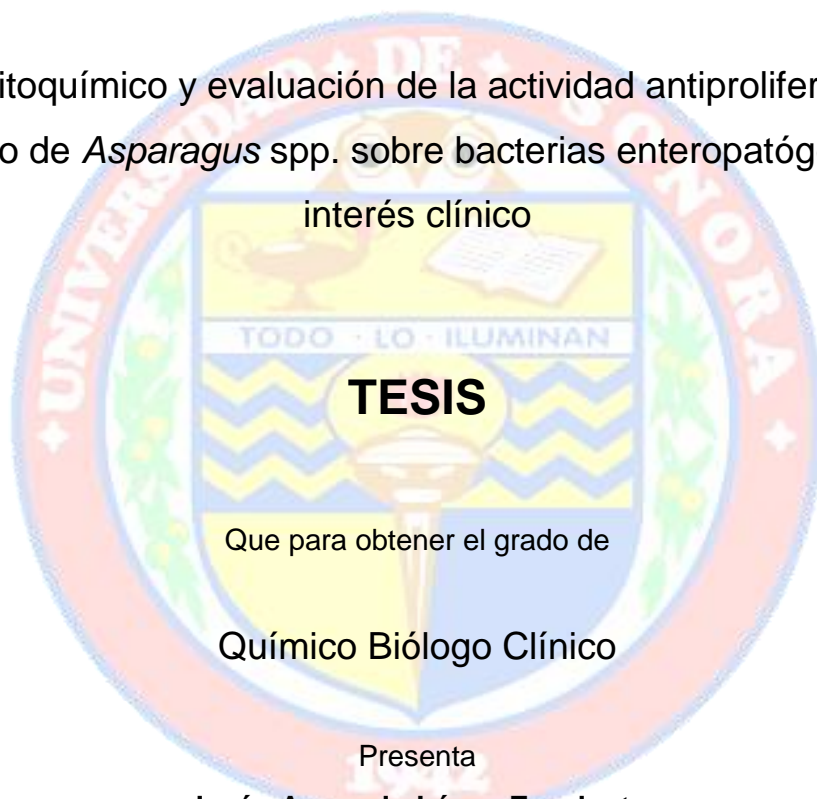


UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS E INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS

Tamiz fitoquímico y evaluación de la actividad antiproliferativa del
extracto de *Asparagus* spp. sobre bacterias enteropatógenas de
interés clínico



Que para obtener el grado de

Químico Biólogo Clínico

Presenta

Jesús Armando López Escalante

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

FORMA DE APROBACIÓN

Los miembros del Jurado Calificador designado para revisar el trabajo de Tesis de **Jesús Armando López Escalante**, lo han encontrado satisfactorio y recomiendan que sea aceptado como requisito parcial para obtener el grado de Químico Biólogo Clínico otorgado por la Universidad de Sonora, Unidad Regional Norte, Campus Caborca.

Presidente

Dra. Dora Edith Valencia Rivera

Secretario

Dr. Jesús Ortega García

Vocal

M.E. Yesica Enciso Martínez

Suplente

Q.B. Rafael de la Rosa López

DEDICATORIA

Dedico este proyecto de tesis a mi padre y a mi madre, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento y han sido un gran ejemplo a seguir para mí.

A mi hermano y a toda mi familia que siempre estuvieron ahí dando ánimos y muestras de afecto para lograr mis objetivos.

A mis compañeros y amigos por todos los momentos que pasamos a lo largo de la carrera y todo el apoyo que me brindaron en todo tipo de situación.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Sonora por haberme abierto las puertas y ofrecerme tantas experiencias en el transcurso de la licenciatura así como también a los diferentes profesores que me brindaron sus conocimientos y su apoyo para para seguir día a día.

Dra. Dora Edith Valencia Rivera le agradezco el apoyo incondicional, la paciencia que me brindó y sobre todo el haberme aceptado como su alumno para realizar este proyecto. Es una persona muy amable y en todo momento resolviendo las dudas y detalles que se presentaron en el transcurso.

M.E. Yessica Enciso Martínez le agradezco igual por su apoyo que me brindó durante el proyecto tanto así como en el aula.

Dr. Jesús Ortega García le agradezco por su apoyo como maestro, así como por sus conocimientos que me ha aportado durante el transcurso de la Universidad de Sonora.

Q.B. Rafael De la Rosa López, por formar parte de este jurado y al igual transmitir su conocimiento durante mi estancia en la Universidad de Sonora.

M.C. Moisés Navarro Navarro le agradezco por haberme dado la oportunidad de trabajar con él durante mi estancia en la Universidad de Sonora en Hermosillo Sonora.

CONTENIDO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABLAS	viii
ABREVIATURAS	ix
RESUMEN	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Enfermedades gastrointestinales causadas por enterobacterias	3
2.2. Enterobacterias de importancia clínica	4
2.2.1. <i>Salmonella</i>	5
2.2.2. <i>Escherichia coli</i>	7
2.3. Tratamiento para enfermedades gastrointestinales	8
2.4. Plantas con propiedades medicinales	10
2.5. <i>Asparagus</i> spp.	10
2.5.1. Actividades biológicas del espárrago	11
2.5.2. Estudio del espárrago en México	12
2.6. Tamiz fitoquímico de las plantas	12
2.6.1. Metabolitos secundarios de las plantas	13
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. OBJETIVOS	16

4.1. General	16
4.2. Específicos	16
5. MATERIALES Y MÉTODOS	17
5.1. Recolección del espárrago	17
5.2. Preparación y liofilización del espárrago	17
5.3. Obtención de extractos acuosos, metanólicos y etanólicos	19
5.4. Tamiz fitoquímico de los extractos	21
5.5. Inóculo bacteriano	23
5.6. Determinación de la actividad antibacteriana	24
5.7. Análisis de datos	24
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
6.1. Tamiz fitoquímico de los extractos	25
6.2. Actividad antibacteriana	27
7. CONCLUSIONES	35
8. RECOMENDACIONES	36
9. BIBLIOGRAFÍA	37
10. APÉNDICE	45

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1. (A) Espárrago utilizado como materia vegetal (B) Espárrago cortado en trozos pequeños, (C) Se muestra espárrago en proceso de liofilización.	18
Figura 2. (A) Espárrago liofilizado y macerado, (B) mezcla filtrada del polvo de espárrago con metanol, etanol y agua destilada, (C) equipo evaporador rotario para la recuperación del concentrado, (D) tubos falcón con el filtrado acuoso en el liofilizador LABCONCO.	20
Figura 3. Actividad del extracto acuoso de <i>Asparagus</i> spp. frente a la curva de desarrollo de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	29
Figura 4. Actividad del extracto metanólico de <i>Asparagus</i> spp. frente a la curva de desarrollo de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	30
Figura 5. Actividad del extracto etanólico de <i>Asparagus</i> spp. frente a la curva de desarrollo de <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	31
Figura 6. Actividad del extracto acuoso de <i>Asparagus</i> spp. frente a la curva de desarrollo de <i>E. coli</i> ATCC 25922	32
Figura 7. Actividad del extracto metanólico de <i>Asparagus</i> spp. frente a la curva de desarrollo de <i>E. coli</i> ATCC 25922	33
Figura 8. Actividad del extracto etanólico de <i>Asparagus</i> spp. frente a la curva de desarrollo de <i>E. coli</i> ATCC 25922	34

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla 1. Determinación de metabolitos secundarios presentes en los extractos Acuoso, Metanólico y Etanólico de <i>Asparagus</i> spp.	26

ABREVIATURAS

% - Porcentaje

°C – Grados centígrados

μ - Micras

μg – Microgramos

μL - Microlitros

A - Acuoso

ADN - Ácido desoxirribonucleico

ARN - Ácido ribonucleico

ATCC - American Type Culture Collection

cm - Centímetros

E – Etanólico

E.coli – *Escherichia coli*

EPEC – *Escherichia coli* Enteropatógena

FND - Financiera nacional de desarrollo agropecuario

g - Gramos

h - Horas

INEGI - Instituto Nacional de Estadística y Geografía

LPS - Lipopolisacáridos

M - Metanólico

mBar – Milibar (unidad de presión)

mL - Mililitro

nm - Nanómetro

OMS - Organización Mundial Salud

p:v – Peso/volumen

SHU – Síndrome hemolítico urémico

RESUMEN

En la actualidad, las plantas representan el recurso natural más utilizado para la búsqueda de compuestos bioactivos y se encuentran en estudio una gran variedad de familias. El espárrago es una planta dioica y perenne del género *Asparagus*, perteneciente a la familia de las Liliáceas. Este género comprende unas 100 especies originarias del sur de Europa, Asia y África, algunas de ellas con valor ornamental y solo una con valor hortícola, *Asparagus officinalis* L. Las plantas se han utilizado por la humanidad como remedios desde el principio de la civilización. En México se cuenta con una vasta herencia prehispánica, mesoamericana, evidenciada por el abundante recurso de hierbas medicinales. En la actualidad las enfermedades gastrointestinales son una de las causas más frecuentes de consulta médica y también una de las principales causas de muerte en el mundo. Las principales bacterias causantes de estas enfermedades son las enterobacterias, que son las que colonizan en el tubo digestivo. La familia *Enterobacteriaceae* consta de varios géneros: *Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter*. En la presente investigación se realizó el tamiz fitoquímico para identificar la presencia de metabolitos secundarios presente en los extractos del espárrago, usando reacciones cualitativas para determinar la presencia de flavonoides, saponinas, terpenos, alcaloides, glucósidos cardiotónicos y quinonas, encontrándose la presencia de flavonoides (negativo), saponinas (positivo), terpenos (positivo), alcaloides (negativo), glucósidos cardiotónicos (negativo) y quinonas (positivo). También se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos del espárrago utilizando el método de microdilución en caldo. Los extractos por igual dieron una baja inhibición en el crecimiento a las concentraciones de 50 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL, y 400 µg/mL contra las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

Los extractos acuosos, metanólicos y etanólicos presentan una baja actividad antiproliferativa frente a *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*.

1. INTRODUCCIÓN

En México ha existido una gran tradición en el estudio químico de las plantas, sin embargo, éste ha estado enfocado desde un punto de vista fitoquímico. En la última década este enfoque ha cambiado consideradamente, tanto en nuestro país como a nivel mundial, de tal manera que ahora se busca extraer los compuestos bioactivos y evaluar sus diversas actividades biológicas.

Se sabe que el espárrago, además de ser una hortaliza muy apreciada por sus características organolépticas y nutricionales, se puede considerar un alimento de gran calidad funcional ya que contiene diversos fitoquímicos que le confieren una actividad biológica importante (Fuentes, 2010). Entre estos compuestos destacan los de tipo fenólico, saponinas, esteroides, fructanos y polisacáridos de la pared celular. Estudios farmacológicos (Kamat *et al.*, 2000) han demostrado que extractos de espárrago poseen diversas actividades biológicas, entre las que destacan su actividad anticancerígena, antioxidante y antibacteriana.

Aun cuando el espárrago tenga numerosas propiedades beneficiosas para la salud, este no atrae al consumidor como planta medicinal, sino como una hortaliza de exquisito gusto, agradable aroma y textura tierna y carnosa. Debido a esto las investigaciones realizadas en México con respecto al espárrago hasta el momento se han enfocado a mejorar la producción y la calidad de este cultivo. Sin embargo, debido a su riqueza en nutrientes (“fitoquímicos”), el espárrago es un producto interesante que puede ser estudiado como fuente potencial de compuestos químicos bioactivos con posibles aplicaciones como nuevos tratamientos que combatan padecimientos como cáncer, diabetes, obesidad, estrés, entre otros.

Actualmente las enfermedades gastrointestinales son uno de los principales problemas salud pública, cuyo origen son por la transmisión vía fecal-oral, o bien el consumo de agua y alimentos contaminados, en las cuales los agentes

involucrados son virus, parásitos y bacterias. Las bacterias enteropatógenas son las principales causales de infecciones gastrointestinales, las cuales constituyen una de las enfermedades más frecuentes en la población humana; su etiología depende de varios factores como lo son el microorganismo causal, la edad, o las condiciones medioambientales, entre otros (Eiros *et al.*, 2008). En México, representa las principales causas de morbilidad, ubicándose en el segundo lugar (INEGI, 2011). Las infecciones gastrointestinales se caracterizan por un síndrome diarreico acuoso o invasivo, acompañado o no de vómito y dolor abdominal, debido a un proceso de inflamación y/o disfunción intestinal causado por la presencia de un agente patógeno en el tracto gastrointestinal. Dentro de los principales patógenos tenemos a *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Shigella* spp., *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica* (Álvarez *et al.*, 2008).

Considerado los reportes en la literatura acerca de la amplia gama de actividades biológicas del espárrago y siendo este el principal cultivo de la región de H. Caborca, Sonora, es interesante realizar estudios sobre su composición química y actividades biológicas, específicamente como inhibidor de la proliferación de bacterias enteropatógenas causantes de enfermedades gastrointestinales.

2. ANTECEDENTES

2.1. Enfermedades gastrointestinales causadas por enterobacterias

Las enfermedades gastrointestinales son una de las causas más frecuentes de consulta médica y también una de las principales causas de muerte en México y en el mundo. Actualmente, las infecciones gastrointestinales son una de las causas más importantes de morbimortalidad entre los lactantes y niños. Las enfermedades gastrointestinales infecciosas son causadas por bacterias, principalmente *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Shigella* (Hernández *et al.*, 2011). Entre las enfermedades más comunes, están: colitis, reflujo gastroesofágico, colon irritable, hepatitis C, salmonelosis, amebiasis, gastritis, úlceras, cálculos biliares, pirosis, entre otras (Hernández *et al.*, 2011).

Los trastornos gastrointestinales más comunes, varían según el patógeno y pueden ser leves o muy intensas típicamente se producen: diarreas, náuseas, vómitos, dolor abdominal y a veces fiebre (Vilaplana, 2006).

Las infecciones agudas del tracto gastrointestinal figuran entre las enfermedades infecciosas más frecuentes. Los cuadros gastrointestinales pueden presentarse en cualquier época del año, pero el riesgo de sufrir estas enfermedades se incrementa en la temporada de calor (Vila *et al.*, 2009)

Los microorganismos que causan disentería (*E. coli* diarreagénicas, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia* enterocolítica, *Vibrio cholerae*, *Clostridium difficile*, Rotavirus, *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*), pueden provocar cambios inflamatorios y destructivos en la mucosa del colon, por invasión directa o mediante la producción de citotoxinas (Giono *et al.*, 2003).

2.2. Enterobacterias de importancia clínica

Las enterobacterias son una amplia familia heterogénea de bacilos Gram negativos que residen en el colon sin causar enfermedad aunque con frecuencia son causantes de un número considerable de infecciones, tanto en pacientes con inmunidad conservada como en inmunodeprimidos ya que las enterobacterias colonizan el tubo digestivo (Galí, 2010). Como grupo, las Enterobacterias habitualmente colonizan diferentes mucosas, especialmente las del tracto gastrointestinal y urinario, por lo que las infecciones suceden a partir de estas localizaciones.

La familia *Enterobacteriaceae* consta de varios géneros: *Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Edwardsiella*, *Citrobacter* (Galí, 2010).

Shigella es una bacteria altamente enteroinvasiva; su hábitat es el colon y el humano es el principal reservorio. Se transmite a través de contacto directo o indirecto (alimentos y líquidos contaminados, principalmente) con heces de personas infectadas (Molina, 2015).

Yersinia enterocolítica penetra en las células de la mucosa intestinal y produce úlceras en el íleo terminal. La yersiniosis se manifiesta generalmente en forma de gastroenteritis aguda con diarrea, fiebre y dolor abdominal. Otra manifestación clínica es la formación de bubones (inflamación dolorosa de los ganglios linfáticos o linfadenomegalia) (Ostroff *et al.*, 1994).

Las especies *Proteus* se encuentran más comúnmente en el tracto intestinal humano como parte de la flora intestinal normal, poseen una membrana extracitoplasmática externa, una característica compartida con otras bacterias Gram negativas. Además, la membrana externa contiene una bicapa lipídica, lipoproteínas, polisacáridos y lipopolisacáridos. La infección depende de la

interacción entre el organismo infectante y los mecanismos de defensa del huésped (González, 2016).

2.2.1. *Salmonella*

Las salmonellas son bacterias Gram negativas, lo cual significa que no se tiñen de azul con el colorante aplicado en la prueba diseñada por Gram. Esto se debe a que dicho colorante tiñe la pared celular, que en estos casos está cubierta por una membrana externa. La cual tiene el antígeno O que está conformado por una cadena repetida de polisacáridos, que forma parte del lipopolisacárido (LPS), que se genera y sobresale de esta membrana y que actúa como una barrera de protección a agentes externos. Es así que estas bacterias están envueltas por varias capas: la membrana externa, la pared celular (que es diez veces más delgada que en las bacterias Gram-positivas), y la membrana interna. La membrana externa e interna delimita al periplasma. La apariencia de las bacterias en el microscopio es de bacilos, o cilindros con puntas redondeadas (Calva, 2015). De acuerdo con la presencia de los antígenos O (lipopolisacárido), Vi (polisacárido capsular) y H (flagelar) pueden actualmente serotiparse en más de 2,300 serovariedades. Los seres humanos los únicos huéspedes de *Salmonella typhi*, la fuente de nuevas infecciones son los enfermos convalecientes y los portadores sanos crónicos (Salyers, 2001).

El género *Salmonella* es el agente causal de diferentes infecciones intestinales, conocidas como salmonelosis. La salmonelosis humana puede dividirse en dos síndromes:

- 1) La fiebre entérica, que incluye la fiebre tifoidea causada por *S. typhi*, y la fiebre paratifoidea que es patológica y clínicamente similar a la tifoidea pero con síntomas menos fuertes, causada por *S. paratyphi* A, B, o C. La fiebre entérica implica una infección sistémica, debido a la invasividad de la bacteria.

2) La gastroenteritis o envenenamiento por alimentos, la cual es la más común de las infecciones, causada por muchos serotipos. Este tipo de infecciones no se acompaña de una infección sistémica. Los serotipos más comunes en la salmonellosis no-tifoidéica son *S. typhimurium* y *S. enteritidis* (Calva, 2015).

La salmonelosis, causada por la bacteria *Salmonella*, es una de las enfermedades de transmisión alimentaria más comunes y ampliamente extendidas. Se estima que afecta anualmente a decenas de millones de personas de todo el mundo y provoca más de cien mil defunciones (OMS, 2016).

En México no se cuenta con estadísticas nacionales de infecciones por *Salmonella*. Con frecuencia, el médico hace un diagnóstico basándose en el cuadro clínico del paciente, pero sin contar con los estudios microbiológicos necesarios para establecer un diagnóstico certero. La falta de un sistema de vigilancia con comunicación entre epidemiólogos, clínicos y el sector veterinario, así como la falta de infraestructura necesaria, impide que países como el nuestro pueda identificar las principales serovariedades de *Salmonella* en las diferentes clases de alimentos, así como el riesgo que cada una de estas entrañas para la salud de los seres humanos (Zaidi *et al.*, 2006).

La fiebre tifoidea es una enfermedad sistémica febril causada por *S. typhi*, *S. paratyphi* y ocasionalmente, *S. typhimurium*. Se caracteriza por la aparición de fiebre progresiva asociada a estreñimiento o diarrea profusa de carácter inflamatorio. Clásicamente se ha asociado a esta enfermedad la bradicardia relativa, pero en realidad es un dato con baja sensibilidad y especificidad. Las complicaciones más graves son la hemorragia digestiva, la perforación intestinal y los aneurismas micóticos (García *et al.*, 2010).

2.2.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli es una bacteria Gram negativa en forma de bacilo, flagelada, móvil, anaerobia facultativa, oxidasa negativo, indol positivo. A pesar de que es considerada como un microorganismo comensal de la microbiota intestinal del ser humano, existen cepas patógenas que pueden causar daño al huésped. Estas cepas patógenas se clasifican en base a su mecanismo de patogenicidad y cuadro clínico (principalmente diarrea) en seis grupos: *E. coli* enterotoxigénica, enterohemorrágica, enteroinvasiva, enteropatógena, enteroagregativa y *E. coli* de adherencia difusa (Rodríguez, 2002).

Escherichia coli y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo, además de ser responsables de producir vitaminas B y K. El tamaño promedio de los bacilos es de 0.5 μ de ancho por 3 μ de largo, cuando se utiliza la tinción de Gram se tiñen de rojo (Gram negativas). Algunas especies son móviles (por flagelos peritricos), no esporuladas, fermenta la glucosa y la lactosa, son catalasa positivos, oxidasa negativos y reduce nitratos a nitritos. El género *Escherichia* incluye siete especies (*E. adecarboxylata*, *E. alberti*, *E. blattae*, *E. fergusonii*, *E. hermannii*, *E. vulneris* y *E. coli*) (Eslava, 2015).

En México se ha aislado *E. coli* como agente etiológico de diarrea, las cuales se adquieren por ingestión de alimentos y agua contaminada (Cortez *et al.*, 2002). El control general de infecciones por cualquier cepa de *E. coli* exige mejores condiciones sanitarias, ambientales, en la preparación adecuada de alimentos en la mejoría de la higiene personal. Las medidas son análogas cuando se trata del control de brotes intrahospitalarios. Adicionalmente se están desarrollando trabajos en ese sentido para disponer de productos inmunizantes a base de enterotoxinas y de factores adhesivos que poseen cepas de los diferentes grupos de *E. coli* asociadas con procesos diarreicos, los cuales podrán contribuir a disminuir la morbilidad causada por estas bacterias, en particular en la población

infantil y en los individuos que viajan de una zona de bajo riesgo de diarrea a una de alta prevalencia (Eslava, 2015).

Las enfermedades diarreicas son la segunda mayor causa de muerte de niños menores de cinco años, y ocasionan la muerte de 760 000 millones de niños cada año (OMS, 2013). Dentro de la vigilancia epidemiológica que llevan a cabo las autoridades de salud de México, se ha reportado que el EPEC (*Escherichia coli* enteropatógena) se presenta de manera endémica hasta en 6% de la población, cifra muy parecida a la que presentan países industrializados como Alemania y Australia. En estos países se ha encontrado que 5.9% y 7.6%, respectivamente, de niños sanos son portadores normales de cepas de EPEC (Hernández *et al.*, 2011)

Entre los síntomas de la enfermedad causada por *E. coli* destacan los calambres abdominales y la diarrea, que puede progresar en algunos casos a diarrea sanguinolenta (colitis hemorrágica). También puede haber fiebre y vómitos. El periodo de incubación varía entre tres y ocho días, con una mediana de tres a cuatro días. La mayoría de los pacientes se recuperan en el término de diez días, pero en un pequeño porcentaje de los casos (especialmente niños pequeños y ancianos) la infección puede conducir a una enfermedad potencialmente mortal, como el síndrome hemolítico urémico (SHU). El SHU se caracteriza por una insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica y trombocitopenia (deficiencia de plaquetas) (OMS, 2005).

2.3. Tratamiento para enfermedades gastrointestinales

Las infecciones gastrointestinales típicas son las diarreas de origen bacteriano (shigelosis, cólera y *C. difficile*), infecciones intraabdominales, diverticulitis, peritonitis bacteriana espontánea, colangitis, etc. Los problemas gastrointestinales en los que un microorganismo es un factor en el cuadro clínico, corresponden a

enfermedad inflamatoria intestinal. En gastroenterología los antibióticos son ampliamente usados en el tratamiento de infecciones y como profilaxis antes de procedimientos gastrointestinales. Los antibióticos más usados son las penicilinas, antibióticos β -lactámicos, ampicilinas, entre otros (Zolezzi, 1997).

Las betalactamasas son enzimas producidas por algunas especies bacterianas y son las responsables de la resistencia que presentan dichas bacterias hacia antibióticos que en su estructura química presentan el anillo betalactámico (como penicilinas y cefalosporinas), ya que las betalactamasas rompen ese anillo con lo cual bloquean la actividad antimicrobiana de los esos compuestos. Los antibióticos inhibidores de las betalactamasas son el ácido clavulánico, tazobactam y sulbactam (Drawz, 2010).

La penicilina se puede obtener de *Penicillium glaucum*, del *P. notatum* y *P. chrysogenum*; en la actualidad se obtiene del *P. chrysogenum*, y gracias a este hongo se obtienen, con diferentes técnicas, las diversas penicilinas semisintéticas. La penicilina impide la síntesis de la pared de los microorganismos al inhibir a la enzima transpeptidasa, acción que evita la formación del peptidoglucano, y por lo tanto el entrecruzamiento de este que da rigidez y fuerza a la pared de la bacteria (Mendoza, 2007).

Penicilina semisintética derivada del núcleo 6-aminopenicilánico, de acción bactericida. Actúa inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana. Posee un amplio espectro antimicrobiano frente a bacterias Gram positivas, Gram negativas (*Neisseria spp*, *H.influenzae* no productor de betalactamasas y algunas enterobacterias) y anaerobios (PEDIAMÉCUM, 2015).

Otros tratamientos alternos son los alimentos probióticos que contienen cultivos vivos de bacterias que promueven el crecimiento de la “flora” intestinal y son un popular tratamiento contra enfermedades gastrointestinales. En los últimos años el surgimiento de nuevos productos “probióticos” ha ido en aumento y la industria les atribuye múltiples beneficios para la salud (Lawley *et al.*, 2012).

2.4. Plantas con propiedades medicinales

Las plantas han utilizadas por la humanidad como remedios desde el principio de la civilización. Hasta la fecha, desempeñan un papel importante en la atención de salud para alrededor del 80% de la población mundial. Estas han sido durante mucho tiempo una fuente muy importante de nuevos fármacos. Muchas especies de plantas han sido seleccionadas para obtener sustancias con actividad terapéutica (Mia y Rahman, 1990).

En México se cuenta con una vasta herencia prehispánica, mesoamericana, evidenciada por el abundante recurso de hierbas medicinales, que contienen 185 plantas con la descripción de sus características físicas, el modo de preparación como remedio y la manera de empleo en diversas situaciones patológicas (Muñeton, 2009).

La Organización Mundial de la Salud, ha reconocido el valor que las plantas medicinales pueden aportar a la hora de cubrir las necesidades sanitarias a nivel mundial y recomienda que se lleven a cabo sistemáticas evaluaciones clínicas y se establezcan normas más exigentes en lo que respecta a su cultivo y preparación (López, 2011).

2.5. *Asparagus* spp.

El espárrago es una planta dioica y perenne del género *Asparagus*, perteneciente a la familia de las *Liliáceas*. Este género comprende unas 100 especies originarias del sur de Europa, Asia y África, algunas de ellas con valor ornamental y sólo una con valor hortícola, *Asparagus officinalis* L. (Gatti *et al.*, 2003).

La planta del espárrago está formada por los tallos aéreos ramificados y una parte subterránea constituida por raíces y yemas, que es lo que se denomina

comúnmente “garra” o zarpa. El sistema radical del espárrago es muy potente. Las raíces principales son cilíndricas, gruesas y carnosas. El espárrago se divide en dos grupos principales: el espárrago verde y el espárrago blanco. Las características organolépticas y los usos culinarios de cada tipo de espárrago son diferentes. El verde se caracteriza por tener mayor valor nutritivo, textura carnosa y firme, aroma más intenso y sabor ligeramente más dulce, mientras el blanco tiene un mayor contenido en azúcares y más fibra. Ambos tipos de espárragos son cultivados a nivel mundial, aunque tradicionalmente el tipo blanco se ha cultivado en China y Europa, mientras que el tipo verde en Estados Unidos y, dentro de Europa, el sur de la Península Ibérica (Fuentes, 2010).

2.5.1. Actividades biológicas del espárrago

El espárrago, además de ser una hortaliza muy apreciada por sus características organolépticas y nutricionales, se puede considerar un alimento de gran calidad funcional ya que contiene diversos fitoquímicos que le confieren una potencial actividad biológica importante. Entre éstos hay que destacar fenoles, saponinas, esteroides, fructanos y polisacáridos de la pared celular. Desde hace siglos, las culturas orientales milenarias han usado los extractos de espárrago como tónico, laxante, antitusivo, diurético, etc. Estudios farmacológicos más recientes han mostrado que dichos extractos poseen diversas actividades biológicas, siendo de especial interés la capacidad antioxidante y la actividad antitumoral, si bien éstas siempre han sido medidas en ensayos *in vitro*. A estas dos actividades hay que añadir la capacidad de algunos de los componentes del espárrago, como los esteroides y las saponinas, de influir sobre el metabolismo lipídico y ayudar a disminuir los niveles de colesterol en el organismo (Fuentes, 2010).

2.5.2. Estudio del espárrago en México

La producción de espárragos a nivel mundial ha crecido a un ritmo de 5% anual entre los años 2000 y 2012, alcanzando más de 8 millones de toneladas en la actualidad. Aunque México únicamente produce el 1% del total, es el tercer productor mundial, después de China (89%) y Perú (5%) (FND, 2014).

México se ha convertido en el segundo exportador mundial, con una participación de alrededor del 27% del volumen total exportado, que alcanza cerca de 360 mil toneladas, sólo después de Perú (39%). Sólo son cinco las entidades en el país productoras de espárragos. Sonora es la principal de éstas y concentra el 68% del volumen y 69% del valor generado por la actividad. Le siguen en importancia Guanajuato, Baja California Norte, Baja California Sur y Querétaro (FND, 2014).

El espárrago, es un cultivo de gran importancia en la región de Caborca, Sonora, tanto por su alta producción, así como por los antioxidantes naturales (compuestos fenólicos) que contiene. Los principales componentes bioactivos del espárrago son fenoles (flavonoides y ácidos hidroxicinámicos) y saponinas, aunque otros compuestos, tales como los esteroides, oligosacáridos, aminoácidos y carotenoides, también pueden contribuir a las propiedades funcionales de este vegetal. Además de estos compuestos solubles, el espárrago es rico en fibra dietética, con efectos potenciales favorables (Espinoza *et al.*, 2015).

2.6. Tamizaje fitoquímico de las plantas

La importancia terapéutica de las plantas radica en la presencia de familias de compuestos químicos que poseen propiedades farmacológicas variadas. La lista de estas familias de compuestos es amplia y variada. Para esto existe la ciencia que usa las características químicas (quimiotaxonomía) (Bruneton, 1999).

El tamiz fitoquímico se refiere a la extracción, cribado e identificación de las sustancias medicinales activas que se encuentran en las plantas. Algunas de las sustancias bioactivas que se pueden derivar de las plantas son flavonoides, alcaloides, taninos y compuestos fenólicos entre otros. Se cree que puede haber alrededor de 4.000 fitoquímicos contenidos en las plantas que se pueden utilizar para prevenir, minimizar o remediar condiciones médicas como accidentes cerebrovasculares, cáncer o síndrome metabólico (Sabri *et al.*, 2012).

2.6.1. Metabolitos secundarios de las plantas

Una de las diferencias entre plantas y animales es su capacidad de síntesis de numerosas y diversas sustancias. Las plantas sintetizan y acumulan sustancias muy variadas como el ADN, ARN, proteínas, polisacáridos, azúcares y lípidos a partir de nutrimentos inorgánicos. Las sustancias vegetales, de naturaleza química extraordinariamente diferente, presentan propiedades también muy diversas, aunque su papel fisiológico en la planta es muchas veces no del todo conocido. En particular los vegetales, igual que otros organismos mediante sus procesos metabólicos sintetizan dos categorías de metabolitos: primarios y secundarios, aunque esta distinción resulta totalmente arbitraria pues no hay una división precisa entre metabolismo primario y secundario (Rivero, 2011).

Los metabolitos primarios, muy abundantes en la naturaleza, son indispensables para el desarrollo fisiológico de la planta, se encuentran presentes en grandes cantidades, son de fácil extracción y su explotación es relativamente barata y conducen a la síntesis de los metabolitos secundarios. Entre ellos se encuentran aminoácidos proteícos, proteínas, carbohidratos, lípidos, ácidos grasos, algunos ácidos carboxílicos, etc (Petiard, 1987). Los metabolitos o productos secundarios no tienen un papel definido en los procesos de respiración, asimilación, transporte, a diferencia de los metabolitos primarios como los carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos (Taiz, 1991).

Sin embargo, un compuesto secundario puede tener importancia para el organismo productor como un todo, porque está implicado en relaciones ecológicas, es decir, en la relación de la planta productora con los otros organismos de su ámbito natural. Ejemplo de ello, son los pigmentos de las flores que atraen a los insectos polinizadores y los compuestos que inhiben el crecimiento de otros organismos (sustancias alelopáticas) o que protegen a la planta de infecciones (fitoalexinas) o de los depredadores (disuasorios nutritivos) (Abrahamson, 1989).

3. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades gastrointestinales son uno de los principales problemas de causas de muerte en México y en el mundo. Son uno de los problemas más importantes de morbimortalidad entre los lactantes y niños. Se conoce la existencia de tratamientos que ayudan a estos tipos de enfermedades, pero es necesario buscar medicinas alternas como lo son las plantas, ya que cada vez estos microorganismos causantes van obteniendo mutaciones que logran tener más resistencia a los medicamentos ya existentes. El espárrago es uno de los principales cultivos de la región, generando gran derrama económica en la comunidad. Se conoce que contiene metabolitos primarios que son indispensables para la vida, así como su contenido de antioxidantes, pero no se han clasificado sus metabolitos secundarios. Que estos metabolitos son responsables de algunas funciones de la planta y así mismo de la inhibición de microorganismos. Tanto que se desconoce el potencial del espárrago como planta medicinal. Hoy en día, es necesario conocer más sobre estos metabolitos secundarios y las actividades antiproliferativa contra microorganismos como las bacterias, parásitos y virus que son causantes de este tipo de enfermedades.

4. OBJETIVOS

4.1. General

Evaluar la actividad antibacteriana de los extractos metanólicos, etanólicos y acuosos de espárrago sobre bacterias enteropatógenas de interés clínico.

4.2. Específicos

1. Obtener los extractos: metanólico, etanólico y acuoso de *Asparagus* spp.
2. Determinar la presencia de los principales grupos de compuestos fitoquímicos presentes en los extracto de espárrago.
3. Evaluar la actividad antiproliferativa del extracto metanólico, etanólico y acuoso de *Asparagus* spp. sobre las bacterias enteropatógenas *Salmonella*, y *E. coli*.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Recolección del espárrago

Los espárragos fueron comprados en el mercado local en la ciudad de H. Caborca, Sonora.

5.2. Preparación y liofilización del espárrago

Los espárragos fueron lavados con abundante agua corriente y posteriormente con agua destilada (**Figura 1A**). El espárrago fue cortado en trozos pequeños (aproximadamente 1 cm) y empaquetados en bolsas herméticas (ziploc) y posteriormente congelados a -20 °C (**Figura 1B**). Una vez congelado el vegetal fue liofilizado por un periodo de 6 días continuos en un liofilizador (LABCONCO FreeZone Plus 2.5 series), a una temperatura de -48 °C y una presión de 0.120 mbar (**Figura 1C**).



Figura 1. (A) Espárrago utilizado como materia vegetal, (B) Espárrago cortado en trozos pequeños, (C) Se muestra espárrago en proceso de liofilización

5.3. Obtención de extractos acuosos, metanólicos y etanólicos del espárrago

El vegetal liofilizado fue pulverizado utilizando un mortero con mano de porcelana. Para la extracción metanólica y etanólica se colocó una porción del espárrago pulverizado en metanol y en etanol (por separado cada solución) en una proporción 1:10 (p:v, por cada gramo de material vegetal se adicionaron 10 mL de solvente). Las mezclas se mantuvieron en agitación constante durante 7 días a temperatura ambiente y protegida de la luz. Una vez transcurrido el tiempo se filtraron con papel Whatman No. 4 cada uno. El filtrado recuperado se concentró en un evaporador rotario (Buchi switzerland, modelo R-215) a presión reducida, a 130 rpm y a temperatura constante de 40 °C (**Figura 2**). (Hernández *et al.*, 2007).

Para la extracción acuosa se colocó una porción del espárrago molido en agua destilada en una porción 1:10 p:v. La mezcla se mantuvo en agitación constante durante 7 días a temperatura ambiente y protegida de la luz. Una vez transcurrido el tiempo se filtró con papel Whatman No. 4. El filtrado recuperado se colocó en tubos falcón de 50 mL (en posición "pico de flauta), y posteriormente fueron liofilizados (LABCONCO FreeZone Plus 2.5 series), a una temperatura de -48 °C y una presión de 0.120 mbar (**Figura 2**).

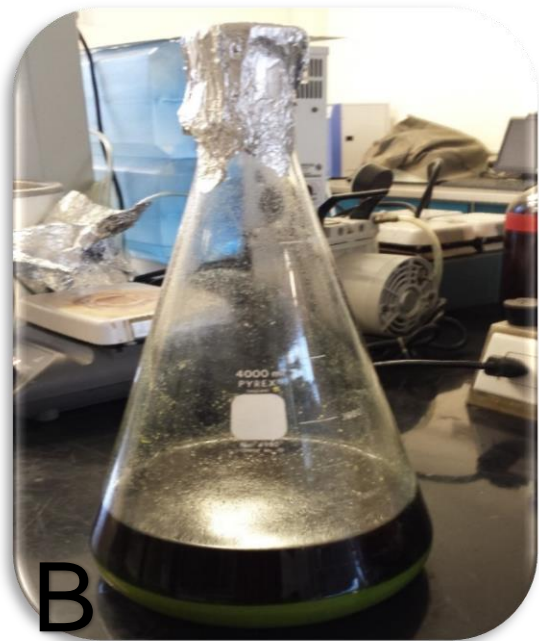
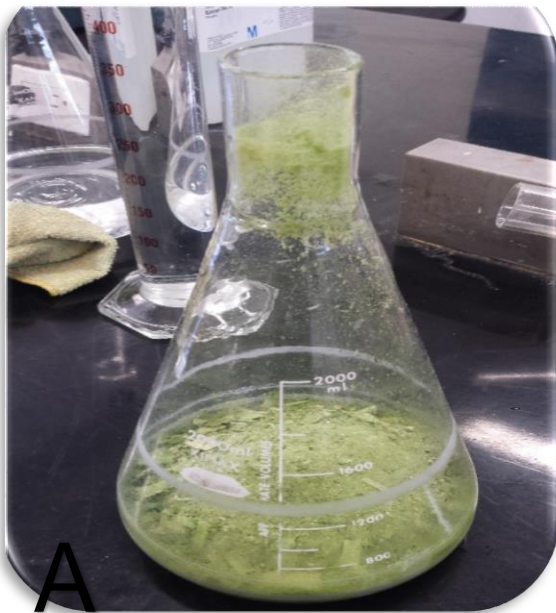


Figura 2. (A) Espárrago liofilizado y macerado, (B) mezcla filtrada del polvo de espárrago con metanol, etanol y agua destilada, (C) equipo evaporador rotario para la recuperación del concentrado, (D) tubos falcón con el filtrado acuoso en el liofilizador LABCONCO.

5.4. Tamizaje fitoquímico de los extractos

Flavonoides

Se disolvió una porción de los extractos en 2 mL de etanol absoluto y se dividió en tres tubos cada extracto, uno fue utilizado como testigo (control de blanco).

- 1) Reacción de Shidona. Adicionaron 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado, en la cual un desarrollo de coloración roja indica la presencia de auronas o chalconas. En caso de cambio de color, se colocó un trozo de magnesio metálico, si se forma una coloración naranja a rojo, indica la presencia de flavonas; si es rojo flavonoles y si es magenta flavononas (Miranda, 2002).
- 2) Reacción de hidróxido de sodio al 10%. Se le adicionaron 3 gotas de hidróxido de sodio, el desarrollo de una coloración de amarillo a rojo, indica la presencia de xantonas y flavonas; de café a naranja de flavonoles, púrpura a rojizo de chalconas y azul de antocianinas (Miranda, 2002).

Saponinas

- 1) Reacción de Rosenthaler. A una porción del extracto concentrado, se le adicionarán dos gotas del reactivo y estratificado con dos gotas de ácido sulfúrico concentrado. La formación de una coloración violeta, se considera positiva para las saponinas triterpénicas (Miranda, 2002).
- 2) Reacción de Espuma. A una porción del extracto concentrado, se le añaden 4 mL de agua destilada. Se agitó en vortex por 1 min, el ensayo se considera positivo a saponinas tipo esteroidal y triterpénicas si aparece espuma en la parte superior del líquido de más de 2 mm de altura y persiste por más de 2 minutos (Miranda, 2002.)

Terpenos

- 1) Reacción de Lieberman – Buchard. Se tomó una porción del extracto y se le adicionó 1 mL de cloroformo, posteriormente se adicionó 1 mL de anhídrido acético y se mezclaron bien. Por la pared del tubo se deja resbalar 2 -3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. El ensayo se considera positivo si la coloración va de rosado a azul (Miranda, 2002).

Alcaloides

Se tomó una porción del extracto y se adicionaron entre 5 mL a 10 mL de ácido clorhídrico al 10%, se calentó a ebullición por cinco minutos, se enfrió y fue filtrado utilizando un embudo con papel filtro Whatman No. 4. Posteriormente el filtrado se dividió en 2 tubos de ensaye:

- 1) Reacción de Wagner. Se agregaron 2 gotas del reactivo de Wagner. Se considera positivo la formación de un precipitado color marrón (Miranda, 2002).
- 2) Reacción de Mayer. Se agregaron dos a tres gotas del reactivo de Mayer, la reacción se considera positiva con la formación de precipitado blanco (Miranda, 2002).

Gucosidos cardiotónicos

Reacción Keller-Kiliani. Se tomó una porción del extracto y se colocó en un tubo de ensaye, se disolvió en 1 mL de ácido acético glacial y posterior 2 gotas de cloruro de hierro. Se adicionaron 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. La reacción

se considera positiva si se logra obtener un anillo color rojo en el menisco del líquido (Miranda, 2002).

Quinonas

Se colocó una porción del extracto en una cápsula de porcelana y se concentró a sequedad, posteriormente el extracto se dividió en dos porciones.

- 1) Reacción con ácido sulfúrico. Se agregó una gota de ácido sulfúrico concentrado a una porción del extracto. La formación de una coloración roja indica la presencia de antraquinonas (Miranda, 2002).
- 2) Reacción de Borntrager. Se diluyó una porción del extracto con 3 mL de agua destilada, se filtró y posteriormente al líquido filtrado se le añadieron 3 mL de cloroformo. Se le eliminó la fase acuosa y a la fracción clorofórmica se le adicionaron 2 mL de hidróxido de potasio al 5%. La aparición de un color rojo indica la presencia de benzoquinonas; si el color desarrollado es amarillo verdoso, se le adiciona 1 gota de peróxido de hidrógeno al 6%; si la coloración cambia a roja, se considera positiva para derivados de antronas (Miranda, 2002).

5.5. Inóculo bacteriano

Se prepararon colonias frescas de bacterias de 14 – 16 horas en agar Mueller Hinton y posteriormente se mezclaron las colonias con solución salina estéril, hasta lograr una densidad óptica de 0.95 ± 0.05 , igual a la lectura de MacFarland a 630 nm. (Navarro *et al.*, 2007).

5.6. Determinación de la actividad antiproliferativa

Se tomaron por triplicado 200 μ L de cada una de las concentraciones de extracto metanólico, etanólico y acuoso de espárrago y se colocaron en microplacas de 96 pozos de fondo plano. A un primer conjunto de pozos se le adicionaron inóculo bacteriano y otro conjunto se preparó sin bacterias y fueron utilizados como control de extracto. Adicionalmente, se prepararon tres pozos con 200 μ L de caldo de cultivo conteniendo al antibiótico gentamicina (12 μ g/mL), tres pozos con 200 μ L de caldo de cultivo con la máxima concentración de solvente (control de vehículo o solvente) al que las bacteria estuvieron expuestas en el ensayo, y tres más con caldo cultivo como control de esterilidad. Los pozos de prueba y los controles se inocularon con 15 μ L de la suspensión bacteriana previamente estandarizada. Después de la inoculación, la placa se incubó a 36°C y se leyó la densidad óptica a 630 nm de los pozos a las 0, 6, 12, 24 y 48 h con las lecturas obtenidas se realizaron curvas de desarrollo bacteriano, graficando tiempo contra densidad óptica (Navarro *et al.*, 2007).

5.7. Análisis de datos

Los resultados fueron capturados y guardados en Microsoft Excel. Se utilizó el programa GraphPad Prisma para graficar los datos obtenidos.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Tamiz fitoquímico de los extractos

Después de obtener el material vegetal y una vez sometido al proceso de molienda se procedió a generar los extractos (M, E, A) por medio del método de maceración. Observamos que partiendo de 158.78 gramos del espárrago ya liofilizado fueron extraídos 14.481 gramos de extracto crudo metanólico, en el caso del etanólico partimos de 78.42 gramos y 78.42 para el acuoso, y fueron extraídos 2.664 gramos de etanólico y 9.960 gramos de acuoso, respectivamente.

Con el objetivo de determinar cuáles son los metabolitos presentes en los extractos (M, E, A) del espárrago se llevaron a cabo diferentes reacciones específicas para cada metabolito. Como se muestra los resultados de la **Tabla 1** los extractos de espárrago presentaron positivo a las reacciones de Rosenthaler, Lieberman-Buchard y H_2SO_4 .

Para la determinación de Saponinas en los extractos se utilizó la reacción de Rosenthaler, la cual presentó una reacción positiva dando una coloración violeta, este resultado es un indicativo de que contiene saponinas triterpenoides.

Para la determinación de Terpenos en los extractos se utilizó la reacción de Lieberman-Buchard la cual presentó una reacción positiva dando una coloración azul claro, este resultado es un indicativo para presencia de terpenoides y terpenos que son compuestos aromáticos.

Para la determinación de Quinonas en los extractos se utilizó la reacción de H_2SO_4 la cual presentó una reacción positiva dando una coloración roja indica la presencia de antraquinonas.

Tabla 1. Determinación de Metabolitos Secundarios presentes en los extractos Acuoso, Metanólico y Etanólico de *Asparagus* spp.

Metabolitos	Ext. Acuoso	Ext. Metanólico	Ext. Etanólico
Flavonoides			
Rx Shinoda	(-)	(-)	(-)
Rx NaOH (10%)	(-)	(-)	(-)
Saponinas			
Espuma	(-)	(-)	(-)
Rx Rosenthaler	(+)	(+)	(+)
Terpenos			
Rx Lieberman-Bouchard	(+)	(+)	(+)
Alcaloides			
Mayer	(-)	(-)	(-)
Wagner	(-)	(-)	(-)
Glucosidos cardiotónicos			
Keller-Kilians	(-)	(-)	(-)
Quinonas			
Rx H ₂ SO ₄	(+)	(+)	(+)
Rx Borntrager	(-)	(-)	(-)

(-) Ausente (+) Presente

6.2. Actividad antiproliferativa

Las plantas superiores producen una capacidad de inhibir la proliferación principalmente como mecanismo de defensa contra infecciones o son sustancias constituyentes del metabolismo celular.

Como es de esperar, además de una larga lista de plantas con actividad antiproliferativa, existe un buen número de compuestos químicos responsables de esta actividad. Entre los metabolitos secundarios más comunes presentes en las plantas están los alcaloides, cumarinas, fenoles simples, flavonas, quinonas y taninos (Mia y Rahman, 1990).

La evaluación de los extractos del espárrago para inhibir a las bacterias de *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* fue determinada por medio del método de microdilución en caldo. Las concentraciones utilizadas para la evaluación antibacteriana del extracto fueron 400, 200, 100 y 50 µg/mL y utilizando como control de inhibición total a la gentamicina.

El efecto de la actividad antiproliferativa de los diferentes extractos de espárrago (metanólico, acuoso y etanólico) sobre *Salmonella typhimurium* se muestran las **Figura 3**, **Figura 4** y **Figura 5** (respectivamente). Los resultados obtenidos muestran que existe una inhibición sobre el crecimiento normal de la bacteria, la cual podría deberse a la presencia de algunos metabolitos secundarios presentes en el espárrago.

La actividad antiproliferativa de los extractos en contra de *Escherichia coli* se muestran las **Figura 6**, **Figura 7** y **Figura 8**. Se observó que mejoró la respuesta en contra de esta bacteria, lo cual puede deberse a la presencia de los metabolitos detectados en el tamiz.

El extracto acuoso del espárrago fue el que mostró mejor actividad antiproliferativa sobre la bacteria *Escherichia coli*, esto puede deberse a la presencia de los

metabolitos encontrados y a la polaridad del extracto, y también las diferentes características que presenta esta bacteria.

En comparación con otras investigaciones el potencial antibacteriano de 14 compuestos del tipo de terpenos de 3 especies de plantas colombianas (*Pleurothyrium cinereum*, *Esenbeckia alat* y *Raputia heptaphylla*) fue evaluado mediante la inhibición de crecimiento bacteriano por el método de difusión de agar contra las cepas *Escherichia coli* 25922 y *Salmonella tiphymurium* 14028. Los compuestos evaluados mostraron actividad frente a las cepas a diferentes niveles, observando una tendencia y selectividad. El terpeno diterpeno de núcleo kaurano fue el compuesto que presentó mayor actividad (Cuca *et al.*, 2011).

En el caso de nuestros extractos dieron positivo a terpeno, este puede ser uno de los factores de inhibición en comparación con otras investigaciones.

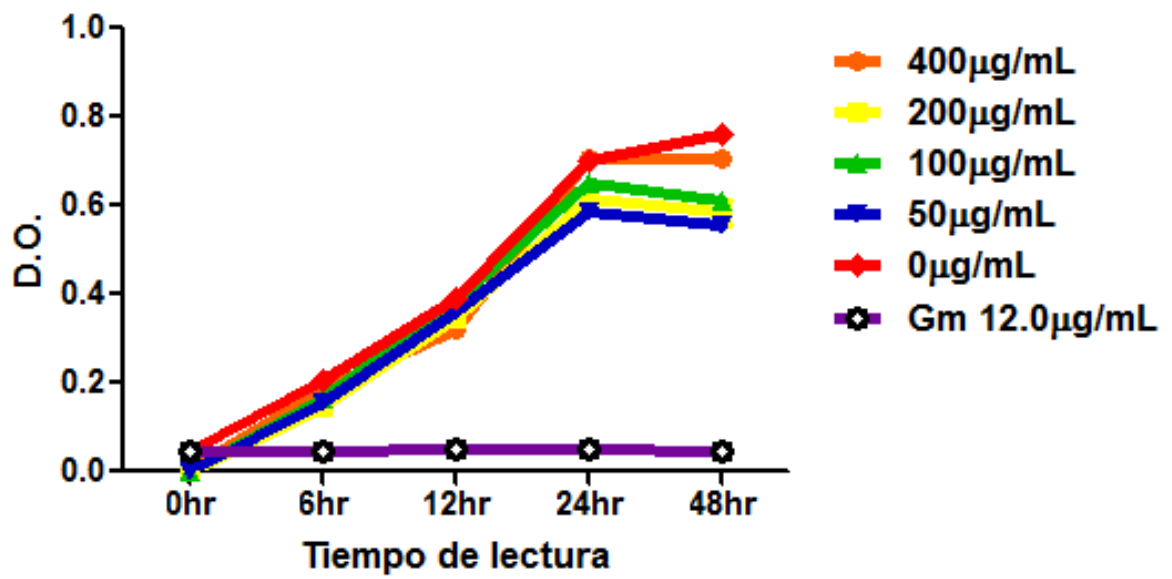


Figura 3. Actividad del extracto acuoso de *Asparagus* spp. frente a la curva de desarrollo de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

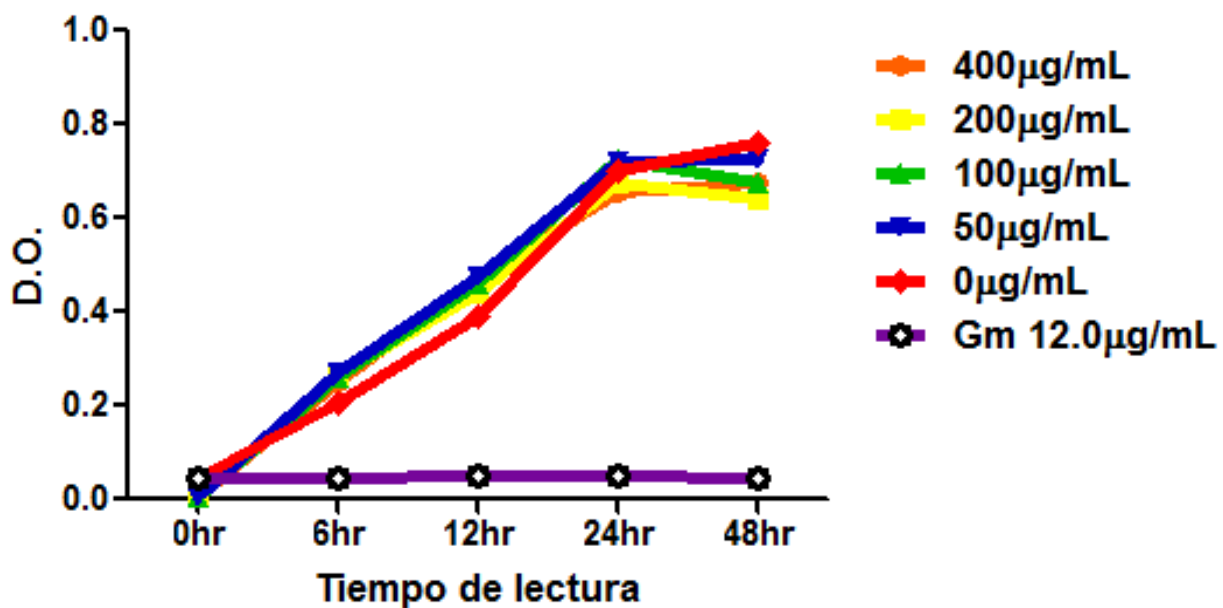


Figura 4. Actividad del extracto metanólico de *Asparagus* spp. frente a la curva de desarrollo de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

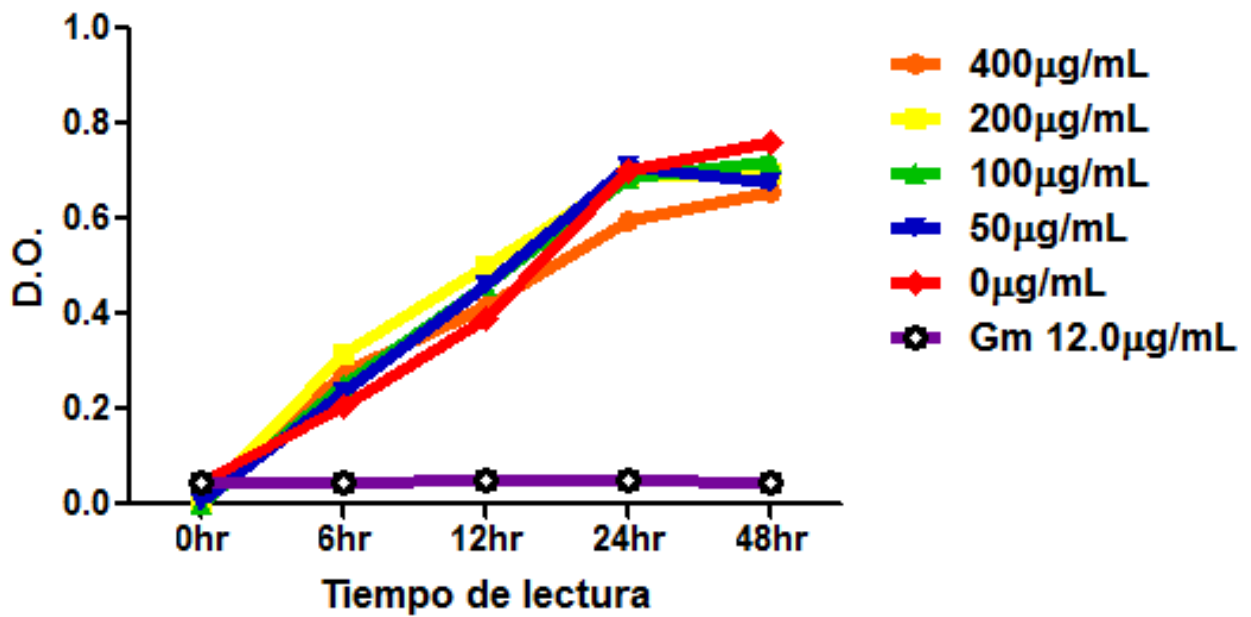


Figura 5. Actividad del extracto etanólico de *Asparagus* spp. frente a la curva de desarrollo de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

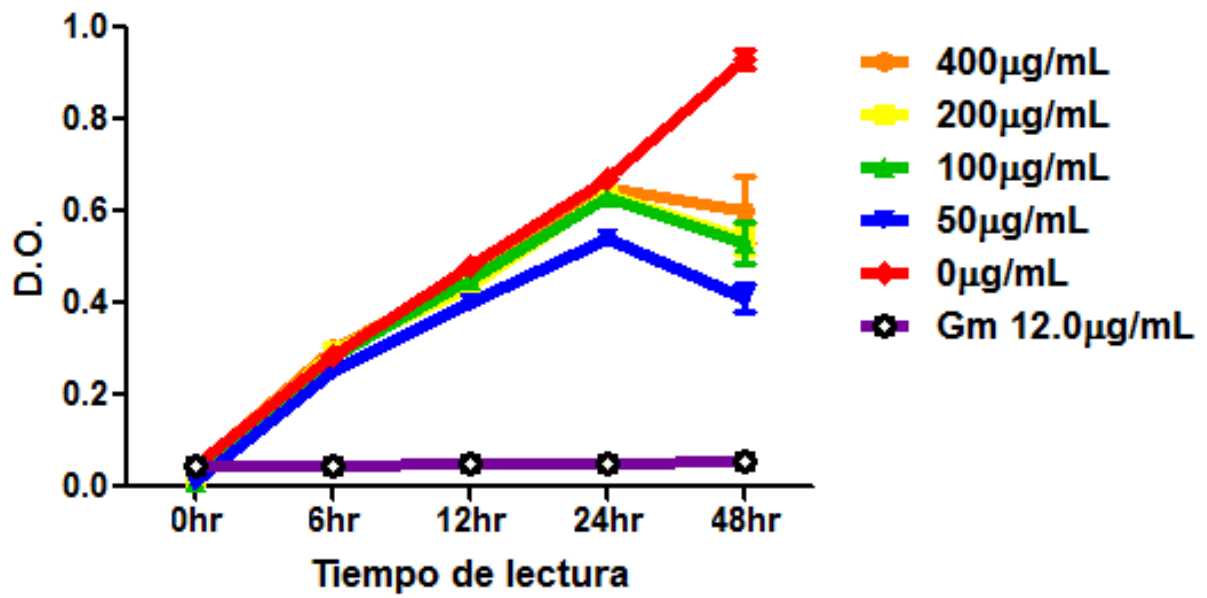


Figura 6. Actividad del extracto acuoso de *Asparagus* spp. frente a la curva de desarrollo de *E. coli* ATCC 25922

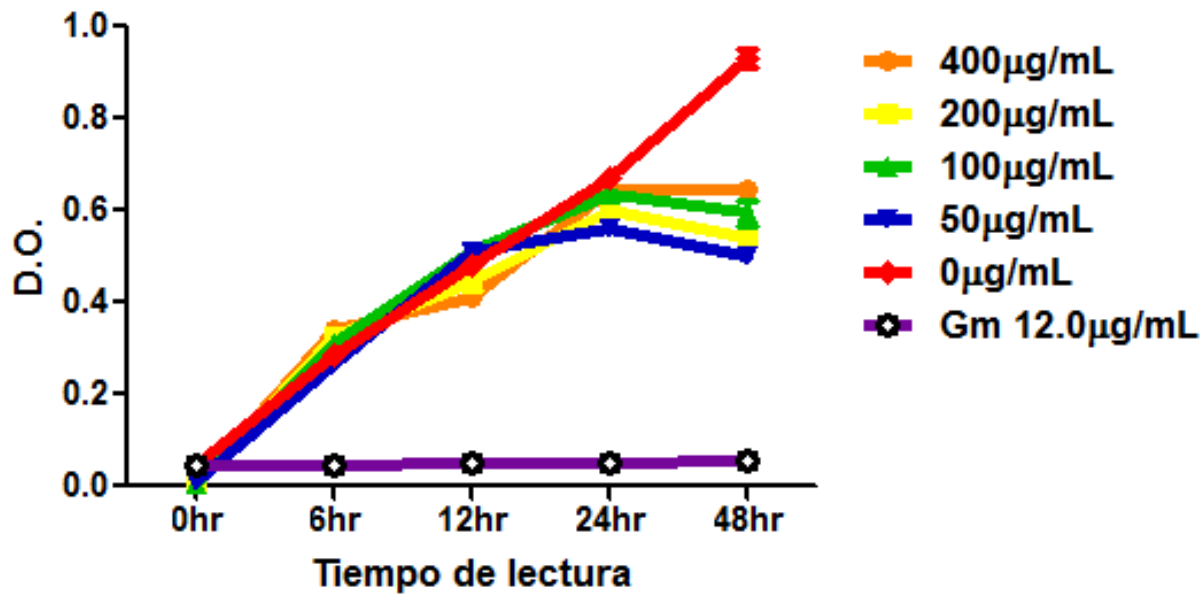


Figura 7. Actividad del extracto metanólico de *Asparagus* spp. frente a la curva de desarrollo de *E. coli* ATCC 25922

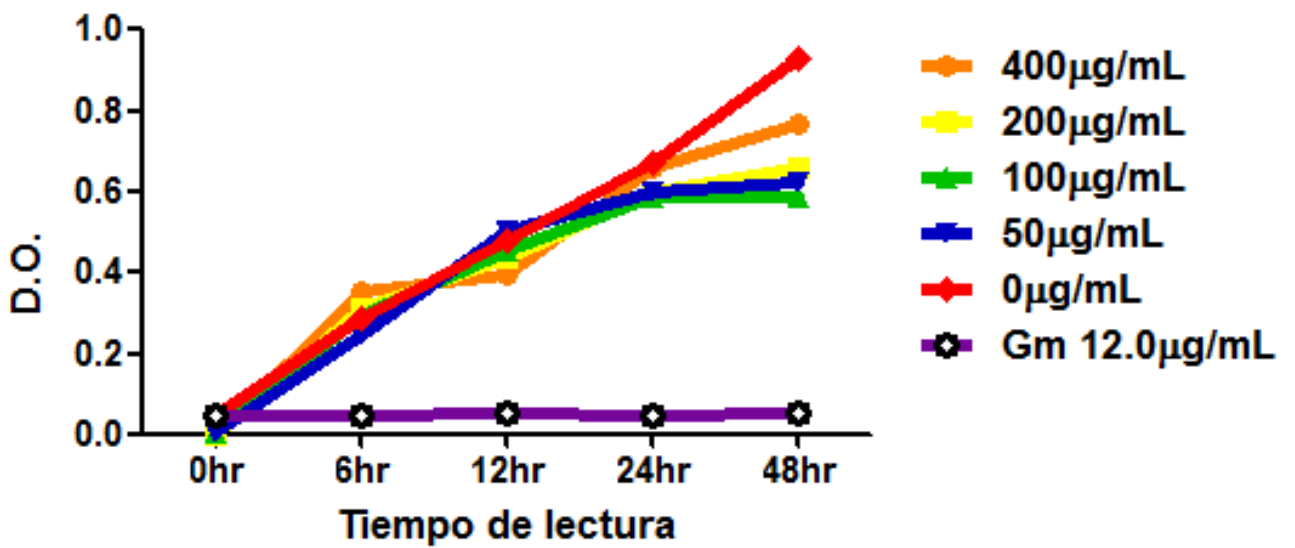


Figura 8. Actividad del extracto etanólico de *Asparagus* spp. frente a la curva de desarrollo de *E. coli* ATCC 25922

7. CONCLUSIONES

Se logró detectar los metabolitos secundarios presentes en los extractos (M, E, A) del espárrago, que fueron saponinas, terpenos y quinonas.

Con el fin de determinar la actividad antiproliferativa, se evaluó el efecto de los extractos (M, E, A) sobre el desarrollo de dos bacterias Gram negativas (*Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*). Los extractos de espárrago evaluados (M, E, A) sobre las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 mostraron poca actividad antibacteriana en comparación con el efecto producido por la gentamicina, la cual se utiliza actualmente como droga de elección.

El extracto acuoso mostró mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 comparado con los extractos metanólicos y etanólicos, así también con *Escherichia coli* ATCC 25922. Esto puede ser a la polaridad de los extractos, así también a las diferentes características de las bacterias.

8. RECOMENDACIONES

- Fraccionar los extractos metanólico, etanólico y acuoso del espárrago con la intención de mejorar la actividad antibacteriana de estos.
- Realizar la caracterización química (purificar compuestos bioactivos) del espárrago de la región de Caborca, Sonora con el objetivo de aislar e identificar el o los compuestos responsables de la actividad antibacteriana encontrada.
- Evaluar el efecto de los extractos sobre bacterias Gram positivas, las cuales de manera general son menos resistentes por su naturaleza estructural.
- Aislar los metabolitos positivos, ya que estos pueden ser responsables de la inhibición por parte de los extractos.

9. BIBLIOGRAFÍA

Abrahamson, W. G. 1989. Plant-animal interactions. Ed. McGraw-Hill. USA.

Álvarez, M. M., Buesa, G. J., Castillo, G. J., Vila, E. J. 2008. Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales. Recomendaciones de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Procedimientos en microbiología clínica No.30

Bruneton j.1999. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. 3ra Ed. Zaragoza. Ed Acribia 1999 1987p.

Calva Edmundo. (2015). *Salmonella typhi* y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública. 2016, de *Salmonella typhi* y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública Edmundo Calva Instituto de Biotecnología, UNAM Sitio web: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap4/>

Cortez-Ortiz, I. A., Rodríguez, A. G., Moreno, E. E., Tenoria, L. J., Torres, M. B., Montiel, V. E. 2002. Brote causado por *Escherichia coli* en Chalco, México. Salud pública de Méx. 44: 297-302.

Cuca Suárez Luis Enrique; Coy Barrera Carlos Andrés; Coy Barrera Ericsson David; Lozano Moreno José Manuel. (2011). Actividad antibacteriana de

terpenoides y alcaloides aislados de tres plantas colombianas. Laboratorio de Investigación en Productos Naturales Vegetales. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Universidad Nacional de Colombia. Sitio web: http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol45_2_11/far12211.htm. Consultada: 26/12/2016

Drawz S. M, Bonomo RA. 2010. Three decades of beta-lactamase inhibitors. Clin Microbiol Rev. Jan 2010; 23(1):160-201 doi:10.1128/CMR.00037-09

Eiros, J.M., Ortiz de Lejarazu R., Tenorio, A., Casas, I., Pozo, F., Ruiz, G., Pérez-Breña, P. 2008. Diagnóstico microbiológico de las infecciones virales respiratorias. Enferm Infecc Microbiol Clin; 27(3): 168-177

Eslava Campos Carlos A.. (2015). *Escherichia coli* diarrogenica. 2016, de Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, UNAM Sitio web: http://www.cva.itesm.mx/biblioteca/pagina_con_formato_version_oct/apaweb.htm

Espinoza Gámez, Flores Lara, Lugo Sepúlveda, Valencia Rivera, Rueda Puente, Ortega García. (2016). Comparación de la actividad antioxidante del extracto etanólico de espárrago, TBHQ y tocoferoles sobre aceites de soya utilizando el método Rancimat. Universidad de Sonora Sitio web: <http://www.invurnus.uson.mx/revistas/articulos/23-EspinozaGamezycol20162.pdf>, Consultado: 22/12/2016

FND (Financiera nacional de desarrollo agropecuario, rural, foresta y pesquero. (2014). Panorama del Espárrago. 2016, de Dirección General Adjunta de

Planeación EstrategicaEstratégica, AnalisisAnálisis Sectorial y
TecnologíasTecnologías de la InformacionInformación Sitio
web:<http://www.fnd.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Ficha%20Esp%C3%A1rrago.pdf>

Fuentes Alventosa José María. (2010). Obtención de ingredientes funcionales a partir de los subproductos generados durante su transformación industrial. En Caracterización de componentes bioactivos del espárrago verde (34-193). Córdoba: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.

Galí Navarro Zuleica del Carmen. (2010). Enterobacteris. Antibioticoterapia. 2016, de APUA Sitio web: http://www.sld.cu/galerias/doc/sitios/apua-cuba/enterobacterias_y_antibioticoterapia._dra_zuleica.doc.

García A. Puerta, Rodríguez F. Mateo. (2010). Enterobacterias. Unidad de Enfermedades Infecciosas. Sitio web: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine_2010.pdf Consultado: 26/12/2016

Gatti, I., López Anido, F., Picardi, L and Cointry, e. (2003). Selección de Progenitores en Espárragos. Horticultura Brasileria, 21(2):162-165.

Giono Cerezo S. 2003. "Diagnóstico de las enfermedades bacterianas del aparato gastrointestinal". En: Hernández Méndez J T, García CRE, Giono CS, Aparicio OG. Bacteriología Médica diagnóstica. México, 2003: 79-81, 134.

González Gus. (2016). Proteus Infections. The Center for Cancer and Blood Disorders Sitio web: <http://emedicine.medscape.com/article/226434-overview#showall>. Consultado: 26/12/2016

Hernández Cortez, Aguilera Arreola, & Castro Escarpuli . (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*, 31, 137-151.

Hernández, J., F. 2007. Sonoran Propolis: Chemical Composition Of Antiproliferative Activity on Cancer Cell Lines. *Planta Medica*. 73(14): 1469-1474.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2011. *Estadística*, Sociedad, Salud. <http://www.inegi.org.mx/Sistemas/temasV2/Default.aspx?s=est&c=21702> (Consultado Noviembre 2011).

Kamat, Bolor, K., Devasagayam, P. A., J., Venkatachalam, S. R. 2000. Antioxidant activity and antiapoptotic effect of *Asparagus racemosus* root extracts in human lung epithelial H460 cells. 71, 425–435.

Lawley TD, Clare S, Walker AW, Stares MD, Connor TR, et al. (2012) Targeted Restoration of the Intestinal Microbiota with a Simple, Defined Bacteriotherapy

Resolves Relapsing Clostridium difficile Disease in Mice. PLoS Pathog 8(10): e1002995. doi:10.1371/journal.ppat.1002995

López López Artemisa. (2011). Algunas plantas medicinales utilizadas en teonadepa, cumpas, sonora. 2016, de Acta Médica Hospital General Del Estado De Sonora Sitio web: <http://132.248.9.34/hevila/ActamedicadeSonora/2011/vol12/no5/6.pdf>

Mendoza Patiño Nicandro. (2007). Actualidades farmacológicas, PENICILINA. UNAM Sitio web: <http://www.ejournal.unam.mx/rfm/no49-4/RFM49410.pdf> Consultado: 26/12/2016

Mia MMK, Rahman M (1990). Preliminary ethnomedicinal studies at Sandwip island of Bangladesh. Tradit. Med. 104-108.

Miranda Martínez Migdalia. (2002). Metodos Métodos de análisis de drogas y extractos. Universidad de la Habana Sitio web: <https://es.scribd.com/doc/125194922/METODOS-D> Consultado: 22/12/2016

Molina López José. (2015). Infecciones por *Sshigella spp.* En Recursos en bacteriología(1). Facultad de medicina:cinas: UNAM.

Muñeton Pérez, Patricia "*Plantas medicinales: un complemento vital para la salud de los mexicanos. Entrevista con el Mtro. Erick Estrada Lugo*". Revista Digital Universitaria [en línea]. 10 de septiembre de 2009, Vol. 10, No. 9. Disponible en

Internet: <<http://www.revista.unam.mx/vol.10/num9/art58/int58.htm>>
ISSN: 1607-6079. [Consultada: 11 de septiembre de 2009]

Navarro Moisés. CIAD, AC. 2007. Tesis de Maestría en Ciencias. Pág. 1-59.

OMS. (2005). E. Coli. *E.coli*. OMS Sitio web:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/> Consultado: 27/12/2016

OMS. (2013). ENFERMEDADES DIARREICAS. OMS Sitio web:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/> Consultado: 27/12/2016

OMS. (2016). SALMONELOSIS. OMS Sitio web:
<http://www.who.int/topics/salmonella/es/> Consultado: 27/12/2016

Ostroff SM et al., 1994: Sources of sporadic *Yersinia enterocolitica* infections in Norway: a prospective case control study. *Epidemiology and Infection*, 112:133–141.

PEDIAMÉCUM. (2015). Ampicilina. Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. Sitio web: <http://pediamecum.es/wp-content/farmacos/Ampicilina.pdf> Consultado: 20/12/2016

Petiard, V. ; Bariaud-Fontanel, A. 1987. El cultivo de células. Mundo Científico 7: 730-736.

Rivero Sanchez, Iván Omar. (2011). Actividad hipoglucemiante y caracterización química de fracciones del extracto metanólico de *Psacalium decompositum*. Universidad de Sonora Sitio web: <http://www.bidi.uson.mx/TesisIndice.aspx?tesis=22614> Consultado: 22/12/2016

Rodríguez Angeles, G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos de *Escherichia cehrighia coli*. Salud Pública de Méx. 44: 464-475

Sabri Fatima Zohra, Belarbi Meriem, Sabri Samira, Alsayadi Muneer. (2012). Phytochemical Screening and identification of some compounds from Mallow . Scholars Research Library Sitio web: <http://scholarsresearchlibrary.com/JNPPR-vol2-iss4/JNPPR-2012-2-4-512-516.pdf> Consultado: 20/12/2016

Salyer A.A. 2001. *Shigella*. In: Bacterial Pathogenesis: A molecular approach. 2 ed. American Society for Microbiology.

Taiz, L.; Zeiger, E. 1998. Surface protection and secondary defense compounds. En: Plant Physiology. 2nd Ed. Sinauer Associates, Inc., Publishers. USA.

Vila J, Álvarez-Martínez M J, Buesa J, Castillo J. 2009. “Diagnóstico microbiológico de las infecciones gastrointestinales”. Enferm Infec Microbiol Clin 2009; 27: 406-411

Vilaplana Montse. (2006). *Ámbito farmacéutico Nutrición*. Barcelona: OFFARM.

Zaidi Mussaret B., López Constantino, Calva Edmundo. 2006. Estudios mexicanos sobre salmonella: epidemiología, vacunas y biología molecular. *Revista latinoamericana de MICROBIOLOGÍA, ALAM* Sitio web: <http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2006/mi062l.pdf> Consultado: 27/12/2016

Zolezzi Alberto. 1997. Antibióticos en Gastroenterología. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 17.

10. APÉNDICE

Reactivos

Reactivo de Rosenthaler

Reactivo de Wagner

Reactivo de Mayer

Preparación de reactivo de Rosenthaler: Diluir 1 g de vainillina en 100 mL de etanol.

Preparación de reactivo de Wagner: en un matraz volumétrico de 100 mL disolver 1.27 g de yodo y 2 gotas de yoduro de potasio en 20 mL de agua; aforar la solución con 100 mL de agua destilada

Preparación de reactivo de Mayer: En un matraz Erlenmeyer de 125 mL, disolver 1.36g de cloruro mercúrico con 60 mL de agua. En otro matraz de la misma capacidad, disolver en agua 5 g de yoduro de potasio. Mezclar las soluciones y aforar a 100 mL con agua destilada.