.621
	C.E	0.222	0.227	0.23	0.229	0.233	0.233	0.236	0.233	0.248
	1:1	0.238	0.209	0.195	0.187	0.187	0.17	0.115	0.118	0.022
	1:2	0.122	0.113	0.095	0.09	0.087	0.13	0.083	0.116	0.042
	1:4	0.133	0.106	0.093	0.083	0.078	0.11	0.07	0.03	0.351
	1:8	0.038	0.029	0.018	0.015	0.01	0.91	0.014	0.042	0.119

VII DISCUSION

La investigación de las plantas en la actualidad ha ido incrementando ya que gracias a ello se comprueba que son efectivas para combatir microorganismos. En este trabajo se evaluó la actividad antibacteriana de los diferentes extractos de la plata de Berro (*Nasturtium officinale*) así como su capacidad bacteriostática o bactericida y también determinar la efectividad de los principales desinfectantes de productos hortícolas. La presente investigación aporta la comprobación de la actividad antibacteriana, dicha información podrá ser utilizada por la sociedad ya que como medicina alternativa puede emplearse para preservar la salud siendo más redituable por su bajo costo, además de que esta información puede ser una opción para la industria farmacéutica, alimentaria, entre otras, ya que los compuestos bioactivos de esta planta pueden representar un costo monetario de ganancia.

Se realizó una identificación bacteriana en medios selectivos para corroborar el tipo y saber si sus características morfológicas corresponden a la de la literatura. Se comenzó por identificar en agar MacConkey al grupo de las *Escherichia coli* de ATCC conocido como es la 25922 y la 27543 y una enterotoxigenica. Se observaron colonias aisladas, medianas, circulares, convexas y sus bordes redondeados con una coloración rosada, como lo dice la literatura (Morse S. A. *et al.* 2002; Carpenter. P.1979). El medio MacConkey es utilizado para la recuperación de enterobacterias y bacilos Gram negativos entéricos relacionados de tal manera que no permite el crecimiento de otros microorganismos. Este medio contiene sales biliares y cristal violeta que inhiben el desarrollo de las bacterias Gram positivas, como fuente de carbono tiene la lactosa y como indicador el rojo neutro, por ello se observa la coloración rosada ya que la bacteria fermentan la lactosa como fuente nutritiva de carbono. Al realizar un frotis de una de las colonias y hacerles tinción Gram para una mayor seguridad se observó colonias de bacilos de una coloración rojiza que corresponde al grupo de bacterias Gram negativas (Morse S. A. *et al.* 2002; Carpenter. P.1979).

El agar Sal y Manitol se utilizó como medio selectivo para las *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Staphylococcus aureus* ATCC 27543, lo que nos permitió observar colonias bien definidas, lisas y convexas de una coloración amarillosas, ya que como es un medio de alta concentración de cloruro sódico (75 g/l) la mayoría de los microorganismos no crece a esta concentración de sal, mientras que estas bacterias si crecen teniendo como fuente de carbono el manitol y como indicador al rojo fenol, por lo que permite aprovechar la patogenia y la capacidad fermentadora de manitol de los *Staphylococcus*, por lo tanto se observan colonias color amarillas ya que fermentan el manitol siendo indicativo de que son bacterias patógenas, al hacer el frotis de una de las colonias y hacer tinción Gram se observaron cocos agrupados en racimos con una coloración azul correspondiente a bacterias Gram positivas.

Para las bacterias *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 se usó agar Sangre como medio selectivo para estas bacterias ya que tienen capacidad hemolítica, estas bacterias producen enzimas extracelulares que actúan sobre los glóbulos rojos observando halos hemolíticos alrededor de las colonias, se determina el tipo de hemolisis que poseen: hemolisis α , es una hemolisis incompleta, caracterizada por la destrucción parcial de la membrana de los eritrocitos a simple vista, esta se detecta por la aparición de una coloración verdosa alrededor de la colonia. La beta hemolisis se caracteriza por la destrucción total de la membrana y se detecta por la aparición de un halo transparente alrededor de la colonia. Cuando los microorganismos no producen ningún tipo de hemolisis se dice que son gamma hemolíticos. En *Bacillus cereus* se observaron colonias grandes e irregulares de color verdoso con un centro brillante y un halo transparente lo que indica una β -hemolisis o hemolisis total y al hacer el frotis de una de las colonias se les realizó tinción de Gram observando bacilos largos y algunos agrupados en forma de pequeñas cadenas con una coloración azul lo que corresponde al grupo de bacterias Gram positivas. Para *Pseudomonas aeruginosa* presenta colonias redondeadas pequeñas, convexas y lisas, con una coloración blanquizca opaca y la formación de un halo transparente lo que nos indica una bacteria β hemolítica y al realizarle una tinción

de Gram a una de las colonias cuando se hizo su frotis se observó bacilos de color rojizos lo que corresponde a una bacteria Gram negativa y la bacteria *Listeria monocytogenes* en la que se observó colonias pequeñas, redondas y convexas de una coloración grisácea con un halo transparente indicativo de un β hemolisis y al realizare el frotis a una de las colonias y hacerles una tinción Gram muestra bacilos pequeños de una coloración azul, lo que corresponde a una bacteria que pertenece al grupo de las Gram positivas (Morse.*et al.* 2002; Carpenter. P.1979).

El agar SS se empleó como medio selectivo para *Shigella sonnei* S/N y *Salmonella typhimorium* ATCC 15027. Este medio lleva sales biliares las cuales inhiben a muchas enterobacterias y microorganismos Gram positivos, citrato sódico y férrico, tiosulfato y el colorante verde brillante, que permiten la visualización de microorganismos productores de sulfhídrico observándose colonias con un centro negro. El carácter diferencial se basa en la fermentación de la lactosa. Incorpora rojo fenol que permite la diferenciación de los no fermentadores de lactosa (*Salmonella spp* y *Shiguella spp*) como colonias incoloras, descrito en la literatura ya que en nuestros aislados para *Shiguella sonnei* se observa colonias incoloras, transparentes, irregulares y de un tamaño pequeño y al realizarles tinción de Gram muestra bacilos pequeños de color rojos lo que corresponde a una bacteria Gram negativa, mientras que el aislado de la bacteria *Salmonella typhimorium* se observaron colonias medianas, convexas con un borde claro y centro negro, las cuales les dan forma y vulgarmente se les llama ojo de pescado, a esta se le realizo tinción de Gram lo que permitió ver pequeños bacilos Gram negativos por su coloración roja (Morse *et al.* 2002; Carpenter.1979).

También se evaluó la contaminación de dos muestras de extracto crudo de la planta de Berro (*Nasturtium officinale*), una obtenida en un mercado de la ciudad de Morelia. Michoacán y la otra comprada en un supermercado de la misma entidad, al hacer la siembra masiva de los extractos en Agar Mueller Hinton y después del periodo de incubación, se observó más crecimiento de bacterias en la muestra del extracto obtenida en el mercado a comparación de la del supermercado, esto se debe a que el supermercado obtiene los vegetales de

empresas que las someten a un proceso de limpieza (SAGARPA y SENASICA), además de que en ambas muestras se observaron diferentes características morfológicas del crecimiento de las bacterias al ser incubadas, esto se asocia a que la planta conseguida en el mercado no es del mismo lugar donde se abastece el supermercado e intervienen factores muy importantes como es el tratamiento de limpieza para las plantas, el berro que es abastecido en el mercado es recolectado de ríos, lagos y del campo, lugares donde no hay un tratamiento para la limpieza de las plantas, además de que están en contacto con la contaminación que propicia el humano como la basura, además de aguas negras o tratadas, mientras que el berro del supermercado es de invernaderos en los que el agua para alimentar a la planta proviene muchas veces de ríos o lago y esta es administrada a través del riego pero cuando ésta es escasa el agua utilizada proviene de aguas residuales o aguas negras y esta provoca una contaminación (Cisneros. 2003; Prieto. 2004).

Se realizó una tinción de Gram para observar la morfología microscópica, además de proporcionar información sobre el grupo de bacterias al que pertenecen siendo estas, Gram negativas o Gram positivas, encontrando una mezcla de bacterias y que existen tanto Gram positivas como negativas y en cuanto a su morfología microscópica encontramos cocos, cocobacilos, bacilos, etc., esto concuerda con la literatura ya que se ha reportado que las aguas negras son la principal fuente de organismos patógenos debido al desembogue de los drenajes. Estas aguas se usan con frecuencia para el riego de cultivos de hortalizas (Carpenter, P. 1979), algunos ejemplos de los microorganismos patógenos presentes en las aguas contaminadas y de origen entérico tales como: *Salmonella*: Bacilos (Gram negativos), *Shigella*: Bacilos (Gram negativos), *Vibrio cholerae*: bacilos (Gram negativos), *E. coli*: bacilos (Gram negativos), *S. aureus*: cocos (Gram positivos), además de encontrar diferentes agentes infecciosos como son parásitos y virus (Apella. 2006).

Se evaluó la efectividad de antibacterianos comerciales, dos diferentes desinfectantes para tratar las dos distintas muestras de extracto crudo de berro

(*Nasturtium officinale*) uno fue cloro comercial y el otro desinfectante a base de plata ionizada al 0.35%, se observó que el cloro y el desinfectante a base de plata son buenos antibacterianos, ya que limitan el crecimiento bacteriano en comparación con la muestra analizada anteriormente que no fue tratada con ningún desinfectante, además de que al comparar estos dos desinfectantes se observa que el cloro es mejor desinfectante ya que al hacer la siembra del extracto crudo del berro de mercado y del supermercado previamente lavados y desinfectados en un periodo de tiempo determinado no presentan el mismo crecimiento, esto porque en el proceso de desinfección lisan muchos de los microorganismos que estas plantas contienen en su exterior, analizando que el crecimiento que se observa se podría deber a que es parte de la flora normal de la planta, ya que se sabe que las plantas contienen bacterias en su flora normal, mismas que son utilizada por éstas plantas en diferentes procesos bioquímicos (Pérez. 2012).

Al observar el crecimiento bacteriano de cada una de las muestras se realizó tinción de Gram para obtener información microscópica y saber el tipo de microorganismos que contiene dicho crecimiento, se observa que para el caso del extracto crudo de berro obtenido del mercado y llevado al proceso de desinfección con ambos desinfectantes se pueden apreciar cocos y bacilos Gram negativos, mientras que el extracto crudo de berro del supermercado llevado al proceso de desinfección con cloro comercial se observan bacilos Gram negativos y pocos bacilos Gram positivos, lo que corresponde a la literatura ya que menciona que los microorganismos como las bacterias coliformes corresponden a la flora normal del suelo, vegetación y agua. Estas pertenecen al grupo de las Enterobacterias las cuales tienen la capacidad de colonizar el interior de las plantas y desarrollarse como patógenos oportunistas. Este grupo de Enterobacterias posee resistencia a antibióticos y sobreviven por largo tiempo en el suelo. Los agentes bacterianos pueden ser *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter* y *Proteus*, todos Bacilos (Gram *negativos*), estos siendo los más comunes encontrados en el interior de las plantas (Pérez. 2012).

Por lo anterior se recomienda utilizar el cloro como agente desinfectante para vegetales (frutas y hortalizas), ya que éste es más eficaz para desinfectar y así prevenir algún tipo de infección causada por microorganismos.

En este trabajo se llevaron a cabo extractos de la planta de berro (*Nasturtium officinale*), el extracto acuoso, pigmentos acetónicos, pigmentos alcohólicos y la fracción sin pigmento con la finalidad de probar su capacidad antibacteriana contra el grupo de bacterias presentadas en la (tabla 6). En relación con la actividad antibacteriana del extracto crudo de la planta, se debe a que éste contiene todos los componentes los cuales interactúan con la bacteria y provocan una inhibición, a los componentes que se les atribuye dicha actividad son tanto compuestos poco hidroxilados como carotenoides, clorofilas (a y b) y catequinas y compuestos altamente hidroxilados o glicosilados como tirilósido, astragalina y quercetina 3-O-glucosa (Monge E et al, 1984; Avilés A et al., 2008). A comparación de la fracción sin pigmentos la cual no ocasionó ningún efecto, esto porque no contiene ninguno de los componentes a los que se les atribuye dicha actividad.

En cuanto a los extractos acetónicos y alcohólicos se encontró que presentan la capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano contra la mayoría de las bacterias ATCC con las que se trabajó, por lo que podemos decir que la actividad antibacteriana encontrada en los extractos es causada por los componentes presentes en los pigmentos en esta planta, como son carotenoides, terpenoides o flavonoides, estos últimos son sustancias naturales que se encuentran ligados, la mayoría de las veces, a carbohidratos y se les atribuye la actividad antibacteriana (Monge. et al, 1984; Avilés. et al., 2008; Tereschuk. et al., 2007).

Con los resultados obtenidos se comprueba la capacidad antibacteriana del berro (*Nasturtium officinale*) para diferentes bacterias ATCC en comparación con un trabajo donde sólo se encontró que el extracto hexánico de *N. officinale* era muy eficaz contra 3 diferentes bacterias patógenas como son *S. aureus*, *B. subtilis* y *P. aeruginosa*, mientras que otros extractos como el etanólico, acuoso y acetónico no fueron efectivos (Penecilla y Magno, 2011).

Por último para evaluar la capacidad bactericida mínima que presentaron los diferentes extractos de la planta de Berro (*Nasturtium officinale*) se hicieron curvas de crecimiento por el método de Courvalin *et al* (2006), este método nos permite determinar la lisis bacteriana (bactericida) o si solo detiene su crecimiento (bacteriostático). En este ensayo se comprobó que el extracto acuoso del berro tiene la capacidad bactericida contra *E. coli* ATCC 25922 lisando a la bacteria en la dilución 1:1 que corresponde a una mínima concentración de 0.4727 mg/ml como se ilustra en la (tabla 26), además de tener esta misma característica para la bacteria *S. aureus* ATCC 27543 como se observa en la (tabla 27), donde en ambos resultados se observa una disminución de la lectura de la concentración de la bacteria conforme transcurre el tiempo, mientras que en las demás diluciones existe un incremento, esto sucede a razón de que en la dilución 1:1 del extracto acuoso contiene los componentes, como son compuestos poco hidroxilados y sustancias altamente hidroxiladas o glicosiladas, además de que en esta dilución estos compuestos están concentrados, lo que ayuda a inhibir el crecimiento bacteriano hasta provocar una lisis de la bacteria (Monge. *et al*, 1984; Avilés. *et al.*, 2008).

En el caso del pigmento acetónico se comprobó que tiene la característica de ser bactericida para casi todas las bacterias como se muestra a continuación: *En el caso de las Escherichia coli, la ATCC 25922, ATCC 27543 y la enterotoxigenica* se observó que este extracto ocasiona la lisis de la bacteria y esto se ve reflejado en el descenso de las lecturas de la absorbancia conforme transcurre el tiempo, para de *Staphylococcus aureus tanto la ATCC 25923 como ATCC 27543* se muestra un descenso de la concentración de las bacterias con respecto al tiempo que se mide.

Otro caso donde se observó un descenso en la concentración de las bacterias al leerlas en unidades de absorbancia para este extracto fue en *Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853* así como *Bacillus cereus ATCC 14579* donde presentó una disminución de su concentración a medida que pasa el tiempo de lecturas. Por último en la bacteria *Shigella sonnei S/N* el pigmento acetónico es menos

eficaz para provocar su lisis ya que la disminución de la concentración de esta bacteria va disminuyendo desde la dilución 1:1 conforme van pasando las lecturas mientras que en el resto registra el descenso en la dilución 1:2, estos resultados se asocian con la literatura ya que menciona que los pigmentos acetónicos contienen compuestos poco hidroxilados como son la clorofila y carotenoides, compuestos a los que se les atribuye dicha actividad (Monge. et al, 1984; Marcano y Hasegawa. 1991).

En el caso del pigmento alcohólico se observó actividad bactericida contra cinco de las diez bacterias con la que se trabajó los microorganismos que mostraron inhibición de su crecimiento, fueron las siguientes: El grupo de las *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y ATCC 27543 enseñando una mayor eficacia para la *S. aureus* ATCC 25923 ya que se observa un descenso de las lecturas al pasar el tiempo de medición desde la dilución 1:4, misma que desde entonces provoca una lisis de la bacteria, mientras que el *S. aureus* ATCC 27543 muestra este descenso mencionado anteriormente en la dilución 1:1, otra bacteria en la que este extracto presenta actividad bactericida es contra *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 debido que al realizar el ensayo se observa un descenso de su concentración con respecto al tiempo de medición provocando su lisis.

Por último se observó que el pigmento alcohólico solamente tiene la capacidad de ser bacteriostático para las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27859 y *Bacillus cereus* ATCC 14579 ya que no presenta ningún descenso ni ascenso de la concentración bacteriana al efectuar las lecturas durante el tiempo marcado, estos resultados de los pigmentos alcohólicos se le atribuyen a que contienen componentes altamente hidroxilados como flavonoides y polifenoles, compuestos a los que se les adjudica dicha actividad inhibitoria (Tereschuk. et al., 2007; Marcano y Hasegawa. 1991).

Es importante mencionar que estos datos aportan ampliamente a la investigación, ya que no hay muchos estudios que relacionen los extractos de esta planta como agente antibacteriano, además de que no hay estudios que relacionen esta planta con su característica de ser bacteriostática o bactericida.

Por último podemos mencionar que los extractos de Berro (*Nasturtium officinale*), podrían ser usados como fuente de principios bioactivos con fines medicinales al consumirlos como alimento contra las enfermedades que desencadenan las bacterias empleadas en el presente trabajo, una vez realizados estudios más profundos que aseguren la utilidad para el consumo humano.

VIII CONCLUSION

Los extractos de la planta del Berro (*Nasturtium officinale*) tienen actividad antibacteriana.

El cloro es el desinfectante más efectivo para eliminar agentes infecciosos en vegetales (frutas y hortalizas).

El extracto crudo de Berro (*Nasturtium officinale*) presenta actividad antibacteriana contra *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923 (CIM de 0.4727 mg/ml), además de tener la capacidad bactericida para ambas bacterias.

Los pigmentos acetónicos presentan actividad antibacteriana contra *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 27543, *E. coli* ATCC 27543, ETEC S/N, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *B. cereus* ATCC 14579 (CIM de 2 mg/ml), y, *S. sonnei* S/N (CIM de 4 mg/ml) además de que este extracto tiene la capacidad de ser bactericida mencionando que es menos eficaz para esta última por la concentración requerida para provocar su apoptosis.

Los pigmentos alcohólicos presentan actividad contra cepas ATCC como son: *S. aureus* ATCC 25923 (CIM de 1 mg/ml) y *S. aureus* ATCC 27543, *B. cereus* ATCC 14579, *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *L. monocytogenes* ATCC 7644 (CIM de 0.5 mg/ml), además de que este extracto tiene la capacidad de ser bacteriostático y bactericida, esta última característica aplica para las bacterias *S. aureus* ATCC 27543, *L. monocytogenes* ATCC 7644 y *S. aureus* ATCC 25923 donde ocasiona una apoptosis, para esta última bacteria siendo el más efectivo ya que ocupa una menor concentración para lisar por completo a la bacteria en comparación a las otras dos bacterias que ocupan una mayor concentración y la capacidad bacteriostática para las bacterias *B. cereus* ATCC 14579 y *P. aeruginosa* ATCC 27853, ya que aunque este extracto provoca una inhibición bacteriana, esta no es la suficiente para provocar su lisis, por ello solo detiene su crecimiento.

IX PERSPECTIVAS

Analizar los extractos y determinar qué compuesto es el que desencadena la actividad antibacteriana.

Estudiar cuál es el mecanismo de acción mediante el cual actúan los componentes de la planta de berro (*Nasturtium officinale*).

Evaluar y comparar más tipos de desinfectantes ante el extracto crudo, FSP y pigmentos alcohólicos y acetónicos.

X REFERENCIAS

- Apella M. Araujo P. 2006. Microbiología de Agua. Conceptos básicos. Revista Solar Safe Water. 2: 33-50.
- Artistil Chéry P. M. 2010. Manual de Farmacología Básica y Clínica. Quinta Edición. Mc Graw Hill. México, D.F. Cap. 28: 251–271.
- Arias-Echandi M. L. y Florencia Antillón G. 2000. Contaminación microbiológica de los alimentos. Facultad de Microbiología. Universidad de Costa Rica. San José. Costa Rica. Rev Biomed. 11: 113–122.
- Ardila M. I. et al 2009 Ensayo Preliminar de la actividad antibacteriana de extratos de *Allium sativum*, *Coriandrum sativum*, *Eugenia Caryophyllata*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis* Y *Thymus vulgaris* frente a *Clostridium perfringens*. Departamento de Ingeniería, Facultad de Ingenierías, Universidad de Caldas. Manizales, Caldas Colombia. Biosalud.8:47-57.
- Avalos Alas C. Y. y Santacruz Martínez F. R. 2009. Determinación de contaminantes microbiológicos en las ensaladas frescas que se comercializan en establecimientos de comida rápida del distrito dos de la zona metropolitana de san salvador. Universidad del Salvador. Tesis Doctoral: 17 -18.
- Avilés A, Bermúdez K, Herrera ML. 2008. Efecto antidepresivo y caracterización química de hojas de plantas silvestres y cultivadas en condiciones de invernadero de *Tilia americana* var. *mexicana*. Tesis de Maestría. IPN: 7-95.
- Britania. 2010. Apuntes de Laboratorio. Vol 3. Laboratorio Britania S.A. Los Patos 2175 (C1283ABI) CABA - ARGENTINA. Disponible en: www.britanialab.com

- Barker, D.J. 2009. *Nasturtium officinale* (Watercress) Pacific Northwest Aquatic Invasive Species Profile. United States of America 47: 1-9.
- Botanical Online. Propiedades del Berro. Propiedades del Berro. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/medicinalsberro.htm>. Última consulta el 2 de Agosto del 2014.
- Bradford MM. 1975. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal Biochem.* 72: 248-254.
- Castañeda Casimiro, J., Ortega Roque, J.A., Venegas Medina, A.M. Aquino Andrade, A. Serafín López, J. Estrada-Parra, S. and Estrada, I. (2009). Péptidos antimicrobianos: péptidos con múltiples funciones. *Alerg Asma Inmunol Pediatr* 18 (1): 16-29.
- Carpenter P. L. 1979. *Microbiología*. México DF. Interamericana. 4ta. Edición. cap. 21: 404–411.
- Cisneros Almazán R. 2003. *Apuntes de Riego y Drenaje*. Centro de investigación y estudios de posgrado y área agrogeodésica. Cap. 1: 7–10.
- CONEVAL, 2012. *Evaluación Integral de la Secretaría de Salud. Inf. Pobr. En México*: 7–68.
- Courvalin, P., Leclercq, R. and Bingen, E. 2006 *Cinétique de l'activité bactéricide*. In *Antibiogramme 2ème*. Editions ESKA. Paris. 32: 60-63.
- www.coneval.gob.mx. 2010-2014 Indicadores de acceso y uso efectivo de los servicios de salud de afiliados al Seguro Popular. Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social. México. DF.
- Conway, P. 2011. *Phytotherapy in context*. In *The Consultation in Phytotherapy*. *Journal of Herbal Medicine* (Elsevier). 2: 1–38.

- Cruz Magalhaes B. M. 2005. Aplicação do extrato de agrião d'água (*Nasturtium officinale* R. Br.) no controle da placa bacteriana: uma proposta para a saúde pública. Maestrado e Teses Curitiba. Brasil.
- Dawes C. 1989. Botánica Marina. Editorial Limusa. Hill México.DF. 6: 209.
- Derecho a la Salud. Folleto Informativo. No. 31. Derechos Humanos. OMS/ONU. Disponible en: <http://www.ohchr.org/Documents/Publications/Factsheet31sp.pdf> Citado: 03 de agosto del 2014.
- Duran, N.,Teixeira, M. F.S., De Conti, R.and Espósito, E. 2002. Ecological Friendly Pigments from Fungi. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 42(1):53-66.
- ENSANUT, 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Resultados nacionales Primera Edición. Instituto Nacional de Salud Pública. Cuernavaca, Morelos, México.
- FRA. 2014. European Union Agency for Fundamental Rights. Disponible en: http://fra.europa.eu/en/fraWebsite/research/projects/proj_multipliediscriminati onhealthcare_en.htm. Citado: 03 de agosto del 2014.
- González Flores. T. *et al* 2006. Detección e identificación de bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. Guadalajara. Jalisco. México. 31(2): 69-76.
- Hernández Cortez, C., Aguilera Arreola Ma, M.G., and Castro Escarpulli, G. 2011. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. Enfermedades Infecc. Microbiol. 31 (4): 137-151.
- Ibáñez, V. L. 2002. Importancia de la investigación en plantas medicinales. Folium. 34. México. Instituto de Química. UNAM. México. 15(46): 1-4.

- INMUJERES/UNIFEM, 2000-2006. El enfoque de género en la producción de las estadísticas sobre salud en México. Diseño: Arroyo y Cerda, S.C. Editorial Sestante, S.A. de C.V. México. DF.
- Ikan, R. 1991. Natural products. A laboratory Guide. 2° Ed. Academic Press. San Diego. California. 10: 360.
- Infante Latigua. R. E. *et al*, 1998. Plantas medicinales de uso tradicional en Pinar del Rio. Estudio Etnobotánico. 1. Rev. Cubana Farm. Habana Cuba. 32 (1):57-62.
- Jensen W. y F. Salisbury. 1988. Botánica. 1ra Edición. Editorial Mc Graw Hill. México. DF: 762.
- Klacnik *et al* 2010. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. Department of Food Science and Technology, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana. Journal of microbiological methods. Jamnikarjeva. Ljubljana, Slovenia. 81(2): 121-126.
- Kohanski, M.A. Dwyer, D.J. y Collins, J.J. 2010. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. Nat. Rev. Microbiol. 8: 423–435.
- La nutrición de las plantas. Unidad 10. Cap 3. Las plantas y la contaminación atmosférica. 2009. 3. Disponible en: <http://www.slideshare.net/fmedin1/plantas-y-contaminacion>.
- Marcano. D y Hasegaw. M 1991. Fotoquímica orgánica. Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela. 33(9): 451.

- Melgarejo L, M, Moreno L, Solarte M. E. 2010. EXPERIMENTOS EN FISIOLÓGÍA VEGETAL Cap. 6. FOTOSÍNTESIS Y PIGMENTOS VEGETALES. 1° edición. Universidad Nacional de Colombia. 9: 107–122.
- Magaña, A., Campillo, L.M.G., and Méndez, R.M. 2010. El uso de las plantas medicinales en las comunidades mayachontales de Nacajuca, Tabasco, México: 213–262.
- Maroyi, A. 2013. Traditional use of medicinal plants in south-central Zimbabwe: review and perspectives. J Ethnobiol Ethnomed 9: 31.
- Maya Ambía C. J. 2012. Efectos de la globalización de las cadenas de valores, subordinación de los horticultores mexicanos al sistema de distribución de los estados unidos. Ed. Fundación Cajamar. Universidad Autónoma de Sinaloa. 4: 158-175.
- MCD LAB 2009. MCD LAB, S.A. de C.V. Blv. Centro Industrial. Fracc. Ind. Puente de Vigas. Tlalnepantla, Edo de México.
- Mayaud L. *et al* 2008 Comparision of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. Laboratoire d'Antibiologie, Pavillon de Biologie, CHU Hopital Nord, Saint Etienne Cedex 2, France. 47(3):167-173.
- Mediavilla, A., Flórez, J. y García-Lobo, J.M. 1997. Farmacología de las enfermedades infecciosas: principios generales, selección y asociaciones de antibióticos. 3° Ed. Ed Masson S.A. En Farmacología Humana. Barcelona España: 7–177.
- Mesa, M.D.; Ramírez-Tortosa, M.C.; Aguilera, C.M.; Ramírez-Boscá A. y Gil, A. 2000. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de *Curcuma longa* L. y de los curcuminoides. Ars Pharmaceutica. 41(3): 307-321.

- Monge E, Val J, Heras L. 1984. Análisis cuantitativo de pigmentos en plantas superiores por HPLC. An. Estac. Exp. Aula Dei. 17(1-2): 60-66.
- MORGAN, R. 1997. Enciclopédia das Ervas e Plantas Medicinais. 8ªed. Ed. Hermus, São Paulo: 555.
- Muriel, E. 2000. La Dimensión Ambiental en la Educación. Revista de Investigación Geográfica. Harvard University. Estados Unidos. 2: 197-206.
- Murray, R., Rosenthal, S., Pfaller, M., 2006. Microbiología Médica. 5ta edición. Madrid, España. ELSEVER: 323-338.
- Naturalista. Disponible en: <http://conabio.inaturalist.org/taxa/78174-Nasturtium-officinale>. Citada: 7 de septiembre del 2014.
- Nasturtium officinale – Watercress. Disponible en: <http://www.fireflyforest.com/flowers/3401/nasturtium-officinale-watercress/> citada: 08 de septiembre del 2014.
- Navarro Cruz, A.R., Padilla Velazco, A.L., Dávila Márquez, R.M., Tlahuis, P. del Rosario, M., Sánchez, S., and Ávila, R. 2008. Evaluación de la actividad antioxidante del berro (*Nasturtium officinale*). Rev. Soc. Quím. Perú 74: 40–45.
- Olivas E. E. y Alarcón L.R. 2004. Manual de prácticas de microbiología básica y microbiología de alimentos. Preparación de medios de cultivo. 1er. Edición. Universidad Autónoma de Ciudad de Juárez. Departamento de Ciencias Básicas del ICB. Academia de Microbiología y Parasitología. Instituto de Ciencias Biomedicas. Ciudad Juárez. Chihuahua. Practica 4:19-22.
- Pelczar M.J. y Reid R.D. 1980. Microbiología. Mc Graw Hill. 2º ed.: 59 – 60.

- PNS, 2007-2012. Programa Nacional de Salud. Por un México sano: construyendo alianzas para una mejor salud. Primera edición Secretaria de salud. México. DF.
- Penecilla L. G. y Magno P.C. 2011. Antibacterial activity of extracts of twelve common medicinal plants from the Philippines. Journal of Medicinal Plants Research. Biological Sciences Department. West Visayas State University Luna Street. La Paz, Philippines. 5(16): 3975-3981.
- Pérez, S., 2012. BACTERIAS COLIFORMES PRESENTES EN EL BIOSOLIDO MUNICIPAL COMPOSTADO: 19, Disponible en <http://media.proquest.com.etchconricyt.idm.oclc.org/media/pq/classic/doc/2913242571/fmt/ai/rep/NPDF?hl=&cit%3Aauth=Perez->
- Prieto J. 2004. El agua: sus formas, efectos, abastecimientos, usos, daños, control y conservación. 2° ed. Eco Ediciones: 380
- Puelles Gallo, M., Gómez Galarza, V. y Moris, J.M. 2010. Las plantas medicinales de Perú: etnobotánica y viabilidad comercial. España, Madrid. 9: 144.
- Rivas. B.S, Sada. E., Hernández-Pando, R., and Tsutsumi, V. 2006. Antimicrobial peptides in the innate immunity of infectious diseases. Salud Pública México 48: 62–71.
- Rodríguez-Echeverry, J.J. 2010. Uso y manejo tradicional de plantas medicinales y mágicas en el valle de Sibundoy, alto Putumayo, y su relación con procesos locales de construcción ambiental. Rev Acad Colomb Cienc 34:309–326.
- Saavedra M. J. *et al* 2013. Antibacterial activity and synergistic effect between watercress extracts, 2-phenylethyl isothiocyanate and antibiotics against 11 isolates of *Escherichia coli* from clinical and animal source. Letters in Applied Microbiology 57(4): 266-273.

- Salud y buenos alimentos. Disponible en: <http://saludybuenosalimentos.es/alimentos/index.php?s1=Verduras%2FHortalizas&s2=Hojas&s3=Berro> Citada el 8 de septiembre del 2014.
- Schuck, Virna J.A.; Fratini, Marisa; Rauber, Cristiane S.; Henriques, Amélia E Schapoval, Elfrides E.S. 2001. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 37(1):45-49.
- Seija, V., and Vignoli, R. 2008. Principales grupos de antibióticos. Temas Bacteriol. Virol. Médica. cap. 34: 631–647.
- SEDESOL, 2011. Publicación informativa de la Subsecretaría de Prospectiva, Planeación y Evaluación. Gobierno Federal. Número 6. México. DF.
- Sharapin N.et al 2000 Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Colombia media 1°. Edición. CYTED. Bogotá, Colombia. 26(1): 17-26.
- SILVA, R. C. 2001. Plantas medicinais em Saúde Bucal. Vitória. Artgraf. Rios de Janeiro Brasil: 136.
- Tafur J. D, Torres J.A. María, Villegas. V. 2008. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. Rev. SCIELO. Centro Internacional de Investigaciones Médicas, CIDEIM, Cali, Colombia. 12(3): 227-232.
- Téllez, G.A., and Castaño, J.C. 2010. Antimicrobial peptides. Infection. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia 14(1): 55–67.
- Tereschuk ML, Quarenghi MV, Gonzáles M, Baigori MD. 2007. Actividad antimicrobiana de flavonoides aislados de Tagetes del NOA. Bol. Plant. Med. Latinoam. Caribe Aromat. 6(6): 364-366.

- Toledo de Oliveira, T.; *et al.* 2004. Propiedades biológicas de los tintes naturales. Editorial Universidad de Granada, Facultad de Farmacia. Ars Pharmaceutica. España. 45(1): 5-20. Disponible en: (<http://hdl.handle.net/10481/28175>).
- Univirsity of Wisnonsin Stevens Point Disponible en: <http://wisplants.uwsp.edu/scripts/detail.asp?SpCode=nasoff> citada: 08 de septiembre del 2014
- Villarruel, R., Huizar, R., Corrales, M., Sánchez, T., and Islas, A. 2004. Péptidos naturales antimicrobianos: escudo esencial de la respuesta inmune. Investig. En salud. UNAM. Estado de México. 6(3): 170–179.
- Wani,K.S., Naphade, B.S. Chaudhari, B.L. and Chincholkar, S. B. 2004. Pigment Production in Concise Encyclopedia of Bioresource Technology The Haworth Reference Press, Inc. 645-652.
- Wikipedia Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Nasturtium_officinale citada: 08 de septiembre del 2014.
- World Health Organization 2007. WHO monographs on selected medicinal plants: V.3. Printed in Spain. Ottawa, Ont.