

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA  
CÁSCARA DE *Sechium edule* SOBRE LA BACTERIA GRAM POSITIVA  
*Micrococcus luteus*.**

**Tania Lizeth Cañón Buitrago**

**Gleiny Viviana Dorado Mamian**

**Corporación Tecnológica de Bogotá**

**Tecnología en Regencia de Farmacia**

**Bogotá, Colombia**

**2016**

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA  
CÁSCARA DE *Sechium edule* SOBRE LA BACTERIA GRAM POSITIVAS  
*Micrococcus luteus*.**

**Tania Lizeth Cañón Buitrago**

**Código: 06122062**

**Gleiny Viviana Dorado Mamian**

**Código: 06122098**

**Proyecto de Investigación para optar por el título de Tecnólogo en Regencia  
de Farmacia**

**Directora**

**MSc. Andrea Chiappe Pulido**

**Corporación Tecnológica de Bogotá**

**Tecnología en Regencia de Farmacia**

**Bogotá, Colombia**

**2016**

## **AGRADECIMIENTOS**

*Un sueño no se convierte en realidad a través de la magia, sino a través de la dedicación, esfuerzo y trabajo duro. Son pocas las palabras con las que puedo describir lo agradecida que me encuentro con las personas que al pasar del tiempo me han brindado su cariño y apoyo:*

*A Dios por haberme dado la oportunidad de existir, porque cada día me regala una bendición y porque sin su ayuda no hubiese alcanzado este logro.*

*Agradezco a mi padre por su apoyo incondicional, por sus consejos, por ser el padre que todo hijo desea tener y que yo tengo la fortuna de abrazar.*

*Le doy gracias a mi madre por criarme e infundir valores en mí, por acompañarme siempre, en todos los momentos sin condiciones y por ser una gran madre.*

*A mis hermanos Andrey y Lorena por compartir mis decisiones, alentar mis pasos y darme motivación para seguir adelante.*

*A Giovanni quien se ganó un espacio en mi corazón y desde el momento que llego a mi vida se convirtió en una persona incondicional y un fiel compañero.*

*A mis amigas de la CTB Diana, Lorena, María y Viviana por brindarme tantos momentos de felicidad y acompañarme a lo largo de mi proceso de formación.*

*A la profesora Andrea por su acompañamiento a lo largo del trabajo de investigación, por hacernos ver nuestros errores y guiarnos para poderlos resolver.*

*-Tania Lizeth Cañon Buitrago*

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios sobre todas las cosas, por ser él quien me mueve cada día y me da las oportunidades para poder crecer, sin él en mi vida, que sería de mí, a Dios mi amor eterno.*

*Todo mi cariño y mi amor para esas personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por educarme, amarme, enseñarme, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino era difícil, a ustedes por siempre les doy mi vida, mi corazón y mi agradecimiento, a ustedes mis amados padres gracias por creer en mí, mis logros son para ustedes mi amado John y María.*

*A mi hermana Tatiana, por ser la amiga y compañera con la que tengo la bendición de crecer, gracias por estar conmigo en todo momento y preocuparte por tu hermana mayor, por compartir tu vida con la mía, pero sobre todo, por estar conmigo en todos los momentos de mi vida y ahora con otra bendición: Sara.*

*A tu paciencia y comprensión, donde sacrificabas tu tiempo para que yo pudiera cumplir con el mío. Por tu bondad, tu amor incondicional, por tus esfuerzos y por hacerme feliz, gracias por estar siempre a mi lado, Alexander.*

*A mis compañeras de clase Lorena, María, Tania y Diana, por hacer de las clases las mejores y por pasar momentos agradables en este proceso de formación, las quiero!*

*A mi profesora de Tesis Andrea Chiappe por confiar en este proyecto y sus enseñanzas.*

*Y a todas a esas personas importantes en mi vida, que siempre estuvieron listas para brindarme toda su ayuda, ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado. Con todo mi cariño está tesis se las dedico a ustedes.*

*-Gleiny Viviana Dorado Mamian*

*Cuéntame y olvido.  
Enséñame y recuerdo.  
Involúcrame y aprendo.  
-Benjamin Franklin.*

## Contenido

### RESUMEN

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
4. OBJETIVOS.....	9
4.1 Objetivo General .....	9
4.2Objetivos Específicos.....	9
5. ANTECEDENTES.....	10
6. MARCO REFERENCIAL.....	14
6.1 Familia <i>Cucurbitaceae</i> : Generalidades.....	14
6.2 <i>Sechium edule</i> (Guatila).....	14
6.2.1 Clasificación Taxonómica.....	14
6.2.2 Descripción Botánica de la <i>Sechium edule</i> .....	15
6.3 Infecciones Cutáneas .....	17
6.4 Familia Micrococcaceae.....	17
6.5 <i>Micrococcus luteus</i> .....	19
6.6 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	20
6.6.1 Epidemiología del <i>Staphylococcus aureus</i> .....	21
6.6.2 Métodos de Control .....	22
6.7 Ensayos de actividad biológica.....	22
6.7.1 Evaluación de la actividad antibacteriana.....	22
6.8 Metabolitos Secundarios.....	23
7. METODOLOGÍA.....	25
7.1 Extracción de metabolitos secundarios.....	26
7.1.2 Método de Maceración (Extracto etanólico).....	26
7.1.3 Método de Soxhlet (Fracción lipídica).....	26
7.2 Marcha Fitoquímica Preliminar .....	26
7.5 Ensayos de actividad biológica.....	30
7.5.1. Método de Difusión en Disco.....	30
8.1 Método de Maceración .....	34

<b>8.2 Método de Soxhlet</b> .....	34
<b>8.3 Aislamiento bacteria (<i>Micrococcus luteus</i>)</b> .....	34
<b>8.4 Marcha Fitoquímica</b> .....	35
<b>8.4.1 Carotenoides</b> .....	37
<b>8.4.2 Esteroles y Triterpenos</b> .....	37
<b>8.4.3 Taninos</b> .....	37
<b>8.4.4 Flavonoides</b> .....	39
<b>8.4.5 Quinonas</b> .....	39
<b>8.4.7 Cardiotónicos</b> .....	41
<b>8.4.9 Cumarinas</b> .....	42
<b>8.4.10 Alcaloides</b> .....	43
<b>9. RECOMENDACIONES</b> .....	50
<b>CONCLUSIONES</b> .....	52
<b>ANEXO 1</b> .....	53
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	54

## RESUMEN

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la acción antibacteriana de la cáscara de la *Sechium edule* sobre bacterias Gram positivas, (usando como organismo de ensayo la bacteria *Micrococcus luteus*), causantes de diversas enfermedades infecciosas en los tejidos y órganos del cuerpo y que son consideradas como una problemática en el sector hospitalario, donde la mayor urgencia se presenta en pacientes inmunodeprimidos. Para la obtención de los metabolitos secundarios presentes en la cáscara de *Sechium edule* se llevaron dos técnicas de extracción, extracción por maceración (extracto etanólico) y extracción por Soxhlet (fracción lipídica), posteriormente por medio de un antibiograma se estableció la concentración necesaria de inhibición mediante ensayos biológicos de difusión de disco a diferentes concentraciones de la fracción lipídica y el extracto etanólico, siendo este el que presentó la mayor actividad antibacteriana frente a este microorganismo, donde las concentraciones de 125 y 150 ppm son las óptimas para la inhibición. El análisis fitoquímico de la cáscara de la *Sechium edule* demostró la presencia de alcaloides, carotenoides esteroides y quinonas.

**Palabras clave:** Actividad Biológica, Gram positivas, *Sechium edule*, Inhibición, *Micrococcus luteos*.



## ABSTRACT

The main objective of this study was to evaluate the antibacterial action of the shell *Sechium edule* on Gram positive bacteria (using as a test organism bacteria *Micrococcus luteus*), causing various infectious diseases in tissues and organs of the body and are considered as a problem in the hospital sector, where most emergency occurs in immunocompromised patients. For obtaining secondary metabolites present in the shell of *Sechium edule* two extraction techniques, extraction is carried by maceration (ethanol extract) and extraction by Soxhlet (lipid fraction), then through an antibiogram the necessary concentration of inhibition was established bioassays using disk diffusion at different concentrations of lipid fraction and the ethanol extract, this being that had the highest antibacterial activity against this microorganism, where concentrations of 125 and 150 ppm are optimal for inhibition. The phytochemical analysis of shell *Sechium edule* showed the presence of alkaloids , carotenoids, sterols , and quinones.

Keywords: Biological Activity, Gram positive, *Sechium edule*, inhibition

## 1. INTRODUCCIÓN

Diversos estudios epidemiológicos realizados en América latina demuestran que es una de las regiones con más alta incidencia de infecciones intrahospitalarias por diversas bacterias que presentan resistencia a numerosos medicamentos, esta resistencia es un problema de salud pública que se creía superado desde el descubrimiento del antibiótico, sin embargo estos microorganismos han sido capaces de evadir su mecanismo de acción, un ejemplo claro de resistencia antibiótica es la bacteria *Staphylococcus aureus*, clasificada como una bacteria Gram positiva que a veces se torna resistente a los antibióticos como la penicilina (SARM) y pasa a ser responsable de una alta tasa de mortalidad y morbilidad (Rincón , y otros, 2014). Dentro de las bacterias Gram positivas encontramos la familia *Micrococcaceae* integrada por los géneros *Micrococcus*, *Planococcus* y *Staphylococcus*, generalmente este último es el que mayor daño causa en el ser humano (Lozoya, 2015) debido a que en algunos casos el *Staphylococcus aureus* puede entrar al torrente sanguíneo desde el lugar de infección y alcanzar otros tejidos del cuerpo (Boehme, S.F). Las distintas especies del género *Micrococcus* se encuentran formando parte de la flora normal de la piel del hombre. Cuando se aíslan en muestras clínicas, con frecuencia se consideran contaminantes del ambiente, de la piel, o de la superficie de las mucosas, aunque excepcionalmente pueden causar infecciones como endocarditis o bacteriemia en huéspedes susceptibles, pese a que los *Micrococcus* pueden comportarse como un patógeno oportunista en el área hospitalaria debido a que se puede introducir en maquinaria hospitalaria, inclusive en equipos ligados al sistema inmune afectando a pacientes con enfermedades como virus de inmunodeficiencia humana (VIH). No es fácil reconocer una infección producida por esta bacteria debido a que se encuentra en la flora de la piel, se han evidenciado pocos casos donde se relaciona el *Micrococcus* con diversas enfermedades como infecciones pulmonares, bacteremia recurrente, shock séptico, artritis séptica, endocarditis, meningitis y

neumonía cavitada (N.E., 2016). Se han realizado una diversa revisión bibliográfica del papel de *Micrococcus luteus* como causa de patología humana y apenas existen publicaciones al respecto (Medline, años 1991 a 2001). En lo referente a aislamientos en sangre se han encontrado 3 casos de bacteriemia (Kuhn, Herrmann, Weber, & Peters, 1996) uno de ellos relacionado con abscesos hepáticos múltiples (Andreopoulos, Papanikolaou, Politou, Konstanlopoulos, Stefanou, & Loukopoulus, 2000) y otro en paciente portador de catéter (Peces, Gago, Tejada, Laures, & Alvares-Grande, 1997), y 2 casos de endocarditis sobre válvula protésica. Aunque el *Micrococcus* se considera habitualmente una especie contaminante es importante tener en cuenta su posible implicación como patógeno en el ser humano, sobre todo si es aislado en diferentes series de hemocultivos y en algún caso en pacientes con prótesis valvulares. (Uso, Gil, Gomila, & Tirado, 2003). En un trabajo publicado (Adang, Shhouten, Van Tiel, & Bilijham GH, 1992) se reporta a un paciente con leucemia mieloide aguda, que desarrolla una infección pulmonar progresiva con *Micrococcus luteus*, lo que resulto en insuficiencia respiratoria, este informe de neumonia micrococcal hace hincapié en la patogenicidad de este microorganismo, especialmente en pacientes inmunocomprometidos.

La resistencia generada a numerosos fármacos se descubrió en enterobacterias como *Escherichia coli* y *Salmonella*, esto debido al uso indiscriminado de antimicrobianos, la resistencia se diseminó en varias bacterias y se hizo más fuerte, no solo en países en vía de desarrollo donde los medicamentos se consiguen sin alguna prescripción médica, sino en países del primer mundo, donde su abastecimiento se lleva a cabo bajo unos controles más estrictos. (Levy & Marshall, 2004). En el año 1993 un artículo publicó un informe sobre la incidencia del *Micrococcus luteus* como el responsable de una supuración intracraneal en múltiples sitios y colonizar diferentes partes ventriculares, generando una respuesta inflamatoria a esto. (Sivakumaran, Aiyar, Mohamad, & Selladura, 1993).

Se ha demostrado que algunos extractos naturales de diferentes plantas como *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum* (Carrillo, Rodríguez N, & Rodríguez, 2010), tienen efectos antibacterianos en gran variedad de bacterias, son Gram positivas o Gram negativas, un ejemplo de este extracto es el de la guatila (*Sechium edule*).

Por otra parte diversos estudios realizados a nivel celular y humano han tratado de demostrar las propiedades benéficas que se le atribuyen a la *Sechium edule*, estudios realizados han comprobado las características antibacterianas (Ordoñez A. , Gomez, Cudmani, Vattuone , & Isla, 2003) y antioxidantes, donde se expone la gran actividad antibacteriana que tiene el extracto de las hojas de la *Sechium edule* en diferentes bacterias Gram positivas y en algunas Gram negativas, indicándonos su gran efecto bactericida.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las infecciones nosocomiales establecen una gran problemática de salud de suma importancia a nivel mundial, debido a que afecta la calidad y la eficiencia de los tratamientos y servicios médicos, a pesar de los diversos esfuerzos realizados en el mundo para eliminar las enfermedades infecciosas, estas siguen siendo una de las principales causas de muerte en los hospitales. Entre los microorganismos que con mayor frecuencia causan infecciones nosocomiales y que por esta razón son los más estudiados encontramos agentes etiológicos bacterianos como: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, algunas especies de los géneros *Enterobacter*, *Enterococcus* y *estafilococos coagulasa negativos* (Perez, Morris Quevedo, & Calas Viamonte , 2006).

Las infecciones producidas por bacterias que habitan en la flora bacteriana de la piel, aunque no se pensara que fueran graves, lo son, y es que al entrar al organismo pueden generar múltiples consecuencias, casos como el de la bacteria *Staphylococcus aureus* que son causantes de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, es difícil llevar de cerca un programa de vigilancia y control de este tipo de infecciones (Velasco, Nieves, Araque , & Calderas, S. F.), otra bacteria como el *Micrococcus luteus*, donde se tiene a pensar que es generalmente un organismo comensal o saprófito, este puede ser un patógeno oportunista en pacientes con inmunodeficiencia, tales casos como pacientes con VIH, esta bacteria raramente se asocia con enfermedades, pero se han evidenciado muertes de pacientes inmunodeprimidos con infecciones producidas por micrococcus, este también está evidenciado en otras infecciones, shock séptico, artritis séptica, meningitis y neumonía cavitating (Aza & Cores,2006) y también causa infecciones como endocarditis o bacteriemia en huéspedes susceptibles. (Uso, Gil, Gomila & Tirado, 2003), o

La prevalencia de diversas infecciones que afectan al ser humano producido por diferentes cepas bacterianas implica complicaciones terapéuticas, que estimulan la búsqueda de nuevas alternativas en tratamientos adecuados para eliminar dichas infecciones. Ejemplos como el de la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus* que generan diversas patologías a nivel de la piel y tejidos blandos, eran erradicadas con penicilina en 1941, en 1959 se desarrolla la meticilina que consistía en una penicilina semisintética, que combatía las infecciones causadas por esta bacteria (Gil, 2000).

Las infecciones graves causadas por estas bacterias de la familia *Micrococcaceae* (*Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*) son comunes en pacientes con un sistema inmunológico débil, por estar expuesto a hospitalizaciones, a diálisis renal o por estar recibiendo tratamiento para el cáncer que implique el consumo de medicamentos que afecten al sistema inmune. Estas infecciones también se presentan en personas sanas que adquieren la infección por un simple corte o rasguño en su piel. Cuando se presentan infecciones por cepas de *Staphylococcus aureus* se generan síntomas en una área de la piel con coloración roja, hinchada y adolorida que puede producir secreción de pus (Biblioteca Nacional de Medicina de EE. UU.; Instituto Nacional de la Salud, 2012).

Se ha demostrado en diversos estudios, las propiedades de inhibición antibacteriana que contiene la *Sechium edule* sobre diversas bacterias, se ha propuesto que la formación de lignina en un mecanismo de resistencia que tienen las plantas a las enfermedades (causadas por toxinas de insectos, bacterias, hongos, etc.). La lignina es resistente a la degradación causada por la mayoría de los microorganismos y esto puede generar una respuesta a la penetración microbiana y al daño causado mecánicamente. La lignificación puede inhibir el crecimiento fangal ya que proporciona una barrera mecánica al ingreso de la hifa, también limita la difusión de enzimas y toxinas del hongo hospedero y de agua y nutrientes del hospedero al hongo, además produce un impacto en las paredes de las hifas, reduciendo la capacidad de alargarse de estas y finalmente protege las

paredes del hospedero de la degradación enzimática, también se ha demostrado que la lesión producida por las bacterias, no es de gran tamaño y que al ser estudiadas no se encuentran en ninguna muestra observada al microscopio de luz, no significan que no estén presentes, sino que su replicación debe ser muy mínima o que por algún motivo no fue posible observarlas (Vasquez , Flores , & Vargas , 1986).

Se han realizado diferentes estudios con extractos naturales de diferente material vegetal, un ejemplo de este tipo de estudio que se llevó a cabo en la universidad javeriana, donde usaron *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora Manicata*, que han demostrado efectos positivos en la inhibición de bacterias Gram negativas como Gram positivas, por los resultados positivos obtenidos en este estudio, buscamos encontrar respuesta a nuestra pregunta

¿Qué efecto presenta el extracto etanólico y la fracción lipídica de la *Sechium edule* sobre la bacteria Gram positiva específicamente sobre el organismo de ensayo *Micrococcus luteus*?

### 3. JUSTIFICACIÓN

La actividad antibacteriana que presentan las plantas es debido a los metabolitos secundarios que sintetizan, el uso de estos componentes químicos generan una alternativa a la hora de tratar diversas enfermedades e infecciones (Domingo & López, 2003).

El desarrollo de nuevos fármacos con acción antibacteriana es vital debido a que reduce la repercusión en un futuro, para combatir patógenos resistentes. El interés de la industria farmacéutica en el proceso de pre formular nuevos medicamentos se ha ido perdiendo dependiendo del interés de cada país, a partir de la resolución sobre la resistencia ante los antimicrobianos de 1998, de la Organización Mundial de la Salud se establece un marco de referencia de intervenciones para estimular la prevención de infecciones, desacelerar la tasa en que surge la resistencia y disminuir la propagación de microorganismos resistentes. La estrategia es basada en opiniones de expertos en la materia, en información publicada sobre el tema y el análisis realizado en deliberaciones de entes Nacionales e Internacionales sobre factores claves (Organización Mundial de la Salud, 2001).

Mediante la extracción etanólica de la cáscara de *Sechium edule* se pretende analizar el comportamiento antibacteriano en la bacteria Gram positiva, por medio de ensayos en disco para aportar la información necesaria y generar una futura preformulación farmacéutica tipo gel antibacterial para prevenir y mejorar infecciones cutáneas.

De acuerdo con lo anterior, este trabajo tiene por objetivo profundizar en la búsqueda de la concentración mínima necesaria del extracto etanólico de la *Sechium edule* para evitar la proliferación de diversas bacterias, específicamente en la familia *Micrococcaceae*, lo cual es de gran importancia sabiendo que esta ha generado una resistencia a ciertos antibióticos debido a su ADN cromosomal, creando un incremento considerable al contagio de múltiples enfermedades



causadas por esta bacteria (D, 2000). Debido a su variabilidad, rápida respuesta adaptativa frente a cambios del medio y su continua adquisición de determinantes de resistencia antibiótica, han hecho de ésta bacteria un residente habitual del hábitat hospitalario, donde origina problemas de multirresistencia, ocasionalmente importantes en pacientes que presentan enfermedades donde su sistema inmunológico es el primer afectado.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Determinar la actividad antibacteriana de la cáscara de *Sechium edule* sobre la bacteria Gram positiva (*Micrococcus luteus*) mediante extracto etanólico y fracción lipídica.

### 4.2 Objetivos Específicos

- Evaluar la actividad antibacteriana del extracto obtenido de la cáscara de la *Sechium edule* por método en difusión en agar en la bacteria Gram positiva (*Micrococcus luteus*).
- Calcular la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico y fracción lipídica de la cáscara de *Sechium edule* necesaria para controlar la presencia de la bacteria *Micrococcus luteus*.
- Caracterizar los metabolitos secundarios presentes en los extractos de *Sechium edule* por medio de una marcha fitoquímica.
- Comparar los metabolitos secundarios que se encuentran en la cáscara de la *Sechium edule* con otros estudios realizados donde se usaron otras partes de la planta (Hojas, tallo, pulpa, etc).

## 5. ANTECEDENTES

En un estudio realizado en la Fundación Universitaria de San Martín (Facultad de medicina), a nivel celular y humano con el propósito de demostrar las propiedades benéficas que se le atribuyen al fruto de la Guatila (*Sechium edule*) y sus componentes se profundiza en el conocimiento de la acción antihipertensiva del *Sechium edule* y el efecto de los fitoesteroles vegetales con el fin de generar alternativas de terapia al tratamiento de estas patologías.

Se ha demostrado científicamente que los fitoesteroles son beneficiosos para la salud debido a sus propiedades antiinflamatorias, antitumorales, bactericidas y fungicidas. Los Fitoesteroles son esteroides vegetales que se encuentran en forma natural y en bajas concentraciones, se presentan de forma de alcoholes cristalinos aislados de residuos insaponificables de los derivados lipídicos. En contraste, el efecto que mayor relevancia es su acción hipocolesterolemica al disminuir colesterol digerido, mediante la ingesta de 2g/día. Los fitoesteroles difieren estructuralmente del colesterol por la presencia de sustituyentes de tipo metilo o etilo. (Valladares, *Sechium edule* (jacq). Swartz y los fitoesteroles como agentes antihiperlipidémicos y antihipertensivos., 2010)

Por otro lado se desarrolló una publicación acerca de la guatila (*Sechium edule*) donde resalta la amplia variación biológica en forma, color y sabor de los frutos. En esa investigación se tomaron como referente frutos de *S. edule var. nigrum spinosum* para evaluar la actividad antiproliferativa y citotóxica en líneas tumorales. Se usó la técnica de cromatografía en columna con extractos y las fracciones principales evaluando seis concentraciones. De cuatro fracciones aisladas, tres tuvieron actividad antiproliferativa y citotóxica de tipo dosis dependiente. Se revelaron como componentes mayoritarios de la fracción más activa los cuales fueron: ésteres de tipo metílico de ácido 9-oxo-nonanoico, metílico del ácido hexadecanoico, etílico del ácido hexadecanoico, metílico del ácido 10-octadecenoico, metílico del ácido octadecanoico y octílico del ácido octadecenoico ampliando la gama de especies vegetales con posibilidad de

detener la proliferación de células cancerígenas. (Monroy Vázquez, Soto Hernández, Cadena, Osorio, Ruiz, & Acevedo, 2009).

En contraste se desarrolló un estudio para las opciones de conservación *in vitro* se mencionan las técnicas de conservación a largo plazo o crio-conservación, que consiste en el almacenamiento del material vegetal a ultra baja temperatura (-196°C), después de tratamientos que le permitan la sobrevivencia al congelamiento. Esta modalidad fue evaluada en embriones cigóticos y ápices de chayote. También se recomiendan las técnicas de crecimiento reducido o conservación a mediano plazo, que consisten en el mantenimiento de los materiales (brotes, plántulas, meristemas) en condiciones físicas (factores ambientales) y químicas (composición del medio de cultivo) controladas, que permiten la reducción del crecimiento sin afectar la viabilidad y por ende, alargar al máximo los periodos de transferencia. (Alvarenga Venutolo, Abdelnour Esquivel, & Villalobos Arámbula, 2007)

En otro contexto se realizó un estudio para estimar el grado de variación genética dentro del complejo específico de *Sechium* mediante el uso de sistemas isoenzimáticos. Se analizaron codificados por 12 sistemas isoenzimáticos en geles de almidón, en 10 individuos de cada una de las 30 accesiones. Se usaron 27 accesiones cultivadas y tres silvestres de *S. edule*, *S. chinantlense* y *S. compositum* C. Jeffrey Del Banco de Germoplasma de Chayote, ubicado en Huatusco, Veracruz donde se consideraron las principales características y distintas variables. El extracto isoenzimático se obtuvo a partir de radículas de nueve semillas de chayote de cada accesión debido a las semillas que germinan dentro del fruto sin fermentación. Los frutos fueron preparados con fungicida y agua destilada, de los 12 sistemas isoenzimáticos analizados, solo uno mostró polimorfismo además se logró establecer que hay una amplia variación del complejo específico de *Sechium* presentes en México y se identifican aleatoriamente con base en el tamaño, color y ausencia o presencia de espinas de los frutos. (Avendaño, y otros, 2012).

En México se desarrolló un estudio del fruto *Sechium edule* demostrando una gran importancia a nivel económico y nutricional en Centroamérica, Brasil y México, mediante el estudio se comprobó el uso de infusiones hechas a partir de hojas o frutos para aliviar la retención de orina y para disolver los cálculos renales. El extracto del fruto *Sechium edule* demostró actividad antimutagénica se redujo por calentamiento, a partir de la semilla se obtuvo una proteína inactiva de ribosomas. El *Sechium* recombinante se obtuvo con una proteína insoluble y la preparación de la forma soluble activa se logró a partir de la neutralización de la proteína desnaturalizada. El estudio de la *Sechium edule* recombinante podría ser utilizado para la preparación de inmunotoxinas en un cáncer potencial o agentes quimioterapéuticos. (Ordoñez A., Gómez, Cudmani, Vattuone, & Isla, 2003).

Otra investigación que se realizó en México demuestran la actividad anti proliferativa de la *Sechium edule* con diferentes genotipos de esta (amargo 2,90, madre negra, H387-07 y HD 369-12) sobre e células de cáncer de mama (línea MCF 7), se indicó que los genotipos de la especie de Madre negra presentan mayor actividad antiproliferativa en líneas tumorales, este estudio lleva a plantear que en *Sechium edule* existe una alternativa de principios activos de origen natural que amplíen las opciones farmacológicas y que puedan formar parte de medicamentos alternativos, a partir de la diversidad que hay de este fruto y que es poco usado. (Arias M. T., 2014).

Un estudio realizado en Argentina determinó la potencia antimicrobiana de extractos alcohólicos de plantas utilizadas comúnmente como antiinflamatorios y antisépticos, como *Dasyphyllum diacanthoides*, *Erythrina crista galli*, *Larrea cuneifolia*, *Larrea divaricata*, *Phytolacca dioica*, *Pithecoctenium cynanchoides*, *Prosopanche americana*, *Schinus molle*, *Schkuhria pinnata*, *Senna aphylla* y *Solidago chilensis*. Mediante ensayos de difusión en agar se midió la inhibición de crecimiento bacteriano, se realizó microdilución (medio sólido) y microdilución (medio líquido) frente aislamientos clínicos resistentes a antibióticos de pacientes con presencia de bacterias como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus*

*mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* en un hospital de Argentina. De acuerdo con los resultados del valor de concentración mínima inhibitoria se logró determinar que tres especies presentaron actividad *L. divaricata*, *L. cuneifolia* y *S. aphylla* respecto a las cepas de mayor susceptibilidad *P. mirabilis*, *A. baumannii* y *S. maltophilia*; mediante el análisis fitoquímico por cromatografía en capa fina en sílica de gel 60, usando como solvente cloroformo: metanol (9:1), para la separación de los extractos. Los componentes obtenidos se visualizaron con luz ultravioleta y se revelaron con tricloruro férrico 1%. La determinación de compuestos fenólicos totales se expresó como equivalentes de cumarinas, el contenido de flavonoides se identificó espectrofotométricamente a 420 nm. Los resultados presentan actividad antimicrobiana de origen natural fenólica ideales para el uso en el tratamiento de infecciones especialmente a nivel de la dermis (Zampini, Cudmani, & Isla , 2007).

En el 2003 se realizó el análisis de la actividad bactericida y fungicida de plantas usadas en la medicina tradicional en Venezuela *Plantago australis* Lam. (*Ilantén*); *Petiveria alliacea* L. (*mapurite*); *Mangifera indica* L. (*mango*); *Luffa cylindrica* (L.) Roem. (*esponjilla*); *Psidium guineense* Sw. (*guayabo agrio*) y *Phthirusa* sp. (*pajarito*) que se utilizan por efectos antiespasmódicos, cicatrizantes y propiedades antiinflamatorias; sobre cepas microbianas *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Escherichia coli* enteroinvasiva y *Escherichia coli* enteropatógena; *Klebsiella pneumoniae*; *Candida krusei* y *Candida albicans*. Se realizó extracción con metanol macerando las hojas por 24 horas, para el análisis microbiano se evidenció el efecto tóxico por la aparición de los halos de inhibición realizando una comparación con los halos de control. Como resultado se obtuvo que los extractos metanólicos de las plantas *Mangifera* y *Psidium guineense* Sw presentaron la mayor actividad bactericida y fungicida en las cepas EP y la ausencia de actividad sobre la cepa *C. albicans* (Lapenna, Medina Ramírez, Díaz , Aguillón , & Marín , 2003).

## 6. MARCO REFERENCIAL

### 6.1 Familia *Cucurbitaceae*: Generalidades

La *Cucurbitaceae* es una familia de planta neotropical con una amplia variación biológica en forma, tamaño, color y sabor. Familia pantropical con 97 géneros y aproximadamente 940-980 especies, en su mayoría diclino monoicas o dioicas.

Las *Cucurbitáceas* se caracterizan por ser plantas herbáceas, generalmente con zarcillos anódicos; tallos angulosos, con haces vasculares; hojas alternas, pecioladas; flores solitarias o en inflorescencias cimosas, generalmente diclinas, pentámeras, epíginas, actinomorfas; Cáliz abierto, valvar o quincuncial; Corola dialipétala o gamopétala, prefloración y vernación de los pétalos variadas.

Muchas especies *Cucurbitáceas* poseen valor económico, como lo son las de géneros *Cucurbita*, *Cucumis*, *Citrullus*, *Luffa* entre otras, contiene además especies con potencial nutricional y otras que se comportan como malezas (Pozner, 2010).

### 6.2 *Sechium edule* (Guatila)

#### 6.2.1 Clasificación Taxonómica

**Reino:** *Plantae*

**División:** *Spermatophyta*

**Subdivisión:** *Angiospermae*

**Clase:** *Dicotyledoneae*

**Subclase:** *Metaclamídeas*

**Orden:** *Cucurbitales*

**Familia:** *Cucurbitaceae*

**Género:** *Sechium*

**Especie:** *Sechium edule* (Jacq.) Swartz (Lira Saade, 1996)



**Figura 1.** Frutos *Sechium edule* (N.E., S.F.)

### **6.2.2 Descripción Botánica de la *Sechium edule***

Enredadera, con hojas redondeadas o con picos, que tienen la base acorazonada, y al tocarla se sienten ásperas; las flores son blanquecinas y tienen forma de estrella. Los frutos en forma de pera, de color verde pálido y espinosos (los hay sin espinas), con la pulpa insípida y con una semilla suave y aplanada (Biblioteca Digital de la medicina tradicional Mexicana, 2009).

Originaria de México. Habita en climas cálido, semicálido, semiseco y templado desde, el nivel del mar hasta los 2000 m. Cultivada en huertos familiares, asociada a vegetación perturbada de bosques tropicales caducifolio, subcaducifolio y perennifolio, matorral xerófilo, bosque espinoso, bosque mesófilo de montaña, bosques de encino y de pino.

#### **6.2.2.1 Semilla**

Semilla única, íntimamente adherida al fruto, germinando dentro de éste, antes o después de desprenderse de la planta “madre”.



**Figura 2.** Semilla de *Sechium edule* (N.E., Colectivo Agrario Abya Yala, 2014)



### **6.2.2.2 Hojas**

Hojas con pecíolo de 8-15 cm, glabro, lámina suborbicular, glabrescente a la madurez, base cordada, levemente 3-5-lobada, de 10-30 x 10-30 cm, lóbulos triangulares, agudos.



**Figura 3.** Hojas de *Sechium edule* (N.E., Montesamo, S.F.)

### **6.2.2.3 Fruto**

Fruto carnoso a levemente fibroso, color verde claro, levemente comprimido, con estrías longitudinales, liso o con pequeñas emergencias blandas ralas, de 5-29 x 3-13 cm.

### **6.2.2.4 Flores**

Flores estaminadas en tirso de 10-30 cm long., sépalos lineares, reflejos o patentes, de 4-6 x 1 mm, pétalos triangulares, patentes, blanco-verdosos de 6-7 x 2-3 mm. Flores carpeladas solitarias o geminadas, pedicelo de 1,0-3.5 cm, generalmente en el mismo nudo que la inflorescencia estaminada.

Especie probablemente domesticada en el sur de México y Centroamérica, y en la actualidad se la cultiva en diferentes regiones cálidas de América. En Argentina se la conocía sólo bajo cultivo, especialmente en las provincias de Tucumán, Salta y Jujuy; y por primera vez se han registrado ejemplares creciendo en el valle de Lerma escapados de ese estado.



**Figura 4.** Flor de la *Sechium edule* (N.E., Herbario Virtual, S.F.)

#### **6.2.2.5 Usos**

Sus frutos son comestibles, hervidos o fritos de un modo similar a las papas.



**Figura 5.** Fruto Guatila Gratinada (N.E., La Canasta, 2012)

### **6.3 Infecciones Cutáneas**

Las infecciones en la piel causadas por bacterias *Staphylococcus* y *Streptococcus* representan un diagnóstico dermatológico frecuente, es común percibir erupción cutánea que se evidencian con ampollas o sin presencia de estas; las infecciones cutáneas son altamente contagiosas propagándose por contacto directo. (E. & F.A.). EL *Staphylococcus aureus* causante de infecciones en el ámbito comunitario como en el hospitalario, produce varias enfermedades, desde abscesos, celulitis, infección de heridas, ocasionalmente estas infecciones pueden alcanzar situaciones de gravedad (Álvaro, 2003).

### **6.4 Familia Micrococcaceae**

La familia *Micrococcaceae* se encuentra conformada por los géneros *Micrococcus*, *Stomatococcus*, *Planococcus* y *Staphylococcus* los cuales se diferencian entre sí teniendo en cuenta su forma, tamaño, crecimiento, metabolismo, resistencia,

estructura o simplemente en las partes que componen a cada bacteria, un claro ejemplo de esto es la composición de la pared celular. Así como se diferencian entre sí, encontramos similitudes tales como que estas bacterias se dividen en un plano en forma de racimos o paquetes con un tamaño de 0,5 a 3,5  $\mu$ m de diámetro aproximadamente, son Gram positivos y pueden producir ácido sin gas partiendo de glucosa (García del Valle & Zamudio Durán , 1998).

**Tabla # 1.** Características de los géneros de la familia *Micrococcaceae* (García del Valle & Zamudio Durán , 1998).

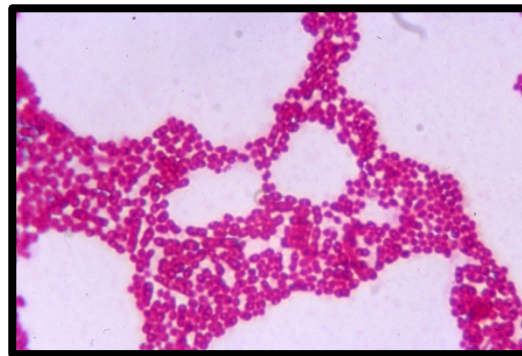
<b>Características</b>	<b><i>Micrococcus</i></b>	<b><i>Stomatococcus</i></b>	<b><i>Planococcus</i></b>	<b><i>Staphylococcus</i></b>
<b>Racimos Irregulares</b>	+	+	+	+
<b>Tétradas</b>	+	-	-	-
<b>Cápsula</b>	-	+	-	-
<b>Movilidad</b>	-	-	+	-
<b>Crecimiento G-furazolidona 100 mg/mL</b>	+	-	-	-
<b>Fermentación glucosa</b>	-	+	-	+
<b>Oxidasa y bencidina</b>	+	-	ND	-
<b>Resistencia a lisostafina 22 mg/mL</b>	R	R	R	S
<b>Glicina en péptido-glicana</b>	-	-	-	+
<b>Ácidos teicoicos en</b>	-	-	-	+

<b>pared celular</b>				
<b>% en moles G+C en el ADN</b>	65-75	56-60	39-42	30-39

### 6.5 *Micrococcus luteus*

**Familia:** *Micrococcaceae*

**Género:** *Micrococcus*



**Figura 6.** *Micrococcus luteus* (N.E., 2016)

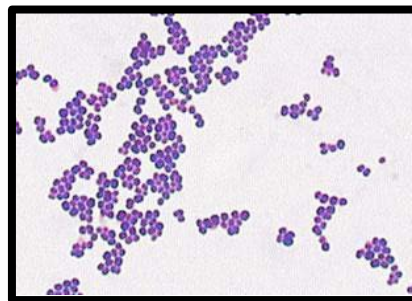
El género *Micrococcus* pertenece a bacterias del filo actinobacteria, estas bacterias se logran encontrar en diferentes ambientes tales como el suelo, agua, en ambientes con poca agua, o con altas concentraciones de sal logrando así sobrevivir por un largo tiempo. El *Micrococcus luteus* es una bacteria Gram positiva presentando así una forma esférica agrupadas en pares, tétradas o de forma irregular, con un diámetro de 0,5 a 3 micrómetros aproximadamente, presentan una gruesa pared celular. Dentro de las diferentes especies de *Micrococcus* algunas tienden a formar colonias amarilla al crecer en un medio tales como el *Micrococcus luteus* o en el caso del *Micrococcus roseus* colonias rojas (Benavides Rodriguez & Hermida Silva, 2008). El *Micrococcus luteus* rara vez es asociado con enfermedades infecciosas, sin embargo actúa como patógeno oportunista debido a que se encuentra normalmente en la microflora de la piel, puede llegar a invadir pacientes con VIH porque esta bacteria se logra

encontrar a nivel hospitalario, en este caso en la maquinaria con sistema inmune que usan los pacientes. Las enfermedades que usualmente son producidas por el *Micrococcus luteus* presentan diferentes síntomas teniendo en cuenta el sistema que afecta la bacteria, los síntomas en la artritis séptica aparecen rápidamente como fiebre, inflamación articular y dolor articular empeorando con el movimiento debido a que la propagación de la bacteria se da a través del torrente sanguíneo. El shock séptico causado por toxinas que producen las bacterias, teniendo en cuenta que un factor de riesgo puede ser una enfermedad que debilite el sistema inmune. Los síntomas se asocian a una bacteria la cual produce dificultad para respirar, sarpullido o coloración en la piel, extremidades inferiores e inferiores fríos y pálidos, mareos, alteración de la frecuencia respiratoria, alteración de la temperatura variando en temperaturas altas y bajas. El *Micrococcus luteus* también puede llegar a causar una endocarditis, meningitis y neumonía cavitaria que es usual en pacientes inmunosuprimidos.

## 6.6 *Staphylococcus aureus*

**Familia:** *Micrococcaceae*

**Género:** *Staphylococcus*



**Figura 7.** *Staphylococcus aureus* (N.E., Microbitos Blog)

El género *Staphylococcus* pertenece al *phylum Firmicutes*, clase III Bacilli, orden I *Bacillales*, familia VIII *Micrococcaceae*, y tiene cerca de 38 especies (Ministerio de Salud y Protección Social, 2011)

Es un agente etiológico de diversas patologías, incluyendo infecciones de tejidos blandos (Gil, 2000). El *Staphylococcus aureus* son bacterias resistentes al calor y la desecación creciendo en medio altos de salinidad, suele estar en la piel un 20%

de la población es portadora y mucosas nasales un 30% de manera discontinua sin llegar a causar infección, también logran colonizar otras áreas como lo es el tracto gastrointestinal, al romper la barrera mecánica el microorganismo logra entrar en contacto con tejidos causando una amplia gama de infecciones debido a su producción de toxinas. El *Staphylococcus aureus* permanente en el aire o sobre objetos, es una bacteria muy resistente relacionada con el diagnóstico y el tiempo transcurrido antes de que el paciente inicie un adecuado tratamiento, es comúnmente transmitido de persona a persona (Pahissa, 2009). El genoma de estafilococos consiste en un cromosoma circular (de aproximadamente 2800 pb), con plásmidos, transposones y los genes que regulan la virulencia y la resistencia a los antibióticos se encuentran en el cromosoma, así como los elementos extracromosómicos. (Lowy, 1998).

Los signos que se generan al desarrollar una infección cutánea por la bacteria *Staphylococcus aureus* es área de la piel roja, hinchada y adolorida, se puede presentar segregación de pus y otros líquidos de esta área lucen como un forúnculo. Estos signos tienen mayor probabilidad de presentarse si la piel se ha cortado debido a que esto facilita que la bacteria pueda entrar (Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU, 1997-2014).

### **6.6.1 Epidemiología del *Staphylococcus aureus***

Como se ha mencionado anteriormente hay muchos portadores de la bacteria tanto así que se encuentra en la piel, lo que constituye un gran problema en cuanto a la transmisión de la enfermedad. El *Staphylococcus aureus* es una bacteria muy resistente que permanece en el aire o sobre objetos inanimados, el contagio se produce mayormente de persona a persona.

El *Staphylococcus aureus* tiene dos maneras de provocar la infección:

- o Convirtiéndose en invasor local o generalizado: Formando un absceso siendo superficial o atacar los organismos.

- o Produciendo toxinas que invaden directamente el tejido: Invade el torrente sanguíneo y puede llevar a un shock tóxico (Lozoya, 2013).

### **6.6.2 Métodos de Control**

Los *Staphylococcus aureus* es un microorganismo frecuentemente aislado en laboratorios de microbiología, causan infecciones severas especialmente en pacientes hospitalarios. Los *Staphylococcus* presentan mecanismos de resistencia a los antimicrobianos, generalmente los laboratorios de microbiología utilizan la prueba de la coagulasa para diferenciar el *Staphylococcus aureus* de las otras especies de *staphylococcus*.

### **6.7 Ensayos de actividad biológica**

Para una adecuada realización de los bioensayos es importante determinar la especie o grupo de especies que sean útiles para desarrollar estas pruebas; para poder cumplir con lo requerido se indaga sobre algunos aspectos de la biología básica de los organismos (nutrición, ciclo de vida, condiciones óptimas de cultivo y manejo), puesto que es esencial reunir toda la información acerca de los diferentes aspectos de la fisiología de las especies potencialmente aptas para el desarrollo del estudio. Los ensayos deben ser rápidos, simples, reproducibles y económicos. (Narváez, 2004).

#### **6.7.1 Evaluación de la actividad antibacteriana**

Hay diferentes técnicas que se desarrollaron al observar que los microorganismos eran capaces de inducir resistencia al antimicrobiano que se ha utilizado contra él durante un periodo largo de tiempo, esta resistencia puede deberse a diversos mecanismos como:

- Producción de una sustancia que destruye el antibiótico.
- Adaptación del metabolismo bacteriano para inhibir el antibiótico.
- La pared celular del microorganismo se vuelve impermeable al antibiótico.
- Un fago comunica la resistencia por transducción.

- Desaparición de cepas sensibles y supervivencia de cepas resistentes por un fenómeno de selección natural.
- Producción de cepas mutantes.

Existen varias técnicas para evaluar los antimicrobianos: métodos de dilución, método de difusión de gel y método de bioautografía. (Arévalo & Enciso, 1996).

**6.7.1.1 Método de difusión en agar:** Se basa fundamentalmente en incorporar al medio de cultivo el antibiótico o el microorganismo en concentración conocida para que luego de solidificado el medio se adicione la contraparte y observar inhibición de crecimiento o halos de inhibición según la técnica utilizada. Esta técnica también abarca la llamada de discos de papel, en la cual el antibiótico a ensayar viene incorporado a discos de papel absorbente concentración conocida, los cuales se colocan sobre la superficie de una caja de agar sembrado masivamente con el microorganismo en estudio, luego de incubar a la temperatura y tiempo adecuados se observan halos de inhibición de crecimiento. (Arévalo & Enciso, 1996).

## **6.8 Metabolitos Secundarios**

Los vegetales además de metabolitos primarios (Carbohidratos, aminoácidos, ácidos grasos, poliaminas, citocromo, clorofila e intermediarios metabólicos de las vías anabólicas y catabólicas) producen metabolitos secundarios que son sustancias que no intervienen en su desarrollo o crecimiento, sustancias que brindan una ventaja como respuesta al entorno. La gran diferencia entre los metabolitos primarios y los metabolitos secundarios se basa en la estructura química, que tiene en cuenta su función donde el metabolito primario interviene en procesos metabólicos de la planta esenciales y el metabolito secundario facilita las interacciones ecológicas de la planta hacia en entorno. De acuerdo con la estructura u origen algunos metabolitos secundarios similares a los metabolitos primarios, ejercen un efecto distinto, como ejemplo el ácido Kaurenico y el ácido abiético son formados por una secuencia de reacciones relacionadas, pero el ácido Kaurenico es el metabolito primario debido a que participa en la síntesis de



hormonas que la planta requiere para su existencia (Síntesis de giberelinas) y el ácido abiético es el metabolito secundario ya que es parte de la resina de algunos grupos de *Fabaceae* y *Pinaceae*.

Los metabolitos secundarios presentes en las plantas se clasifican de acuerdo a la presencia o ausencia de nitrógeno en su composición, los principales metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas son: Terpenoides, Fenilpropanoides y alcaloides.

- **Terpenoides:** formados por repeticiones de moléculas de cinco átomos de carbono llamado isopreno, se clasifican de acuerdo a la cantidad de cadenas de isopreno que lo componen.
- **Alcaloides:** Los alcaloides procedentes de origen vegetal que en su composición contiene nitrógeno y que son farmacológicamente activos.
- **Fenilpropanoides:** Actúan como defensa de patógenos o antioxidantes en las flores, semillas, tallos, cortezas, hojas y raíces. Se clasifican en ligninas, lignanos, suberinas, flavonoides, coumarinas, furanocoumarinas y estilbenos, sirviendo como refuerzo en las paredes celulares facilitando el paso de minerales, agua o el peso de la tierra (N.E., 2015)

## 7. METODOLOGÍA

En el estudio se desea reportar la actividad antibacteriana de la cáscara de *Sechium edule* en la bacteria de la familia *Micrococcaceae*, tomando como organismo de prueba la bacteria Gram positiva *Micrococcus luteus*, se extrajeron sus metabolitos mediante fracción lipídica y extracto etanólico y así buscar sustancias a nivel natural que demostraran este tipo de actividad inhibitoria. Para este estudio se tomaron las cáscaras de la *S.edule* y se realizó una extracción por maceración y Soxhlet, y así se obtuvieron los metabolitos secundarios de este material vegetal, posteriormente se desarrolló un ensayo de actividad biológica por medio de la técnica de difusión en disco usando la bacteria *Micrococcus luteus*.

El tipo de investigación que se desarrolló en este trabajo fue de tipo mixto, debido a que se tuvieron en cuenta datos cuantitativos que se obtuvieron en la práctica para la determinación antibacteriana de la *Sechium edule* contra la bacteria *Micrococcus luteus* y los datos cualitativos se tomaron del análisis de la marcha fitoquímica del extracto (etanólico y lipídico) de pulpa de la *Sechium edule*.

Este procedimiento se realizó con el extracto obtenido por la maceración y la fracción lipídica de la cáscara de *Sechium edule* para detectar la inhibición de crecimiento de la bacteria *Micrococcus luteus*, con el fin de demostrar que esta planta presenta metabolitos secundarios y ácidos grasos con características antibacterianas.

Las siembras de la bacteria *Micrococcus luteus*, se hicieron con diferentes concentraciones del extracto de *Sechium edule* y se tuvo en cuenta el tiempo de interacción del extracto con la bacteria para así evaluar la tasa de crecimiento durante una semana.

Para el estudio se usaron frutos de la *Sechium edule* originarios del municipio de Pauna Boyacá, los cuales fueron seleccionados de acuerdo a su tamaño y forma similar. La muestra se transportó dentro de bolsas de papel periódico que se depositaron en un guacal para evitar el daño del fruto.

## 7.1 Extracción de metabolitos secundarios

### 7.1.2 Método de Maceración (Extracto etanólico)

Se tomaron 210 g del material vegetal fragmentado, y se colocaron a secar sobre papel periódico durante 15 días. En un frasco grande se depositó el material vegetal seco, se cubrió el material con etanol al 96%. Agitamos constantemente, adicionando etanol cada vez que fue necesario. La maceración se dejó un mes para poder obtener en gran proporción los metabolitos secundarios, filtramos con ayuda de algodón y concentramos la muestra en un rotavapor.

### 7.1.3 Método de Soxhlet (Fracción lipídica)

Se tomaron 10 g del material vegetal fresco, se pesaron y se envolvieron en papel filtro para crear la forma del cartucho que necesitamos para la extracción, se colocó dentro del extractor y se llevó a temperatura, en un balón de 250 mL teníamos 100 mL de éter de petróleo para realizar el proceso lo cual es nuestro solvente que arrastró los metabolitos del material vegetal, se realizaron 25 sifones en lapsos de tiempo de once minutos entre cada uno, retiramos la muestra y la concentramos en un rotavapor.

## 7.2 Marcha Fitoquímica Preliminar

**Tabla # 2.** Reacciones para caracterización de metabolitos secundarios

<b>GRUPO DE METABOLITOS SECUNDARIO</b>	<b>PRUEBA QUÍMICA</b>	<b>PROCEDIMIENTO</b>
<b>a. Carotenoides</b>	Salkowski	A 0.1 ml de ácido sulfúrico al 85% en un tubo de ensayo añadir por lentamente por las paredes 0.1 ml de extracto etéreo. Observar coloración azul en la interfase.

<b>b. Esteroides y triterpenoides</b>	Liebermann – Burchard	Agregar gotas del reactivo de Liebermann-Burchard a 0.1 ml de extracto etéreo. Observar cambios de coloración inmediatamente y a 5, 15, 30 y 45 minutos
<b>c. Taninos</b>	Cloruro férrico	A 0.2mL de extracto etanólico agregar 1 gota de solución de cloruro férrico al 1%. Observar coloración azul o verde.
	Acetato de plomo	A 0.1mL de extracto etanólico agregar 0.1mL de acetato de plomo al 10%. Observar turbidez o precipitado blanco.
	Gelatina – sal	A 0.1mL de extracto etanólico agregar 0.1mL de reactivo de gelatina – sal. Observar precipitación.
<b>d. Flavonoides</b>	Shinoda	A 0.1mL de extracto etanólico agregar gotas de ácido clorhídrico 10% y un trozo de cinta de magnesio. Observar coloración rojiza
	Leucoantocianidinas	A 0.5 mL de extracto etanólico agregar 1 mL de ácido clorhídrico 10% durante 10 a 20 minutos. Observar coloración roja intensa
	Comportamiento ante	A 0.2 ml de extracto etanólico

<b>e. Quinonas</b>	ácido y donador de electrones	agregar zinc en polvo y gotas de ácido clorhídrico concentrado. Observar coloración amarilla. Repetir la prueba con zinc en polvo e hidróxido de sodio 40%.
<b>f. Saponinas</b>	Espuma	A 1 mL de extracto etanólico agregar 5mL de agua. Agitar vigorosamente. Observar formación de espuma con altura de 2cm que permanece hasta media hora.
<b>g. Cardiotónicos</b>	Antrona	A 0.5 ml de extracto etanólico en un tubo de ensayo añadir por las paredes gotas de reactivo de antrona. Observar coloración azul-verdosa en la interfase.
	Molish	A 0.5 ml de extracto etanólico agregar 0.5 ml de reactivo de Molish, verter la mezcla gota a gota por las paredes de un tubo de ensayo que contenga 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. Observar coloración violeta en la interfase.
<b>h.Sesquiterpenlactonas</b>	Hidroxamato férrico	A una gota de extracto etanólico o etéreo añadir una gota de solución metanólica 2N de clorhidrato de hidroxilamina y una gota de hidróxido de potasio

		2N metanólico, calentar durante 2 minutos. Enfriar, acidular con ácido clorhídrico 0.5N y añadir una gota de cloruro férrico 1%. Observar coloración violácea.
<b>i. Cumarinas</b>	Hidroxamato férrico	A una gota de extracto etanólico o etéreo añadir una gota de solución metanólica 2N de clorhidrato de hidroxilamina y una gota de hidróxido de potasio 2N metanólico, calentar durante 2 minutos. Enfriar, acidular con ácido clorhídrico 0.5N y añadir una gota de cloruro férrico 1%. Observar coloración violácea.
	Erlich	A 1 ml de extracto etanólico agregar 1mL de reactivo de Erlich. Observar coloración naranja.
	Fluorescencia	Se calienta al baño maría hirviendo un tubo de ensayo con 1 ml de extracto etanólico con papel filtro impregnado con solución 0.1N de NaOH en la boca, durante 5 a 10 minutos. Observar fluorescencia al UV.
	Valsen	A 1 ml de extracto ácido agregar gotas del reactivo de Valsen. Observar formación de

<b>j. Alcaloides</b>		precipitado.
	Mayer	A 1 ml de extracto ácido agregar unas gotas de reactivo de Mayer. Observar formación de precipitado blanco.
	Dragendorff	A 1ml de extracto ácido agregar unas gotas de reactivo de Dragendorff. Observar formación de precipitado marrón.
	Scheibler	A 1 ml de extracto ácido agregar gotas del reactivo de Scheibler. Observar formación de precipitado blanco.
	Wagner	A 1 ml de extracto ácido agregar unas gotas de reactivo de Wagner. Observar formación de precipitado café.

## **7.5 Ensayos de actividad biológica**

### **7.5.1. Método de Difusión en Disco**

#### **7.5.1.1 Método**

##### **✓ Preparación de agar Mueller Hinton:**

Se suspendieron 5.8 g del polvo en 1 litro de agua destilada. Se llevaron a un frasco Schott de 250 ml y se dejaron en calentamiento 20 minutos hasta disolución total. Este preparado se llevó a esterilizar a 120°C durante 30 minutos, y se dejó enfriar a temperatura ambiente por 5 minutos, para evitar que hubiera coagulación del agar. Esta mezcla se distribuyó en 6 cajas de Petri estériles, donde se

agregaron 25 ml de agar en cada una y se dejó enfriar a temperatura ambiente hasta solidificación.

✓ **Preparación de agar Mueller nutritivo:**

Se suspendieron 4.6 g del polvo en 80 ml de agua destilada. Se llevaron a un frasco Schott de 100 ml y se dejaron en calentamiento entre 10 a 15 minutos hasta disolución total. Este preparado se llevó a esterilizar a 120°C durante 30 minutos, y se dejó enfriar a temperatura ambiente por 5 minutos, para evitar que hubiera coagulación del agar. Esta mezcla se distribuyó en 8 cajas de Petri estériles, donde se agregaron 25 ml de agar en cada una y se dejó enfriar a temperatura ambiente hasta solidificación.

✓ **Preparación de agar Sangre:**

Se pesaron 10.6 g de agar y se disolvieron en 30 ml de agua destilada, esta preparación se llevó a un frasco Schott de 100 ml y se calentó hasta disolución total del agar, seguido a esto se adiciono sangre hasta que el agar quedará de un color vinotinto homogéneo, después de esta preparación se esterilizó en autoclave a una presión de 20 libras y una temperatura de 120°C durante 40 minutos, el medio esterilizado se pasó a una caja de Petri donde se agregó 25 ml a esta.

✓ **Aislamiento de *Micrococcus luteus*:**

Se tomó un tubo de ensayo que contenía la bacteria inoculada y se realizó una siembra en espiral en las cajas de petri (agar sangre, agar mueller y agar nutritivo) previamente preparadas y sólidas, posteriormente las cajas se envolvieron en papel vinipel y se llevaron a incubadora por 72 horas a una temperatura de 37°C. En la lectura de resultados, donde se presentó el mejor crecimiento bacteriano fue en el agar sangre y el agar mueller, de estas cajas se tomó la bacteria para el desarrollo de los ensayos microbiológicos.



### ✓ **Cultivo de *Micrococcus luteus*:**

Los ensayos biológicos se llevaron a cabo con 12 cajas de petri, las cuales ya tenían previamente un medio preparado (agar nutritivo, agar Mueller), se dividió cada caja, para un extracto diferente (extracto etanólico, extracto etéreo), se realizó una siembra en espiral de la bacteria que fue tomada de la caja de agar Mueller, que se había aislado previamente con la bacteria.

### ✓ **Dispensación de los discos**

Se colocaron los sensidiscos a diferentes concentraciones (50,150,250,500) ppm y extractos puros) del extracto etanólico y el extracto etéreo, se colocó en cada extremo de la caja, con pinzas estériles sin dañar el medio. Las cajas se envolvieron en papel vinipel y se llevaron a una incubadora por 96 horas a una temperatura de 37°C.

### ✓ **Lectura de resultados**

Después de 72 horas de incubación se determinó que hubiera un halo de inhibición presente alrededor de los sensidiscos sembrados, se tomó el diámetro con un pie de rey y se buscó en la bibliografía los criterios para caracterizar la inhibición en tres categorías según lo reportado por (Picazo, 2000): sensible (S), intermedia (I) y resistentes (R), según el halo de inhibición en el análisis microbiológico, podemos caracterizar al *Micrococcus luteus* como sensible ante el extracto etanólico de la *Sechium edule*.

## **7.6 Preparación de las Soluciones**

### ✓ **Soluciones Extracto etanólico**

A partir de los 2 L obtenidos de la maceración, este líquido obtenido se puso a calentar lentamente hasta obtener una goma muy concentrada del extracto de los metabolitos secundarios de la cáscara de la *Sechium edule*. Se realizaron los cálculos para llegar a concentraciones de 50, 150, 250, 500 ppm.

### ✓ **Soluciones Fracción lipídica**

Con los 50 mL del extracto que se obtuvo después de la extracción por Soxhlet, se dejó concentrar la muestra a lo largo de varios días dejando el extracto en un frasco de vidrio y con una tapa que proporcionaba la entrada de aire. Igualmente que con el extracto etanólico se realizaron los cálculos para poder llevar a aforo y obtener concentraciones de 50, 159, 250, 500 ppm.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Método de Maceración

Para la extracción de los metabolitos secundarios de la cáscara, se pesaron aproximadamente 200 g de la cáscara fresca y se pusieron en un periódico a secar por tres días, seguido a esto se pusieron en un recipiente y se adicionaron 2 litros de alcohol al 96%, suficiente para tapar completamente las cáscaras previamente secadas, esta mezcla se dejó en reposo en un lapso de un mes. El contacto del alcohol con el material vegetal extraerá los componentes afines con este solvente y quedarán disueltos, al cabo de un mes se revisó la maceración y se tomaron 2 litros de un líquido color verdoso que se llevó a un rotavapor para concentrar más la mezcla.

### 8.2 Método de Soxhlet

Se llevó a cabo la extracción de la *Sechium edule*, empleando el sistema de soxhlet donde se utilizó el solvente no a polar éter de petróleo. Posteriormente de la extracción por soxhlet el extracto obtenido que es el contenido graso de la muestra (*Sechium edule*), se almaceno en un recipiente de vidrio los 50 mL que se obtuvieron para lograr concentrar aún más la muestra. Durante el procedimiento se tomó la muestra fraccionada de la *Sechium edule* que se almaceno en el cartucho, al calentar el solvente hasta su punto de ebullición (60-80°C) se fueron condensando los vapores a medida que caía, gota a gota sobre el cartucho que contenía la muestra esto permite una mejor solvatación de los metabolitos, extrayendo así los metabolitos secundarios (solubles). Mediante el procedimiento se observaron 25 sifones el primero se obtuvo tras haber transcurrido una hora y 20 minutos, los otros sifones se fueron dando con un intervalo de tiempo de 1 a 2 minutos, donde aproximadamente se extrajeron 50 mL.

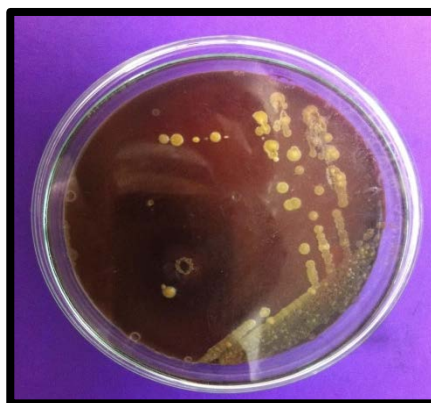
### 8.3 Aislamiento bacteria (*Micrococcus luteus*)

Por medio del aislamiento de *Micrococcus luteus* se logró obtener el crecimiento de la bacteria en 72 horas, a una temperatura de 37 °C produciendo colonias de

color amarillo. Este aislamiento se realizó en dos tipos de agar (agar nutritivo y agar sangre), se observó un mayor crecimiento en el agar sangre.



**Figura 8.** Aislamiento en agar nutritivo, Crecimiento bacteriano *Micrococcus luteus* (amarillo).



**Figura 9.** Aislamiento en agar sangre, Crecimiento bacteriano *Micrococcus luteus* (amarillo)

#### 8.4 Marcha Fitoquímica

**Tabla # 3.** Resultados Marcha fitoquímica preliminar de la cáscara de *Sechium edule*.

GRUPO DE METABOLITOS SECUNDARIO	PRUEBA QUÍMICA	PROCEDIMIENTO	RESULTADO
---------------------------------	----------------	---------------	-----------

<b>Carotenoides</b>	Salkowski	+	Coloración azul en interfase
<b>Esteroles y Triterpenos</b>	Liebermann – Burchard	+	Coloración verde oscura
<b>Taninos</b>	Cloruro férrico	-	No hubo reacción
	Acetato de plomo	-	No hubo reacción
	Gelatina – sal	-	No hubo reacción
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	-	No hubo reacción
	Leucoantocianidinas	-	No hubo reacción
<b>Quinonas</b>	Comportamiento ante ácido y donador de electrones	+	Coloración rosa
<b>Saponinas</b>	Espuma	-	No hubo reacción
<b>Cardiotónicos</b>	Antrona	-	No hubo reacción
	Molish	-	No hubo reacción
<b>Sesquiterpenlactonas</b>	Hidroxamato férrico	-	No hubo reacción
<b>Cumarinas</b>	Hidroxamato férrico	-	No hubo reacción
	Erlich	-	No hubo reacción
<b>Alcaloides</b>	Valser	-	No hubo reacción
	Mayer	-	No hubo reacción
	Dragendorff	+	Coloración café
	Schleiber	+	Precipitado blanco en superficie
	Wagner	-	No hubo reacción

Entiéndase como + “positivo” y - “negativo”.

### 8.4.1 Carotenoides

Esta prueba se realizó con el extracto etéreo, debido a que los carotenoides son solubles en solventes apolares, como el éter de petróleo (Martínez, 2003), se presentó una coloración azul en la interfase, donde se confirma el aporte realizado por (Iñiguez, Soto Hernandez, Arevalo Galarza , & Avendaño , 2011) que demuestra la cantidad de carotenoides que tiene la *Sechium edule*, según los diferentes tipos de frutos que se tienen, estos metabolitos son los que caracterizan las variedades de este fruto en sabor, olor y color.

### 8.4.2 Esteroles y Triterpenos

La determinación de esteroides y triterpenos fue positiva al demostrar un cambio de coloración a verde oscuro, estos resultados confirman lo reportado por (Mohamed & Polo, N.E) donde demuestra que en la familia *Cucurbitaceae* hay presencia de estos compuestos en una cantidad significativa.

#### 8.4.2.1 Liebermann-Burchard

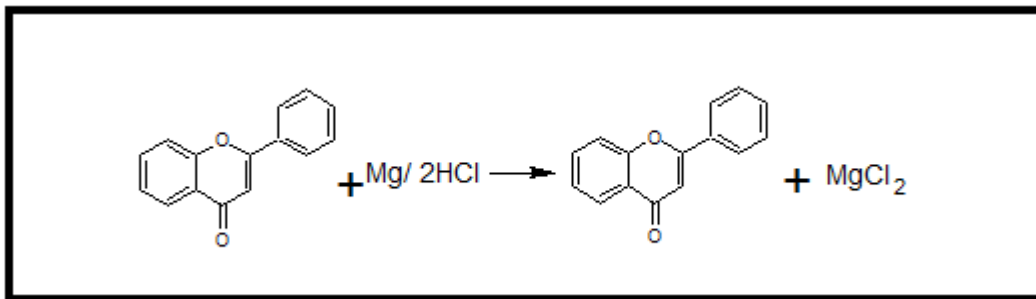
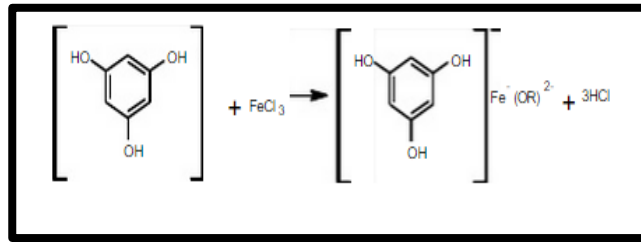


Figura 10. Prueba de Liebermann-Burchard

### 8.4.3 Taninos

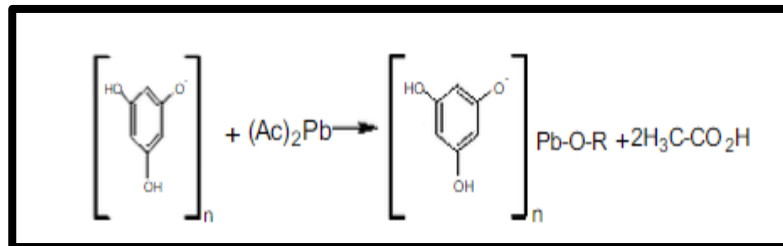
La determinación de taninos fue negativa por medio de las pruebas, aunque según lo reportado por (Arias, M. T; 2014) la *sechium edule* tiene gran cantidad taninos, aquí habla sobre un híbrido creado de toda la familia *sechium*, lo cual hace que el material vegetal a estudiar tenga varias propiedades que pueden ser dotadas por los diferentes frutos que participaron en la creación del híbrido.

#### 8.4.3.1 Cloruro Férrico



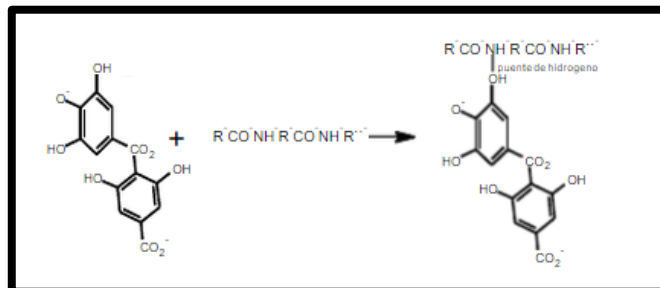
**Figura 10.** Prueba del cloruro férrico (Chiappe, Castañeda , Díaz , Romero , & Manuel , S.F. *Marcha Fitoquímica preliminar de la especie conium maculatum l. (cicuta)*)

#### 8.4.3.2 Acetato de Plomo



**Figura 11.** Prueba del acetato de plomo (Chiappe, Castañeda , Díaz , Romero , & Manuel , S.F.)

#### 8.4.3.3 Gelatina-Sal

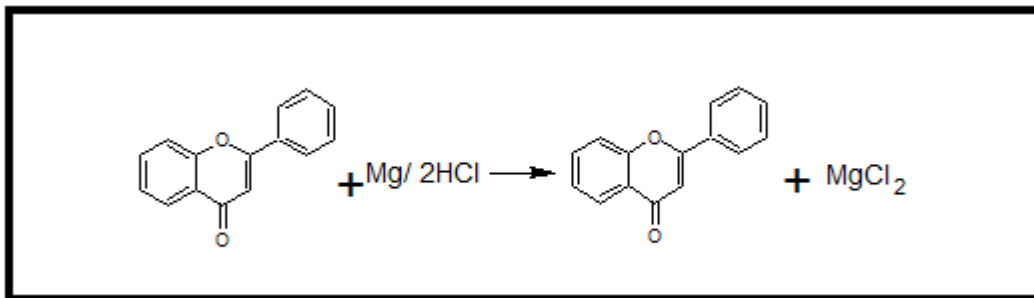


**Figura 12.** Prueba de gelatina - sal (Chiappe, Castañeda , Díaz , Romero , & Manuel , S.F. *Marcha Fitoquímica preliminar de la especie conium maculatum l. (cicuta)*)

#### 8.4.4 Flavonoides

Los resultados para la detección de flavonoides fueron negativos debido a que no se presentó la coloración roja que caracteriza la prueba, aunque la bibliografía dice que la familia *Sechium edule* es rica en estos, según (Nava, S.F) para la extracción de flavonoides se utilizan generalmente solventes ligeramente polares para separar las clorofilas gomas, los flavonoides que poseen un gran número de grupos hidroxilos o azúcares, son considerados polares por lo que son ligeramente polares en etanol, al filtrar y concentrar en el rotavapor el extracto no resulta favorable para los flavonoides de baja polaridad los cuales están en la superficie de las plantas, como la cáscara, tomando en cuenta lo reportado por (Siciliano, Tommasi, Morelli, & Braca, 2004) donde indicaron que la cantidad total más alta de flavonoides era en las hojas (35,0 mg / 10 g de la parte seca), seguido de raíces (30,5 mg / 10 g), y finalmente por vástagos (19,3 mg / 10 g), estas referencias indican el factor que hizo que nuestros resultados para la identificación de flavonoides fueran negativos en la cáscara de este material vegetal.

##### 8.4.4.1 Shinoda



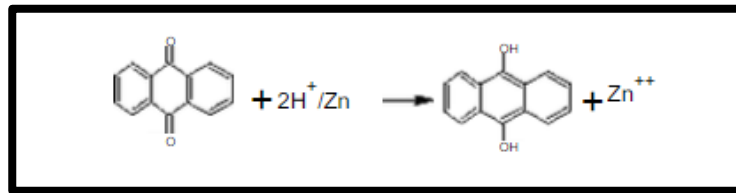
**Figura 13.** Prueba de Shinoda (Chiappe, Castañeda , Díaz , Romero , & Manuel , S.F.)

#### 8.4.5 Quinonas

Aunque en la bibliografía no se manifiesta la presencia de quinonas en este tipo de material vegetal, en la prueba para detección de quinonas los resultados fueron positivos, hay poca bibliografía que de gran información sobre las quinonas en la *Sechium edule* para corroborar nuestros resultados.



#### 8.4.5.1 Comportamiento ante ácido y donador de electrones



**Figura 13.** Comportamiento ante ácido y donador de electrones (Chiappe, Castañeda, Díaz , Romero , & Manuel , S.F. *Marcha Fitoquímica preliminar de la especie conium maculatum l. (cicuta)*)

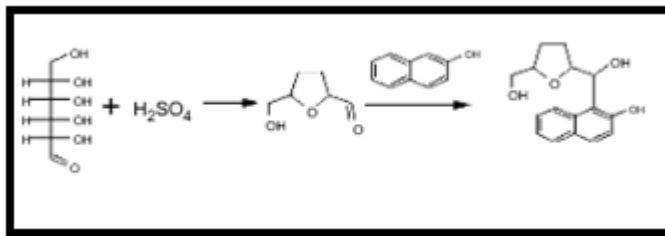
#### 8.4.6 Saponinas

**8.4.6.1 Prueba de espuma:** Para la identificación de saponinas fue negativo, no se mantuvo constante la espuma en la muestra, según lo reportado por (Mohamed & Polo, SF) en los frutos de *Sechium edule* hay presencia de saponinas pero en muy poca cantidad.

## 8.4.7 Cardiotónicos

**8.4.7.1 Antrona:** La prueba para determinar este metabolito fue negativa porque no hubo cambio de coloración en la muestra, aunque según lo reportado por (Mohamed & Polo, N.E), este vegetal presenta este metabolito secundario pero advierte que esta prueba positiva pudo haber sido por otra sustancia química presente, esto concluye según la bibliografía reportada (Juarez Montoya,2006) sobre la *Sechium edule*, esta planta no presenta cardiotónicos en sus metabolitos secundarios.

**8.4.7.2 Molish:** Mediante el reactivo de Molish que reacciona con compuestos aromáticos nitratos generan una ruptura de la lactosa y por sustitución electrofílica aromática, compuestos coloreados lo que deja percibir una coloración violeta, en el extracto etanólico de la *Sechium edule* no se obtuvo tal resultado, simplemente se observó una coloración naranja sin presencia de precipitado , debido a que según las consultas bibliográficas la *Sechium edule* no contiene azúcares presentes en su grupo de metabolitos secundarios (Juarez Montoya, 2006).

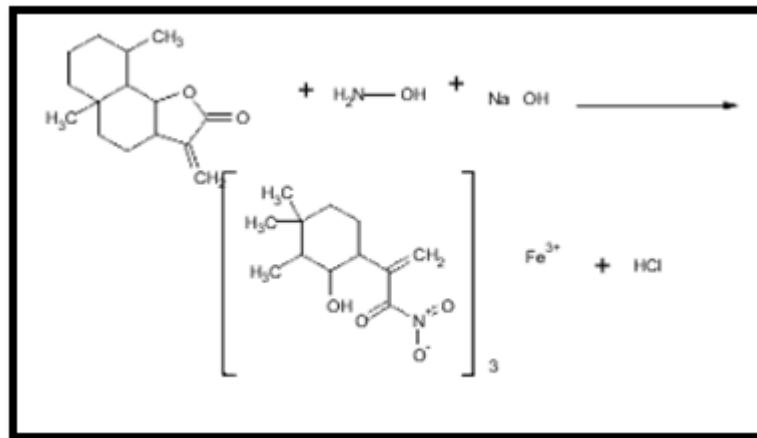


**Figura 14.** Reacción de Molish (Chiappe, Castañeda, Díaz , Romero , & Manuel , S.F. *Marcha Fitoquímica preliminar de la especie conium maculatum l. (cicuta)*)

## 8.4.8 Sesquiterpenlactonas

**8.4.8.1 Hidroxamato férrico:** Las Sesquiterpenlactonas generalmente son difíciles de detectar mediante la reacción con el clorhidrato de hidroxilamina formando ácido hidroxámico, al adicionar el FeCl<sub>3</sub> se genera el Hidroxamato férrico. Se observa una coloración violeta que se produce por el FeCl<sub>3</sub>, en la presencia de Sesquiterpenlactonas, en el extracto etanólico de la *Sechium edule* se observó una coloración naranja por lo cual se descartó la presencia de

Sesquiterpenlactonas que ocasionalmente suelen presentar actividad biológicas como microbiológica, antiinflamatoria o insecticida (Martínez Martínez, 2001).



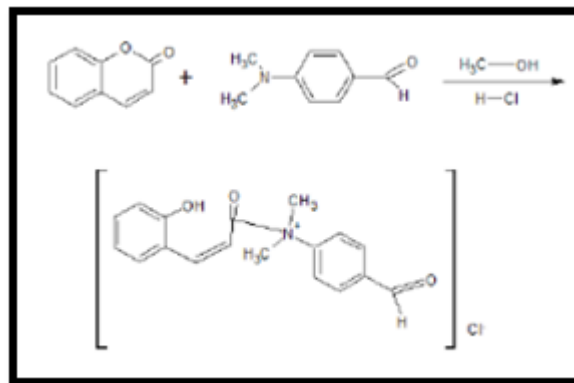
**Figura 15.** Reacción de Hidroxamato Férrico (Chiappe, Castañeda , Díaz , Romero , & Manuel , S.F. *Marcha Fitoquímica preliminar de la especie conium maculatum l. (cicuta)*)

#### 8.4.9 Cumarinas

Las cumarinas se encuentran ampliamente distribuidas en el reino vegetal, como metabolito secundario. Estructuralmente son lactonas del ácido hidroxicinámico derivada del ácido cinámico. A las cumarinas se le atribuyen diversos efectos farmacológicos, bioquímicos y terapéuticos.

**8.4.9.1 Hidroxamato férrico:** Este análisis colorimétrico se basa en la formación de ácido hidroxámico debido a que se forma un complejo rojo-violeta, en el extracto etanólico de la *Sechium edule* no se logra observar dicha coloración, simplemente al agregar el Hidroxamato férrico la muestra toma una coloración naranja (Martínez Martínez , 2001).

**8.4.9.2 Erlich:** Con el reactivo de Ehrlich se logra detectar la presencia de anillos aromáticos fenólicos o nitrogenados con la reacción con ácido sulfúrico (Se usó ácido nítrico) y nitrato de sodio se forman sales de Diazonio que generan coloraciones violetas, de esta manera se logra percibir la presencia de cumarinas. En la prueba realizada con el extracto etanólico de la *Sechium edule* el color que se observa es naranja por lo que se descartó la presencia de cumarinas en el material vegetal lo cual evidenció la ausencia de anillos aromáticos (Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, S.F.).



**Figura 16.** Reacción de Ehrlich (Chiappe, Castañeda , Díaz , Romero , & Manuel , S.F. *Marcha Fitoquímica preliminar de la especie conium maculatum l. (cicuta)*)

#### 8.4.10 Alcaloides

Los alcaloides se derivan de álcali vegetal, en la estructura de estos compuestos se encuentran átomos de nitrógeno que en medio ácido se unen a estos, para formar sales de amonio sustituidas (Ciria , 1995).

En el aislamiento de los alcaloides cuando se encuentran en forma de sal iónica, son solubles en agua, mientras que si están en forma de base libre son solubles

en disolventes orgánicos. Se produce precipitación cuando entran en contacto con reactivos específicos que contienen metales pesados como son: reactivo de Wagner (Solución de yodo en yoduro de potasio), reactivo de Mayer (Solución de mercurio yoduro de potasio) y reactivo de Dragendorff (Yodobismutato de potasio) liberando los alcaloides de sus sales por el agregado de álcalis (Taiz & Zeiger , 2006).

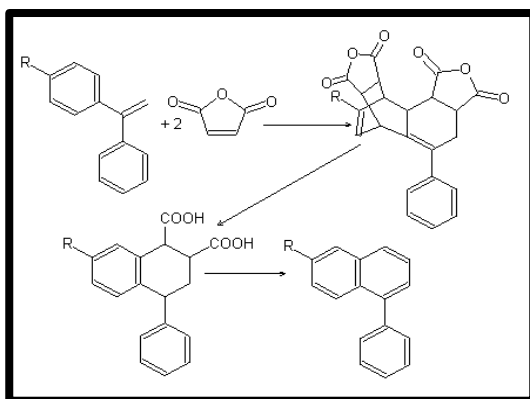
**8.4.10.1 Valse:** Se percibió una coloración verde translúcida sin presencia de precipitado descartando así la presencia de alcaloides mediante la combinación con este reactivo. El mecanismo de reacción de este reactivo es debido a sus componentes, donde la concentración alta del ácido se cristaliza permitiendo que las resinas intercambiadoras separen los alcaloides y se pueda percibir el precipitado blanco (Arango Acosta, 2008).

**8.4.10.2 Mayer:** Al agregar el reactivo en el extracto etanólico se presentó una coloración verde clara translúcida sin lograr obtener el precipitado, se descartó nuevamente la presencia de alcaloides en la *Sechium edule*. Al extraer los alcaloides de la planta se encuentran en forma de sal, al hacer reaccionar el extracto etanólico con el reactivo de Mayer los componentes del mismo, mercurio y yodo interviene en la reacción produciendo el precipitado de color blanco que confirma la presencia de alcaloides (Arango Acosta, 2008).

**8.4.10.3 Dragendorff:** Prueba positiva, debido a que se logró observar un precipitado de color naranja después de agregar el reactivo de *Dragendorff*. De acuerdo a la composición de reactivo *Dragendorff* la mezcla del yoduro de potasio y el bismuto pentahidratado al reaccionar con la solución ácida de alcaloides que se encuentran en forma de sal, se genera un precipitado que es propio del bismuto que al interactuar en la reacción este metal precipita (Arango Acosta , 2008). Sin embargo en un estudio realizado en cuatro genotipos de la *Sechium edule*, se descartó la presencia de estos metabolitos secundarios. Mediante las pruebas realizadas se observó la presencia de terpenos, flavonoides, saponinas y taninos (Arango Acosta, 2008). Teniendo en cuenta un estudio realizado con tres plantas de Colombia, se evidenció la actividad antibacteriana de los extractos obtenidos por maceración con etanol al 96%. El estudio se realizó con bacterias Gram positivas como lo es el *Staphylococcus aureus* y en bacterias Gram negativas como la *Escherichia coli*, usando dos medios los cuales fueron caldo de tripticasa de soya y base Luria Broth respectivamente. Se confirma la actividad antibacteriana en diferentes niveles las clases de alcaloides que se evidenciaron dicha característica fueron los alcaloides quinolínicos y el alcaloide indólico presentes en las plantas implementadas para dicho estudio (Cuca Suárez, Coy Barrera , Coy Barrera , & Lozano Moreno , 2011).

**8.4.10.4 Schleiber:** Instantáneamente al agregar el reactivo de Scheibler reaccionó con el extracto etanólico de la *Sechium edule* formando un precipitado de color blanco lo que indicó la presencia de alcaloides, el precipitado después de su formación tuvo un lapso de tiempo (30 minutos) donde se mantuvo en precipitado de manera abundante esto debido a la presencia de ácido fosfotúngstico que es compuesto del reactivo Schleiber y al reaccionar con la sal de los alcaloides se forma el precipitado blanco.


**8.4.10.5 Wagner:** No se logró percibir el precipitado, la reacción entre el yodo yoduro potasio con el extracto precipita en forma de sal. Teóricamente este reactivo requiere de un solvente no polar, en este caso se usó éter de petróleo pero se descartó la presencia de alcaloides debido a que en la parte experimental la formación del precipitado no se logró observar (Arango Acosta, 2008).

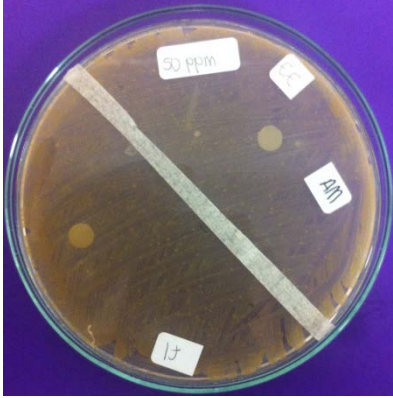

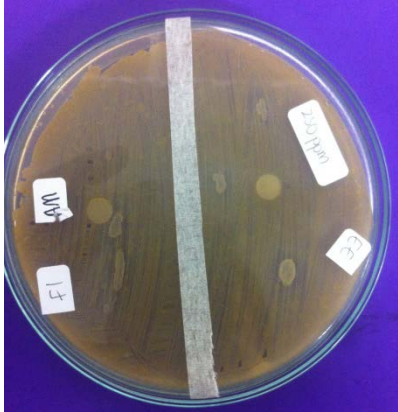


**Figura 18.** Reactivo de Wagner (N.E., Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Dpto Química Orgánica, 2015).

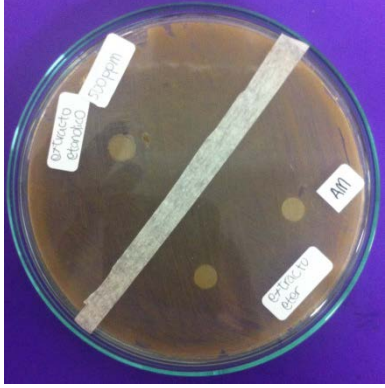
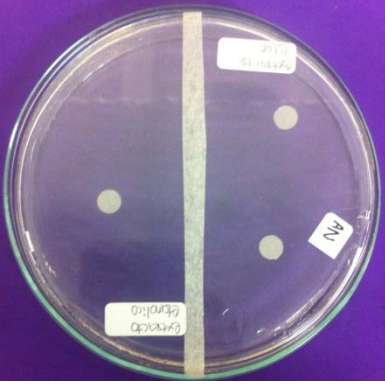
### 8.5 Ensayos Biológicos (Difusión en Disco)

**Tabla # 4.** Resultados de pruebas microbiológicas a diferentes concentraciones.

<b>Agar/ Concentración</b>	<b>Comentarios</b>	<b>Imagen</b>
Extracto etanólico/ Fracción lipídica Agar Mueller	Gran crecimiento bacteriano, se presentó un halo de inhibición de aproximadamente 0,5 mm de diámetro en el extracto etanólico, en la fracción lipídica no se evidencio	 <p>A photograph of a petri dish containing a bacterial culture on Mueller agar. The agar is a light brown color. A white strip is placed vertically across the center of the dish. A small, clear, circular zone of inhibition is visible on the right side of the dish, near the strip. The rest of the agar shows a dense, turbid bacterial growth.</p>

	inhibición.	
50 ppm Agar Mueller	Gran crecimiento bacteriano, no se evidencio inhibición a esta concentración de los dos extractos.	
150 ppm Agar Mueller	Gran crecimiento bacteriano, se presentó un halo de inhibición de aproximadamente 0,4 mm de diámetro en el extracto etanólico, en la fracción lipídica no se evidencio inhibición.	
250 ppm Agar Mueller	Gran crecimiento bacteriano, no se evidencio inhibición a esta concentración de los dos extractos.	



<p>500 ppm Agar Mueller</p>	<p>Gran crecimiento bacteriano, no se evidencio inhibición a esta concentración de los dos extractos.</p>	
<p>Extracto etanólico/ Fracción lipídica Agar Nutritivo</p>	<p>Poco crecimiento bacteriano, en este tipo de agar, se requiere de mucho tiempo en incubación para el crecimiento de colonias de <i>Micrococcus luteus</i>, no se pudo evidenciar efectividad de inhibición.</p>	

A partir de los resultados obtenidos mostrada en la tabla anterior se determinó la concentración mínima capaz de inhibir el crecimiento del microorganismo *Micrococcus luteus*, donde fue inhibido a una concentración de 150 ppm y la concentración inicial obtenida de la maceración, tras realizar el ensayo microbiológico las colonias que persisten son de color amarillo.

Para los ensayos biológicos se realizaron dos ensayos con blancos: en el primero en una caja de petri con agar mueller se sembró la bacteria y se pusieron dos sensidiscos uno impregnado con etanol y otro con éter de petróleo, y se evidencio un halo de inhición de 0,1 mm. En el segundo ensayo se realizó la siembra de la bacteria *Micrococcus luteus* nuevamente en agar mueller, se usaron los dos

extractos (extracto etanólico y fracción lipídica) sin diluir para evaluar la actividad antibacteriana sobre la bacteria Gram positiva. El mecanismo de acción del alcohol es por la desorganización de la estructura lipídica, desnaturalización de proteínas o deshidratación que producen en las bacterias (Pulido & Valderrama, 2007). Mientras que el éter de petróleo la actividad antibacteriana se puede explicar cómo la separación por afinidad de los principios activos del extracto tales como triterpenos y esteroides por ende estos se consideran responsables del efecto de inhibición sobre las bacterias (Rojas , Pérez , Martínez , & Mielles , S.F.).

De acuerdo a un estudio publicado en la revista de Ciencia e Investigación año 2009, se demostró que los solventes usados (etanol al 95%, metanol y dimetilsulfoxido (DMSO)) para esta investigación no mostraron resultados positivos, demostrando que ellos no influyen en la actividad antibacteriana mostrada por los extractos de las plantas (Ruiz & Roque , 2009).

Respecto a los resultados sobre la inhibición de *Micrococcus luteus*, podemos afirmar que si hay efecto antimicrobiano de la *sechium edule* sobre bacteria Gram positiva, este efecto inhibitorio se debe a una proteína inactivadora de ribosomas, llamada *Sechiumin*, *Sechiumin* tiene una actividad RNA N-glicosidasa altamente específica hacia 28S rRNA, al igual que la cadena A de la abrina, que sugiere que es una de las proteínas de tipo I inactivadora de ribosomas, y que puede ser muy útil a nivel de tratamientos contra el cáncer. (WU, Lu-Ping , & Jung- Yaw, 1998).

El soporte para trabajar las disoluciones con el mismo solvente de la extracción (etanol al 96% y éter de petróleo) para posteriormente llevarlas a la siembra con diferentes concentraciones y que no se verían alterados nuestros resultados se encuentran reportadas en las bibliografías del anexo 1.

## 9. RECOMENDACIONES

En la maceración con etanol al 96% es necesario tener en cuenta las condiciones de secado del material vegetal, al tener fragmentado el material vegetal fresco se recomienda distribuir en capas delgadas sobre un recipiente o sobre papel periódico que se debe ir cambiando periódicamente. Se requiere que este recipiente no se deje directamente en contacto con el suelo debido a que este puede proporcionar humedad al material vegetal y hacer que esto produzca moho, es indispensable tener en cuenta que el material no se debe exponer directamente al sol ya que esto puede dañar la composición de los metabolitos secundarios, y es aconsejable ir dando vuelta al material vegetal para asegurar un secado uniforme. En el momento de agregar el etanol debe cubrirse por completo el material vegetal y dejar el recipiente en un lugar fresco y sin exposición al calor, a medida que el etanol se vaya evaporando se debe ir agregar nuevamente la cantidad necesaria para cubrir el material vegetal.

Es importante a la hora de extraer la fracción lipídica la selección del solvente debido a que este se encarga de disolver los principios liposolubles del material vegetal. Se recomienda usar un solvente no polar como el éter de petróleo ya que es selectivo para extraer lípidos no polares del material, no se recomienda usar un solvente con una alta volatilidad debido a que estos presentan una alta pérdida de solvente durante el proceso. Es aconsejable que la temperatura sea constante y suficiente no debe ser alta la temperatura para asegurar la ebullición del solvente.

Es recomendable que a la hora de realizar la marcha fitoquímica preliminar se cuente con el material suficiente para realizar las pruebas ya que es muy útil tener varias pipetas tanto para dispensar los dos extractos como para los reactivos debido a que algunos ensayos requieren de mezclas con el extracto, un ácido y el reactivo.

Para los ensayos microbiológicos se recomienda realizar todas las pruebas al lado de una fuente caliente (fuego) que evite el paso de nuevos microorganismos,

debido a que el agar por ser tan rico en sus componentes, puede “contaminarse” fácilmente al contacto con diversos microbios presentes en el ambiente. A la hora de preparar el agar se debe tener en cuenta que el empaque esté completamente cerrado y que no haya perdido la hermeticidad, se debe tener en cuenta que la refrigeración del agar favorece la deshidratación y en los medios preparados para bacterias anaerobias es mejor dejar la conservación a temperatura ambiente. Otro factor importante a tener en cuenta es el de evitar la condensación excesiva, porque la formación de muchas gotas puede causar la alteración del medio y generar un crecimiento inadecuado del microbio.

## CONCLUSIONES

- Al realizar los ensayos biológicos se observó que la cáscara de la *sechium edule* si presenta una actividad antibacteriana sobre las bacterias Gram positivas en este caso sobre la bacteria *Micrococcus luteus*, siendo diferencial entre el extracto etanólico y la fracción lipídica donde se logró percibir una inhibición significativa usando el extracto etanólico.
- Con los ensayos en disco realizados con el extracto etanólico y la fracción lipídica se logró obtener resultados positivos inhibiendo el crecimiento de la bacteria lo que se debe a el mecanismo de acción
- Con los ensayos biológicos realizados a la cáscara de la *Sechium edule* se identificó que la solución a 150 ppm se comporta como la concentración mínima inhibitoria frente a la bacteria Gram positiva *Micrococcus luteus* permitiendo controlar su proliferación.
- Mediante las pruebas de la marcha fitoquímica preliminar se logró determinar la presencia de los metabolitos secundarios en la cáscara de la *Sechium edule*: Carotenoides, quinonas y alcaloides bibliográficamente esta planta no presenta alcaloides en su composición de metabolitos secundarios.
- Con los resultados obtenidos en la marcha fitoquímica se logra realizar una comparación con otros estudios realizados con el fruto de la *Sechium edule* donde se usó como material de prueba la pulpa y se logró determinar la presencia de terpenos, flavonoides, saponinas y taninos puede haber influido la materia de secado del material.
- Al estudiar los resultados obtenidos por el método usado de difusión de disco, deducimos que esta metodología es indicada para evaluar de manera cualitativa la posible actividad de diversos extracto naturales, tal como indica Fisher & Phillips (2006)

## ANEXO 1

### Bibliografía

- Calderon , P., & Gagnon , D. (2012). Evaluation of selected medicinal plants extracted in different ethanol concentrations for antibacterial activity against human pathogens . *Journal of medicinally active plants* .
- Catiana , I., Cudmani, N., & Isla , M. I. (2007). Actividad antibacteriana de plantas medicinales argentinas sobre bacterias antibiótico-resistentes . *Acta bioquímica clínica latinoamericana* .
- Carrillo, M., Castillo , L., & Mauricio, R. (2011). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de la Huasteca Potosina (México). *Información Tecnológica* .
- Corzo , D. (2012). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico . *Revista Mexicana de ciencias Farmacéuticas* .
- Cuéllar , A., & Okori , D. (S.F.). Evaluación fitoquímica y de la actividad antimicrobiana de los extractos de la planta secas y frescas de *Commelina benghalensis*. *Researchgate*.
- Daud , A., Habib , N., & Sánchez , A. (2008). Actividad antimicrobiana de extractos alcohólicos de hojas y corteza de *Polylepis australis* Bitter (queñoa). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* .
- N.E. (S.F.). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de raíz y de flor de *Equinacea purpurea* .  
[http://www.feriadelasciencias.unam.mx/antecedentes/feria23/feria294\\_01\\_evaluacion\\_de\\_la\\_actividad\\_antimicrobiana\\_de\\_extra.pdf](http://www.feriadelasciencias.unam.mx/antecedentes/feria23/feria294_01_evaluacion_de_la_actividad_antimicrobiana_de_extra.pdf).
- Ramírez, R., Pedraza , A., & Sáenz , M. (S.F.). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de plantas frente a cepas bacterianas multirresistentes. *Researchgate*.
- Ruiz, J., & Roque , M. (2009). Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del Nor-oriental peruano. *Ciencia e investigación*, 41-47.
- Vivot , E., Massa , R., Cruañes , M., Muñoz , J., Ferraro , G., Gutkind, G., y otros. (2007). Actividad antimicrobiana In Vitro de seis especies autóctonas de la flora de entre ríos (Argentina). *Latin American Journal of Pharmacy* .

## BIBLIOGRAFÍA

- Adang, R., Shhouten, H., Van Tiel, F., & Biliham GH. (1992). La neumonia debido a *Micrococcus* spp. En un paciente con leucemia mieloide aguda. *Leukemia*, 224.
- AAL Ordoñez una, J. G. (2006 ). Actividades antioxidantes de *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extractos. *Food Chemistry* , 452-458.
- Alvarenga Venutolo, S., Abdelnour Esquivel , A., & Villalobos Arambula, V. (2007). Conservacion in vitro de chayote *Sechium edule*. *Agronomia mesoamericana*, 18(1), 65-73. Obtenido de <http://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=43718107>
- Alvarenga, S., Abdelnour, A., & Villalobos, V. (2007). Conservación in vitro del chayote (*Sechium edule*). *Agronomía Mesoamericana*, 65-77.
- Álvaro, G. (2003). Infección por *Staphylococcus aureus* metilino resistente adquirido en la comunidad. *Archivos de Pediatría del Uruguay*, 74(1).
- Andreopoulos, T., Papanikolaou, G., Politou , M., Konstanlopoulos, K., Stefanou , J., & Loukopoulus, D. (2000). *Micrococcus luteus*; A putative cause of hepatic abcess? *Panminerva Med*, 42:231-2.
- Arévalo, M., & Enciso, A. (1996). Determinación de la actividad antimicrobiana (bacterias, hongos y levaduras) de algunas especies de Espelotáis encontradas en el páramo de Guasca. En M. Arévalo, & A. Enciso. Bogotá D.C: Facultad Ciencias Básicas Departamento Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana.
- Arias, M., Angarita, M., Cardona, A., Restrepo, J., & Montoya, C. (2009). Estrategias para incrementar la producción de metabolitos secundarios en cultivos de células vegetales. *Fac.Nal Agr.*, 62(1), 4882-4895.
- Arias, M. T. (2014). Análisis fitoquímico y efecto antiproliferativo de genotipos de *Sechium edule* (Jacq) S w. SOBRE CANCER DE MAMA. MONTECILLO,

TEXCODO, México: Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. Colegio de Postgraduadas. .

Avendaño, C., Cadena , J., Arévalo, M., Cisneros , V., Aguirre, J., Moreno, E., . . .  
Ramírez, P. (2012). Variación genética en el complejo infraespecífico de chayote evaluada mediante sistemas isoenzimáticos. *SciELO*, 47(2).  
doi:10.1590/S0100-204X2012000200013

*Biblioteca Nacional de Medicina de EE.UU.* (1997-2014).

*Biblioteca Digital de la medicina tradicional Mexicana* . (2009). Recuperado el 2014, de medicina tradicional mexicana:  
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=cayote&id=7159>

Biblioteca Nacional de Medicina de EE. UU.; Instituto Nacional de la Salud. (2012).  
*Staphylococcus aureus* resistente a la metilina . *Medline Plus*.

Benavides Rodriguez , G. D., & Hermida Silva , A. M. (2008). Aislamiento e Identificación de Flora Bacteriana Nativa del Suelo de los Páramos Cruz Verde y Guasca (Cundinamarca). Bogotá DC.

Boehme,D.G.(N.E). *Infecciones estafilocócicas*. Unidad de infectología; Universidad de la Frontera.

Britania, L. (N.E de S.F). *Laboratorios Britania*. Recuperado el 2015, de [http://www.britanialab.com/productos/335\\_hoja\\_tecnica\\_es.pdf](http://www.britanialab.com/productos/335_hoja_tecnica_es.pdf)

Camarena, J. J., & Sanchez, R. (N.E). Infeccion por *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina. . *Control Calidad SEIMC*, N.E.

Carrillo, A. C., Rodríguez N, N., & Rodríguez, C. (2010). Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 117-124.



- Chiappe, A., Castañeda , B., Díaz , J., Romero , D., & Manuel , J. (S.F.). *Marcha Fitoquímica Preliminar de la Especie Conium Maculatum L. (Cicuta)*. Corporación Tecnológica de Bogotá.
- Colorado, J., Galeano, E., & Martínez , A. (2007). Desarrollo de la bioautografía directa como método de referencia para evaluar la actividad antimicrobiana de la Gentamicina Contra *Escherichia Coli*. *VITAE*, 14(1), 67-71.
- D, M. G. (2000). *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. . *Revista Chilena infecciones*, 145-152.
- Domingo, D., & López, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Sociedad Española de Quimioterapia*, 16(4), 385-393.
- E., N. (28 de Febrero de 2015). *Universidad Nacional Abierta y a Distancia*. Obtenido de Datateca: [http://datateca.unad.edu.co/contenidos/401552/Capitulo\\_4/41arrastre\\_con\\_vapor.html](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/401552/Capitulo_4/41arrastre_con_vapor.html)
- E., S., & F.A., M. (s.f.). Infecciones cutáneas. *N.E.*, 29-33.
- El Blog de Farmacia Arango*. (11 de Mayo de 2015). Obtenido de <https://elblogdefarmaciaarango.wordpress.com/tag/aceites-esenciales-quimiotipados/>
- García del Valle , A., & Zamudio Durán , M. M. (1998). *Manuel Microbiología Médica* . México: N.E.
- García del Valle, A., & Zamudio Durán, M. (1998). *Manual Microbiología Médica*. México.
- Galeano, E., Jiménez, N., & Osorio, E. (N A). *Formulación Farmacéutica de Productos Fitoterapéuticos*. Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquímica.
- Gertrudis, H., Silva, M., Taboada, W., & Tamariz, J. (2005). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias

- uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Scielo*, 16(1), 39-45.
- Gil, M. (2000). *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. *Child Infect*, 17(2), 145-152.
- Iñiguez, J. C., Soto Hernandez, M., Arevalo Galarza , M., & Avendaño , C. (2011). Caracterización Bioquímica de variedades de chayote *Sechium edule* (Jacq.) Sw. comparadas con parientes silvestres. *Revista Chapingo. Serie horticultura*.
- Juárez Montoya, E. (2006). Rastreo de Metabolitos Secundarios de Plantas Usadas en la Medicina Tradicional Mexicana para el Tratamiento de Enfermedades Cardiovasculares. México.
- Kuhn, N., Herrmann, M., Weber , S., & Peters, G. (1996). *Micrococcus luteus* as a cause of recurrent bacterimia. *Pediatr Infect Dis J*.
- Lamarque, A., Zygadzo , J., Labuckas, D., López, L., Torres , M., & Maestri, D. (S. F.). *Fundamentos teorico-practicos de química orgánica*. Córdoba, Argentina: Encuentro.
- Levy, S. B., & Marshall, B. (2004). Antibacterial resistance worldwide:causes, challenges and responses . *Nature medicine supplement*, 122-129.
- Lira Saade, R.(1996). *Chayote. Sechium edule (Jacq.) Sw. Promoting the conservation and use use of underutilizad and neglected crops*. Rome (Italy) : International Plant Genetic Resources Institute.
- López, C., March, C., García, C., Vidal, E., Teixido, M., & Álvarez, M. (2004). *Curso de Ingeniería química*. España: Reverté S.A.
- Lowy, F. (1998). *Staphylococcus aureus* Infections. *The New England Journal of Medicine*, 520-532.

- Lozoya, J. (2013). Bacteria *Staphylococcus aureus*: Síntomas, contagio y tratamiento. *Last updated* .
- Martinez, A. M. (2003). Carotenoides. En A. M. Martinez, *Carotenoides*. Medellín: Universidad de Antioquia .
- Manrique, E., & Mosquera, O. (1997). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos y fracciones obtenidas a partir de *Espilita murilloii* Cuatr. Y Espeletopsis guacharaca. Bogotá D.C: Facultad de ciencias Básicas, Pontificia Universidad Javeriana. .
- Mendoza, C., Barrientos, C., Panniza , V., Concha, B., Romero , P., Barahona , C., . . . Montealegre , S. (2000). Prevención de la infección intrahospitalaria por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina mediante el manejo de portadores. *Rev Chilena*.
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2011). Evaluación de Riesgos de *Staphylococcus aureus*. En M. Santamaria, M. Gamboa, B. Londoño, G. Burgos, & L. Urquijo. Bogotá, D.C: Imprenta Nacional de Colombia.
- Mohamed, A., & Polo, A. (N.E). Análisis Fitoquímico preliminar y determinación de las actividades anti-inflamatorias y cardiacas de los frutos de *Sechium edule*. Ciencias UNAL, 79-82. Obtenido de <http://www.ciencias.unal.edu.co/unciencias/data-file/farmacia/revista/V15P79-82.pdf>
- Monroy Vázquez, E., Soto Hernández, M., Cadena, J., Osorio, E. S., Ruiz , L. M., & Acevedo, H. (2009). *Scielo*, 43(8).
- Monrroy, E., Soto, M., Cadena, J., Osorio, S., Ruiz, L., & Rojas, H. (2009). Estudio biodirigido de un extracto alcohólico de frutos de *Shechium edule*. *Scielo*, 43(8).

- Moreno, A. P. (2010). *Shechium edule* y los fitoesteroles como agentes antihiperlipidemicos y antihipertensivos. *Waxapa Resultados de investigación*, 15-26.
- Nava, M. A. (N.E). <http://www.uaq.mx/>. Recuperado el 03 de 2016, de [http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56\\_1UAQGarciaNava.pdf](http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf)
- N.E. (20 de Mayo de 2013). Blogspot. Obtenido de Destilación por reflujo: <http://destilacioporreflujo.blogspot.com/2013/05/el-reflujo-es-una-de-laboratorio-para.html>
- N.A. (15 de Mayo de 2015). *El Blog de Farmacia Arango*. Obtenido de Aceites Esenciales Quimiotipados: <https://elblogdefarmaciarango.wordpress.com/tag/aceites-esenciales-quimiotipados/>
- N.E. (S.F.). *Microbitos Blog*. Obtenido de S.F.: <https://microbitos.files.wordpress.com/2011/08/staphylococcus-sp-fig6.jpg>
- N.E. (S.F.). *Cocina Semana*. Obtenido de Ventajas de Consumir Guatila: <http://www.cocinasemana.com/tips-de-cocina/articulo/ventajas-consumir-guatila/27719>
- N.E. (15 de Marzo de 2016). Microbe World. Obtenido de Micrococcus luteus: <http://www.microbeworld.org/component/jlibrary/?view=article&id=7885>
- N.E. (25 de Marzo de 2016). Micrococcus, Especies, Ambiental, Patogenesis, Los usos industriales, Micrococcus Mortus. Obtenido de La salud Familiar: <http://lasaludfamiliar.com/caja-de-cerebro/conocimiento-3163.html>
- Narvaez, D. (2004). *Actividad Citotóxica a través del Ensayo de Artemia salina de 31 Plantas del Parque Regional Natural Ucumari*. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira. .

- Ordoñez, A., Gomez, J., Cudmani, N., Vattuone, A., & Isla, I. (2003). Antimicrobial Activity of nine Extracts of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. *Taylor & Francis*, 33-39. doi:10.1080/08910600310015583
- Ordoñez, A., Gomez, J., Vattuone, M., & Isla, M. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chemistry*, 452-458.
- Organización Mundial de la Salud. (2001). Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. En O. M. Salud.
- Palavecino, E. (2002). Métodos recomendados para el estudio de susceptibilidad en *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Staphylococcus saprophyticus*: nuevos puntos de corte e interpretación de resultados. *Revista Chilena Infect*, 19(2), 119-124.
- Peces, R., Gago, E., Tejada, F., Lares, A., & Alvares-Grande, J. (1997). Relapsing bacteraemia due to *Micrococcus luteus* in a haemodialysis patient with a Perm-Cath catheter. *Neprol Dial Transplant*, 9-12.
- Perez, L. Y., Morris Quevedo, H., & Calas Viamonte, N. (2006). Scielo. *Revista Cubana de Medicina*.
- Picazo, J. J. (2000). Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. En *Procedimientos en Microbiología Clínica*.
- Pozner, R. (2010). *Instituto de Botánica Darwinion* (Vol. 9). Buenos Aires, Argentina.
- Rincón, S., Panesso, D., Díaz, L., Carvajal, L. P., Reyes, J., Munita, J. M., & Arias, C. A. (2014). Resistencia a antibióticos de última línea en cocos Gram positivos: la era posterior a la vancomicina. *US National Library of Medicine*, 34(1), 191-208. doi:10.1590/S0120-41572014000500022

- Pulido, J., & Valderrama, J. (2007). Determinación de la concentración mínima inhibitoria de formaldehído capaz de disminuir el crecimiento bacteriano de cepas obtenidas en piscinas de conservación cadavérica. Bogotá DC.
- Rojas, J., Pérez, A., Martínez, J., & Mieles, J. (S.F.). Actividad antibacteriana de extracto de hojas de Melia azedarach L. Bogotá DC.
- Saade, R. L. (s.f). La agricultura en mesoamerica, Chayote (*Sechium edule*). Mexico D.F: Herbario Nacional de México.
- Siciliano, T., Tommasi, N., Morelli, I., & Braca, A. (2004). Estudio de flavonoides de *Sechium edule* (Jacq) Swartz (Cucurbitaceae) diferentes órganos comestibles por Cromatografía Líquida de fotodiodos Espectrometría de Masas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6510 a 6515.
- Silva, M., Taboada, W., Tamariz, J., & Horda Gertrudis. (S.F.). Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas.
- Soma Álvarez, L. A., & Núñez Grajales, S. F. (2013). *Estudio socio-agronómico de la producción de chayote*. México: Universidad autónoma de chiapas.
- Subsecretaría de investigación tecnología; Ministerio, de Salud. (2001). *Manual de procedimientos para la determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos en bacterias aisladas de humanos*.
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Fisiología Vegetal*. N.E.: Universitat Jaume.
- Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. (S.F.). Laboratorio de química orgánica 502502. Bogotá.
- Valladares, A. d. (2010). *Sechium edule* (jacq.) Swartz y los fitoesteroles como agentes antihiperlipidemicos y antihipertensivos. *Waxapa* 3, 15-26.

Velazco, E., Nieves, B., Araque, M., & Calderas, Z. (N A). Epidemiología de infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en una unidad de alto riesgo neonatal. Elsevier, 20(7), 321-325.

WU, T.-H., Lu-Ping , C., & Jung- Yaw , L. (1998). Sechiumin, a ribosome-inactivating protein from the edible gourd, *Sechium edule* Swartz. European Journal of Biochemistry, 400-408.