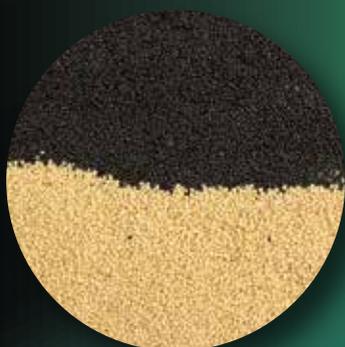




ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE CHOCHO, QUINUA, AMARANTO Y SANGORACHE



**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE
EXTRACTOS DE CHOCHO
(*Lupinus mutabilis* Sweet),
QUINUA (*Chenopodium quinoa* Wild)
AMARANTO (*Amaranthus caudatus* L.)
Y SANGORACHE (*Amaranthus hybridus* L.)**

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE CHOCHO (*Lupinus mutabilis* *Sweet*), QUINUA (*Chenopodium quinoa* *Wild*) AMARANTO (*Amaranthus caudatus* L.) Y SANGORACHE (*Amaranthus hybridus* L.)

Lourdes Cuadrado^{1,2}

Elena Villacrés²

Anita Ríos¹

María Belén Quelal²

Javier Álvarez²

ISBN: 978-9942-07-887-2. EPS

Como citar esta publicación:

Cuadrado, L., Villacrés, E., Ríos, A., Quelal, M., y Álvarez, J. 2015. Actividad antimicrobiana de extractos de chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) Amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) y sangorache (*Amaranthus hybridus* L.). Boletín técnico Nro. 428. Facultad de Ciencias de la Salud e Ingeniería. Universidad Nacional de Chimborazo. Departamento de Nutrición y Calidad de Alimentos. Estación Experimental Santa Catalina. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIAP. Quito. Ec. 46 p.

¹ Universidad Nacional de Chimborazo, UNACH. Facultades de Ciencias de la Salud e Ingeniería

² Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, INIAP. Departamento de Nutrición y Calidad de Alimentos

Índice

1. Introducción	6
2. Materiales y métodos	7
2.1 Materiales	7
2.1.1 Especies vegetales	7
2.1.2 Microorganismos	7
2.2 Metodología para la obtención de extractos	8
2.2.1 Preparación del material vegetal	8
2.2.2 Obtención de extractos	8
2.3 Metodología para la evaluación “ <i>in vitro</i> ” de la actividad antibacteriana y antifúngica	8
2.4 Metodología para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos vegetales	9
3. Resultados	11
3.1 Evaluación “ <i>in vitro</i> ” de la actividad antibacteriana de los extractos de granos de chocho, quinua, amaranto y sangorache	11
3.1.1 Estandarización de los métodos para determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de granos andinos	11
3.1.2 Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos lipídicos de chocho, quinua, amaranto y sangorache	11
3.1.2.1 Actividad antibacteriana de los extractos lipídicos, según el método del antibiograma “Bauer-Kirby”	11
3.1.2.2 Actividad antibacteriana: método de la concentración mínima inhibitoria	13
3.1.3 Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos etanólicos de chocho, quinua, amaranto y sangorache	14
3.1.3.1 Actividad antibacteriana de extractos etanólicos, según el método del antibiograma “Bauer-Kirby”	14
3.1.3.2 Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos, a través de la determinación de la concentración mínima inhibitoria	15
3.1.4 Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos alcaloidales del chocho, saponinas de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache	17
3.1.4.1 Actividad antibacteriana de extractos alcaloidales del chocho: Método del antibiograma “Bauer-Kirby”	17
3.1.4.2 Actividad antibacteriana de los extractos de saponina: Método del antibiograma “Bauer-Kirby”	17
3.1.4.3 Actividad antibacteriana de extractos de flavonoides de amaranto y sangorache: Método del antibiograma “Bauer-Kirby”	18

3.1.4.4	Actividad antibacteriana de los alcaloides en chocho, saponinas de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache: según el método de la concentración mínima inhibitoria.....	19
3.2	Evaluación de la actividad antimicótica de los extractos de granos de chocho, quinua, amaranto y sangorache.....	20
3.2.1	Estandarización de los métodos para determinación de la actividad antimicótica de los extractos de granos andinos.....	20
3.2.2	Evaluación antimicótica de los extractos lipídicos	20
3.2.2.1	Actividad antimicótica de los extractos lipídicos: Método del antibiograma "Bauer-Kirby"	20
3.2.2.2	Concentración mínima inhibitoria	21
3.2.3	Evaluación antimicótica de los extractos etanólicos del chocho, quinua, amaranto y sangorache.....	22
3.2.3.1	Actividad antimicótica de los extractos etanólicos: Método del antibiograma "Bauer-Kirby"	22
3.2.3.2	Actividad antimicótica de los extractos etanólicos: Método de la concentración mínima inhibitoria.....	23
3.2.4	Evaluación de la actividad antimicótica de los extractos alcaloidales del chocho, saponina de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache	25
3.2.4.1	Actividad antimicótica de extractos alcaloidales del chocho, saponina de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache: Método del antibiograma "Bauer-Kirby"	25
3.2.4.2	Actividad antimicótica de extractos alcaloidales de chocho, saponina de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache: método de la concentración mínima inhibitoria	26
3.3	Respuesta de los controles positivos utilizados en el ensayo	27
3.3.1	Actividad antimicrobiana de los controles positivos: método del antibiograma.....	27
3.3.2	Actividad antimicrobiana: método de la concentración mínima inhibitoria.....	28
4.	Conclusiones	29
	Glosario de Términos	30
	Bibliografía	31
	Anexos	34

Agradecimiento

Los autores, dejan constancia de agradecimiento a:

- A la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología (SENESCYT), por su apoyo a la investigación y publicación de resultados, a través del proyecto: "Valorización y aprovechamiento del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet), quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), amaranto (*Amaranthus caudatus* L.) y sangorache (*Amaranthus hybridus* L.)", PIC-12-INIAP-004.
- Al Comité de Publicaciones de la UNACH, por sus valiosos aportes para mejorar el presente trabajo.
- A la Facultad de Ciencias de la Salud y Carrera de Agroindustrias de la Universidad Nacional de Chimborazo por las facilidades brindadas para la realización de los ensayos biológicos, en especial a los Señores y Señoritas: Jenny Aguirre, Diana García y Gabril Arturo Chicaiza, por su participación y dedicación en los bioensayos.
- A todas las personas que de forma directa o indirecta colaboraron para la culminación de este esfuerzo, que esperamos, sirva de semilla para nuevos y mayores logros.

Presentación

Las propiedades farmacológicas de las plantas se deben principalmente a que contienen metabolitos o compuestos secundarios, los cuales ejercen sus efectos una vez que han sido ingeridos o aplicados en infusiones, cataplasmas y otras preparaciones. La característica más importante de muchos metabolitos secundarios es su distribución relativamente restringida en la naturaleza que, en algunos casos, se limita a especies o subespecies únicas; en consecuencia son una manifestación de la individualidad del organismo que los contiene. Es posible que muchos de estos metabolitos sean esenciales para el organismo que los produce, pero en general deben tener algún significado biológico ya que son biosintetizados y biodegradados, por lo que se presume deben poseer alguna función, probablemente específica (Valencia, 1993).

En general las plantas son una fuente de moléculas bioactivas, y la mayor parte de las ellas no han sido estudiadas. Aparentemente, casi cada especie vegetal ha desarrollado un complejo de sustancias químicas único, que la protege contra sus depredadores naturales; de esta manera el reino vegetal ofrece un universo de principios activos que ejercen casi cualquier actividad biológica imaginable. Además, muchos extractos o compuestos botánicos tienen la ventaja de proveer modos de acción novedosos, que reducen el riesgo de resistencia cruzada (Arnason *et al*; 1989, citado por Atehortúa, 1994). Los granos andinos son especies vegetales que además de alimento han sido usadas en los sistemas etnomédicos de la zona andina, lo que orientó la investigación de la actividad biológica, con el objeto de descubrir compuestos activos, aplicando bioensayos suficientemente sensibles que permitieron detectar la actividad antimicrobiana de los extractos, en concentraciones bajas. Como organismos de prueba en los bioensayos se utilizaron cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 9637, *Klebsiella Pneumoniae* ATCC 10031 y *Micrococcus flavus* ATCC 14452 *Candida albicans* ATCC 10231 y *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601. Los resultados de estas pruebas orientaron, los ensayos en un sistema más costoso con animales experimentales de laboratorio.

El contenido de este boletín cumple con los requisitos generales siguientes: Introducción, mención de las especies en estudio, metodologías utilizadas, resultados obtenidos, conclusiones y un glosario de términos. Se completa con la bibliografía, referencias específicas y los Anexos conteniendo la descripción de las metodologías utilizadas.

1. Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2013), las enfermedades infecciosas son la principal causa de muerte del ser humano, sobre todo en lugares donde el acceso a medicamentos de buena calidad es limitado. El último informe publicado por la OMS titulado "Resistencia a los antimicrobianos: informe mundial de vigilancia", establece que la resistencia a los antimicrobianos y en particular a los antibióticos es una amenaza de salud pública que puede afectar a los seres humanos en cualquier país del mundo.

Específicamente en la Región de las Américas, existe elevada resistencia a las cefalosporinas o fluoroquinolonas, antibióticos que sirven para contrarrestar las infecciones provocadas por *Escherichia coli*. En ciertos entornos se observa que hasta un 90% de las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* son resistentes a la metilicina, lo cual conlleva a concluir que el tratamiento con antibióticos habituales cada vez se complica más (OMS, 2014). En el Ecuador, no es la excepción, según datos del 2008 se observó que existe resistencia antimicrobiana de hasta un 71% de la ampicilina sobre cepas de *Escherichia coli*; en el caso de *Staphylococcus aureus* existió un 30% y 25% de resistencia frente a eritromicina y oxacilina respectivamente, mientras que para *Salmonella spp* hubo un 30% de resistencia frente a tetraciclina (Quizhpe, 2014).

Sin embargo, según la teoría darwiniana la resistencia microbiana es inevitable, debido a que es un fenómeno biológico evolutivo natural, que al igual que los seres humanos los microorganismos también se defienden del medio ambiente hostil y buscan nuevos mecanismos de adaptación al medio (Barberán, 2006). De ahí la importancia de generar estrategias orientadas a contrarrestar esta amenaza de salud pública mundial, a través de planes que involucren la innovación, investigación y desarrollo de nuevas herramientas para el diagnóstico y tratamiento de las enfermedades infecciosas, así como fortalecer la prevención y control mediante una mejor higiene, acceso al agua potable, acceso a la vacunación y a una mejor calidad de vida sobre todo en los países en vías de desarrollo (Roses, 2011; OMS, 2013).

Los antibióticos naturales procedentes del mundo vegetal son capaces de inhibir o anular el crecimiento de microorganismos (Botanical online, 2014). Una planta medicinal es considerada como un complejo laboratorio de síntesis y degradación en donde se concentran metabolitos primarios, secundarios y una serie de sustancias con actividad biológica (Araujo y Salas, 2008); de cuyo estudio y aprovechamiento se encargan la fitoquímica, fitofarmacológica y la antibioticoterapia como una alternativa eficaz para el control de infecciones microbianas (Ávila et al; 2006 citado por Cruz et al; 2010; Cordiés et al; 1998).

La OMS reconoce la importancia de las plantas medicinales y establece que es fundamental la investigación de las mismas para asegurar su efectividad y calidad en el tratamiento de determinadas enfermedades (Sharapin, 2000). En este contexto, los granos andinos presentan metabolitos secundarios cuya actividad biológica debe estudiarse, para potenciar su utilidad como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes entre otros.

2. Materiales y métodos

2.1 Materiales

2.1.1 Especies vegetales

El presente estudio se realizó con las especies vegetales que se indican a continuación:

Tabla 1. Especies vegetales utilizadas para la evaluación “*in vitro*” de la actividad antibacteriana

Especie	Variedad
Quinoa	INIAP - Tunkahuan
	INIAP - Pata de venado
	Criolla morada
	Criolla blanca
Chocho	INIAP - 450
	INIAP - 451
	Criollo
Amaranto	INIAP - Alegría
	Perucho
Sangorache	INIAP - Rubí

2.1.2 Microorganismos

Para los ensayos biológicos se emplearon las siguientes cepas, provistas por el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI), sede Guayaquil, las cuales fueron crio-conservadas en el Laboratorio de Investigación de la UNACH.

Tabla 2. Cepas microbianas utilizadas para los ensayos biológicos

Microorganismo	Tipo
Cepas Bacterianas	<ul style="list-style-type: none">○ <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923○ <i>Escherichia coli</i> ATCC 9637○ <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031○ <i>Micrococcus flavus</i> ATCC 14452
Cepas micóticas	<ul style="list-style-type: none">○ <i>Candida albicans</i> ATCC 10231○ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 2601

2.2 Metodología para la obtención de extractos

2.2.1 Preparación del material vegetal

Una vez recolectadas las diferentes especies vegetales se separaron las fracciones de la planta (hojas, granos, tallos, inflorescencias), estas fueron lavadas y secadas a temperatura ambiente, posteriormente fueron molidas para facilitar el proceso de extracción.

2.2.2 Obtención de extractos

Para la obtención de extractos a partir de las hojas y granos se usó solventes de diferente polaridad, utilizando la metodología descrita por Miranda (2012) y Lock (1998), como se muestra en la Figura 1.

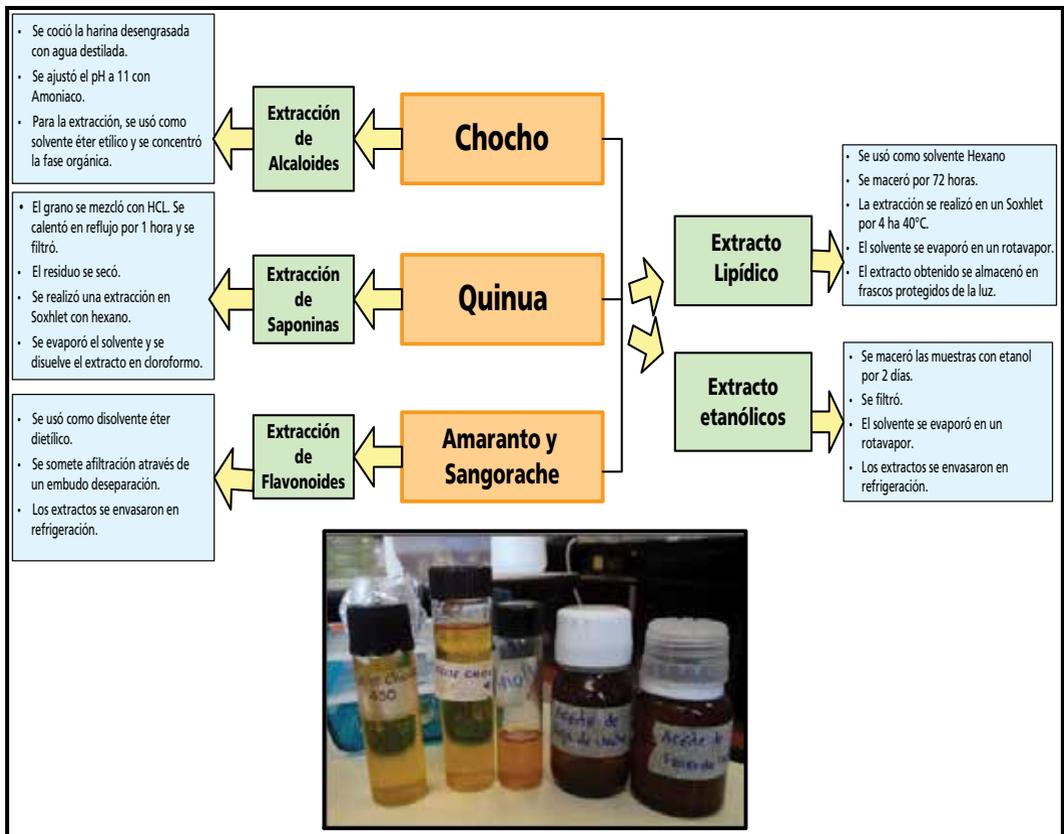


Figura 1. Obtención de extractos, a partir de diferentes fracciones de las plantas

2.3 Metodología para la evaluación "in vitro" de la actividad antibacteriana y antifúngica

Se evaluó la resistencia y sensibilidad de los microorganismos mencionados a los diferentes extractos vegetales; para lo cual se tomó como referencia las normas

del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) - M02-A11 (2012). Se realizaron pruebas de antibiograma, según el método de Bauer y Kirby, citado por Aguirre, (2013); Chicaiza, (2014) y García, (2014). Un esbozo general de la técnica se muestra en la Figura 2, cuyos detalles específicos constan en el anexo 1.

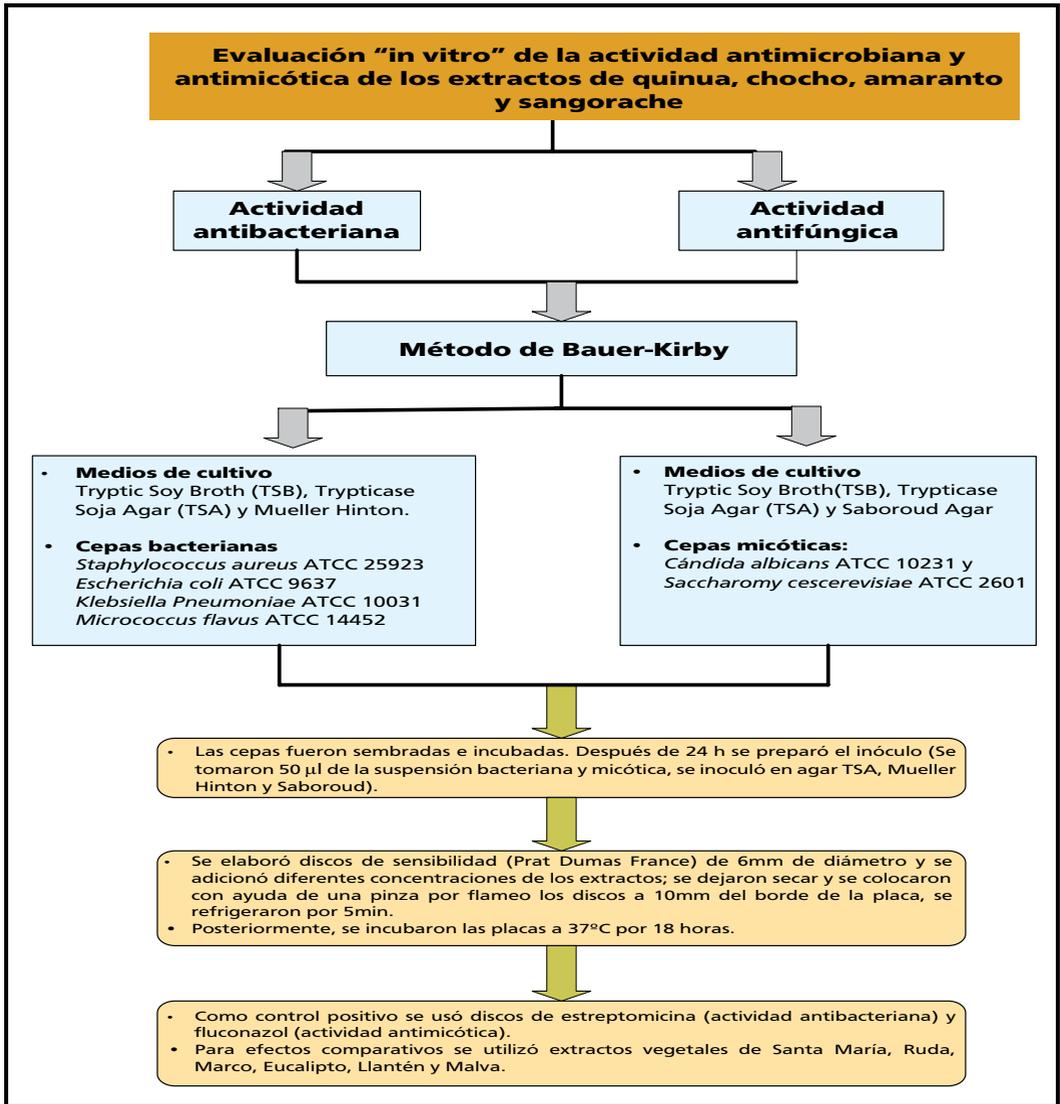


Figura 2. Metodología para la evaluación “in vitro” de la actividad antibacteriana y antifúngica de los extractos vegetales

2.4 Metodología para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos vegetales

Para esta determinación se realizaron diluciones sucesivas a partir de una concentración patrón obtenida en un medio de cultivo TSB sobre microplacas, se determinó la densidad óptica (O.D) en un lector BioTek ELx800, el procedimiento se muestra en el anexo 2.

Se utilizaron como controles positivos, los productos comerciales estreptomycin y fluconazol y como productos comparativos, extractos de las especies vegetales: Santa María, Marco, Ruda, Llantén y Eucalipto. En la Tabla 3 se indican los volúmenes utilizados de cada extracto vegetal para la determinación de la CMI.

Tabla 3. Volúmenes aplicados en placas Microelisa para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de extractos vegetales

Especies vegetales	Extracto	Concen. Muestra (%)	Vol. TSB (μ l)	Vol. microorganismo (Dil 1/100.000)	Vol. Muestra (μ l)	Vol. Final (μ l)
Chocho	Lipídico	50	90	10	100	200
		40	110	10	80	200
		30	130	10	60	200
		20	150	10	40	200
		10	170	10	20	200
	Etanólico y alcaloides totales	50	90	10	100	200
		25	140	10	50	200
10		170	10	20	200	
Quinoa	Lipídico, etanólico y saponinas	50	90	10	100	200
		38	115	10	75	200
		25	140	10	50	200
		13	165	10	25	200
Amaranto y sangorache	Lipídico, etanólico y flavonoides	50	90	10	100	200
		38	115	10	75	200
		25	140	10	50	200
		12	165	10	25	200
Santa María		10	170	10	20	200
Ruda		10	170	10	20	200
Marco		10	170	10	20	200
Eucalipto		10	170	10	20	200
Estreptomycin y Fluconazol (μ g/ μ l)		150	170	10	20	200
		100	170	10	20	200
		80	170	10	20	200
		40	170	10	20	200
		20	170	10	20	200
		10	170	10	20	200
		5	170	10	20	200
		3	170	10	20	200

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014.

3. Resultados

3.1 Evaluación “in vitro” de la actividad antibacteriana de los extractos de granos de chocho, quinua, amaranto y sangorache

3.1.1 Estandarización de los métodos para determinación de la actividad antibacteriana de los extractos de granos andinos

La actividad antibacteriana se evaluó a través de la técnica de antibiograma y la concentración mínima inhibitoria (MIC), metodologías que ayudaron a identificar si las bacterias presentan sensibilidad o resistencia a los extractos de las especies en estudio y la concentración a la que éstos actúan (Picazo, s.f). Para la determinación se tomó como base una lectura inicial de O.D (0,5-0,6) y el recuento de unidades formadoras de colonias de las cepas: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Micrococcus flavus*, utilizando diluciones 1: 100.000, como se indica en la tabla 4.

Tabla 4. Densidad óptica y recuento de bacterias ATCC

Extractos de Chocho				
Parámetros	<i>Staphylococcus aureus</i> *	<i>Escherichia coli</i> *	<i>Klebsiella pneumoniae</i> *	<i>Micrococcus flavus</i> *
Densidad óptica	0,6	0,5	0,5	0,5
UFC/g	53	108	3	19
Extractos de Quinua				
Densidad óptica	0.6	0.5	0.5	0.6
UFC/g	127	113	5	27
Extractos de Amaranto y Sangorache				
Densidad óptica	0,6	0,5	0,6	0,5
UFC /g	85	120	12	9

*Tiempo de incubación: 18 horas

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014.

3.1.2 Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos lipídicos de chocho, quinua, amaranto y sangorache

3.1.2.1 Actividad antibacteriana de los extractos lipídicos, según el método del antibiograma “Bauer-Kirby”

A través del antibiograma fue posible observar el comportamiento de los agentes infecciosos (cepas bacterianas), frente a los extractos de las especies vegetales en estudio, con el objeto de obtener información que permitirá predecir el resultado de un tratamiento antiinfeccioso, (García et al; 1994). Según las Normas de CLSI M02-A11 (2012), los resultados se expresan a través del diámetro del halo de inhibición, en donde **Resistente (R)** corresponde a un diámetro menor o igual

a 14 mm e indica que el microorganismo es resistente al antibiótico. Un diámetro entre 15 a 19 mm muestra que el producto aplicado consigue su efecto bajo ciertas condiciones y es catalogado como **Intermedio (I)**. Mientras que diámetros mayores o iguales a 20 mm, indican que el antibiótico provoca inhibición visible del crecimiento microbiano (**S**) y por tanto es **Sensible** (anexo 3).

Con volúmenes de extractos lipídicos de 20, 30, 50 µl, se observó un mayor grado de inhibición sobre las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus*. Con los extractos obtenidos a partir de las hojas de quinua, variedad INIAP-Pata de venado, se registraron halos de inhibición de 17 mm, catalogado como intermedio (I), seguido de las variedades criolla blanca y morada con un halos de inhibición de 12 mm (R) como se muestra en la Figura 3 y anexo 4.1, sin embargo el extracto obtenido a partir del grano de amaranto no presentó ningún halo de inhibición.

Con los extractos de hojas y flores de chocho, variedad criollo, se registró un halo de inhibición de 9 mm (R) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, no así sobre cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Micrococcus flavus* en las cuales los extractos de los granos andinos no presentaron actividad antibacteriana.

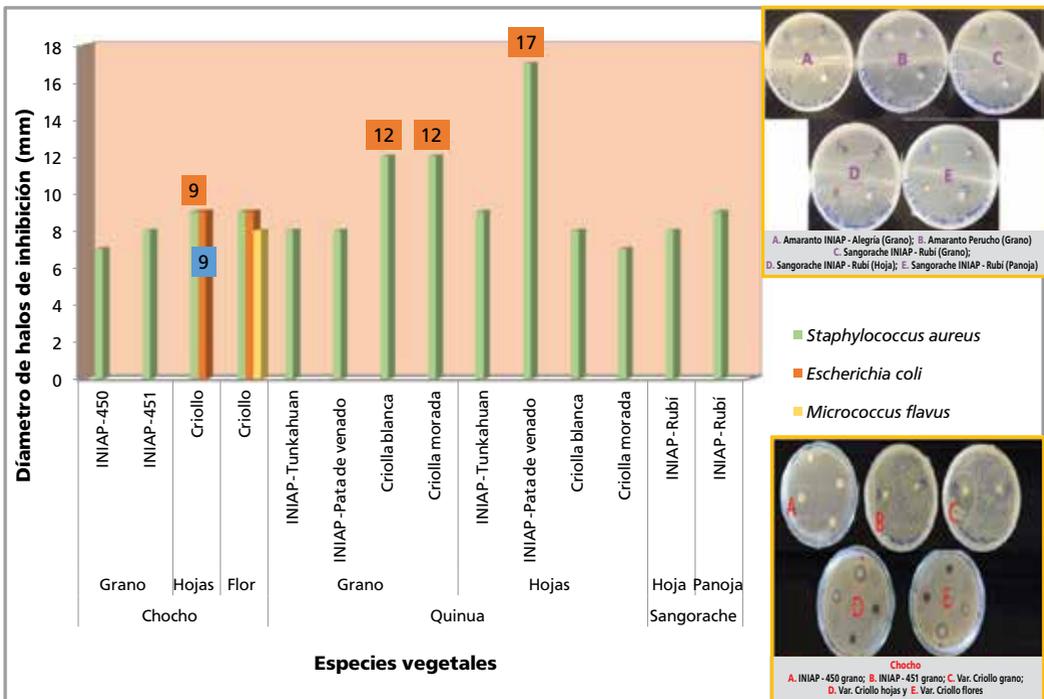


Figura 3. Diámetro promedio de los halos de inhibición de extractos lipídicos sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Micrococcus flavus*

3.1.2.2 Actividad antibacteriana: método de la concentración mínima inhibitoria

Este valor hace referencia a la mínima concentración de extracto capaz de inhibir la multiplicación de las cepas microbianas en estudio (Cavaliere *et al*; 2005). Para ello se ensayaron distintas concentraciones de extractos lipídicos provenientes de granos andinos sobre las cepas bacterianas de interés clínico. Se determinó que los extractos provenientes de los granos de chocho, amaranto y sangorache no mostraron actividad inhibitoria sobre los microorganismos considerados en este estudio, sin embargo los extractos de hojas y flores de la variedad de chocho criollo mostró actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, como se indica en la Tabla 5. Igualmente los extractos lipídicos preparados a partir del grano y hojas de las dos variedades de quinua: INIAP-Tunkahuan e INIAP-Pata de venado, presentaron actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* al 50% de concentración.

También se evidenció que los extractos de hojas a una concentración del 38% y panojas del sangorache a una concentración del 50% presentaron actividad sobre cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Micrococcus flavus*; no así sobre *Escherichia coli*.

Tabla 5. Concentración mínima inhibitoria de extractos lipídicos de chocho, quinua y sangorache sobre cuatro bacterias

Especies vegetales			Concentración (V/V)	Bacteria	O.D (1ra. lectura)	O.D (2da. lectura)
Chocho	Hojas	Criollo	40%	<i>S. aureus</i>	0,94	0,55
	Flores		50%		0,45	0,44
	Hojas		50%	<i>K. pneumoniae</i>	0,76	0,66
	Hojas		50%	<i>M. flavus</i>	0,43	0,39
	Flores		50%		0,84	0,63
Quinua	Grano	Criolla morada	50%	<i>S. aureus</i>	0,17	0,07
		Criolla blanca	50%		0,18	0,11
		INIAP-Pata de venado	50%		0,24	0,21
		INIAP-Tunkahuan	50%		0,19	0,17
	Hojas	Criolla morada	50%		0,20	0,20
		Criolla blanca	50%		0,21	0,17
		INIAP-Pata de venado	50%		0,22	0,14
		INIAP-Tunkahuan	50%		0,19	0,18
Sangorache	Hojas	INIAP-Rubí	38%	<i>K. pneumoniae</i>	0,24	0,23
	Flores		50%	<i>M. flavus</i>	0,50	0,46

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014

3.1.3 Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos etanólicos de chocho, quinua, amaranto y sangorache

3.1.3.1 Actividad antibacteriana de extractos etanólicos, según el método del antibiograma "Bauer-Kirby"

No se determinó ningún halo de inhibición mediante la aplicación de los extractos etanólicos de chocho, amaranto y sangorache sobre las cepas bacterianas en estudio, con volúmenes de 20, 30, 40 y 50 µl. Con la aplicación de los extractos del grano de quinua de las variedades INIAP-Tunkahuan y criolla morada, sobre *Staphylococcus aureus*, se registró un halo de inhibición de 12 mm de diámetro, que indica una efectividad resistente (R).

Los extractos de hojas y flores de chocho, quinua, amaranto y sangorache mostraron actividad sobre *Staphylococcus aureus*, presentando halos de inhibición entre 7-10 mm de diámetro, correspondiente a una efectividad resistente (R). También, en el caso de *Escherichia coli*, los extractos de flores y hojas de la variedad de chocho criollo mostraron actividad antimicrobiana catalogada como resistente con halos de inhibición entre 8 a 10 mm; similares resultados se registraron con los extractos etanólicos de las hojas de quinua, variedad INIAP- Pata de venado. Con respecto a las cepas de *Micrococcus flavus*, halos de inhibición de mayor diámetro se registraron, mediante la aplicación de extractos de flores de chocho, variedad criollo con una halo de inhibición de 13 mm de diámetro. (Figura 4 y anexo 4.2).

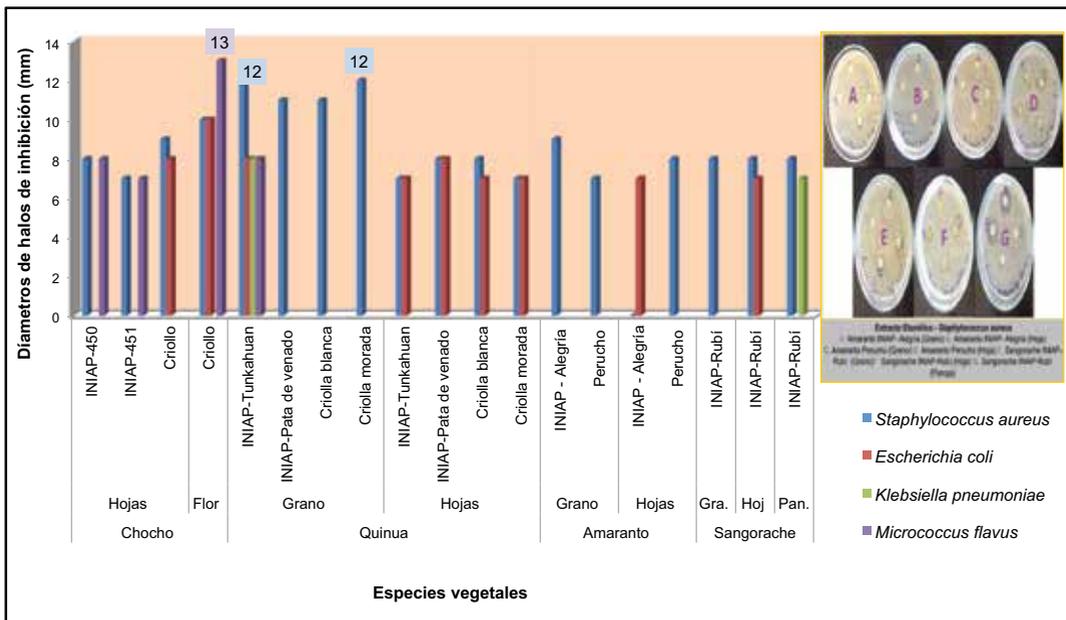


Figura 4. Halos de inhibición (mm) resultantes de la aplicación de extractos etanólicos de granos andinos sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Micrococcus flavus*

3.1.3.2 Actividad antibacteriana de extractos etanólicos, a través de la determinación de la concentración mínima inhibitoria

A través del espectrofotómetro se midió la cantidad de luz transmitida a partir de una suspensión celular que se expresó en unidades de densidad óptica (O.D), lo que permitió determinar la actividad antibacteriana de los extractos (Cabeza, 2011). Los extractos etanólicos tanto de los granos como de las hojas de las especies en estudio, en concentraciones de 10%, 25%, 38% 50%, mostraron actividad inhibitoria sobre las cepas bacterianas, expresada en la menor densidad óptica (segunda lectura) de la suspensión celular luego de un tiempo de exposición de las bacterias a los extractos. Esta disminución fue notable con los extractos de las diferentes fracciones de las plantas a una concentración del 50%, como se observa en la Tabla 6.

Tabla 6. Concentración mínima inhibitoria de extractos etanólicos de chocho, quinua, amaranto y sangorache

Especies vegetales en estudio			Concentración (V/V)	Bacteria	O.D (1ra. lectura)	O.D (2da. lectura)	
Chocho	Grano	INIAP-450	50%	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,20	1,20	
		Criollo	50%		1,26	0,06	
	Hojas	INIAP-450	25%		1,70	0,59	
		INIAP-451	10%		0,65	0,45	
		Criollo	25%		1,55	0,8	
	Flores	Criollo	10%		0,60	0,56	
	Grano	INIAP-450	50%	<i>Escherichia coli</i>	1,12	0,89	
		INIAP-451	50%		1,17	0,82	
		Criollo	50%		1,12	0,04	
	Hojas	INIAP-450	10%		0,40	0,34	
		INIAP-451	10%		0,49	0,33	
		Criollo	25%		1,11	0,75	
	Flores	Criollo	25%		1,37	1,91	
	Grano	INIAP-450	50%		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,42	1,15
		INIAP-451	50%			1,31	1,00
		Criollo	50%	0,04		0,36	
		Hojas	INIAP-450	25%		1,52	0,65
			INIAP-451	10%		0,40	0,31
	Criollo		10%	0,13		0,13	
	Grano	INIAP-450	25%	<i>Micrococcus flavus</i>	1,42	1,32	
INIAP-451		50%	2,29		0,75		
Hojas	Criollo	50%	2,23		0,54		
Flores	Criollo	25%	1,45		1,06		

Quinoa	Grano	INIAP-Tunkahuan	50%	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,20	0,17	
		INIAP-Pata de venado	50%		0,18	0,16	
		Criolla blanca	50%		0,20	0,15	
		Criolla morada	50%		0,19	0,17	
	Hojas	INIAP-Tunkahuan	50%		0,21	0,19	
		INIAP-Pata de venado	50%		0,21	0,15	
		Criolla blanca	50%		0,22	0,18	
		Criolla morada	50%		0,23	0,19	
	Grano	INIAP-Tunkahuan	50%	<i>Escherichia coli</i>	0,21	0,16	
		INIAP-Tunkahuan	50%		0,21	0,18	
		INIAP-Pata de venado	50%		0,23	0,14	
		Criolla blanca	50%		0,23	0,20	
Criolla morada		50%	0,20		0,19		
Grano	INIAP-Tunkahuan	50%	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,23	0,18		
Grano	INIAP-Tunkahuan	50%	<i>Micrococcus flavus</i>	0,23	0,19		
Amaranto	Grano	INIAP - Alegría	50%	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,17	0,14	
		Perucho	50%		0,15	0,10	
	Hojas	INIAP - Alegría	50%		0,05	0,05	
		Perucho	38%		0,11	0,09	
	Grano	INIAP - Alegría	50%	<i>Escherichia coli</i>	0,15	0,15	
		Perucho	50%		0,13	0,13	
	Hojas	INIAP - Alegría	50%		0,05	0,04	
		Perucho	50%		0,09	0,09	
	Grano	INIAP - Alegría	38%	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,16	0,14	
		Perucho	50%		0,13	0,13	
		Hojas	INIAP - Alegría		50%	0,04	0,04
			Perucho		50%	0,08	0,07
	Grano	INIAP - Alegría	38%	<i>Micrococcus flavus</i>	0,17	0,11	
		Perucho	50%		0,26	0,21	
		Hojas	INIAP - Alegría		50%	0,06	0,05
			Perucho		50%	0,10	0,10
Sangorache	Grano	INIAP - Rubí	50%	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,21	0,11	
	Hojas		38%		0,26	0,20	
	Panoja		50%		0,02	0,02	
	Grano		50%	<i>Escherichia coli</i>	0,25	0,18	
	Hojas		50%		0,19	0,10	
	Panoja		50%		0,02	0,01	
	Grano		38%	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,18	0,08	
	Hojas		38%		0,26	0,11	
	Panoja		38%		0,05	0,04	
	Grano		50%	<i>Micrococcus flavus</i>	0,24	0,15	
	Hojas		50%		0,24	0,22	
	Panoja		50%		0,04	0,03	
Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014							

3.1.4 Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos alcaloides del chocho, saponinas de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache

3.1.4.1 Actividad antibacteriana de extractos alcaloides del chocho: Método del antibiograma "Bauer-Kirby"

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de alcaloides de chocho se probó diferentes concentraciones, obteniendo un halo de inhibición de 17 mm, correspondiente a un nivel de inhibición intermedio (I), con extractos alcaloides concentrados (100%) de la variedad de chocho INIAP-450 sobre cepas de *Micrococcus flavus*. Halos de inhibición de 15 y 16 mm de diámetro se obtuvieron por aplicación de los extractos alcaloides de la variedad criollo sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli* respectivamente, como se muestra en la Figura 5 y el anexo 4.3.

En base a estos resultados se determinó que los extractos alcaloides concentrados presentan importante actividad antibacteriana de gran potencial en la industria farmacéutica.

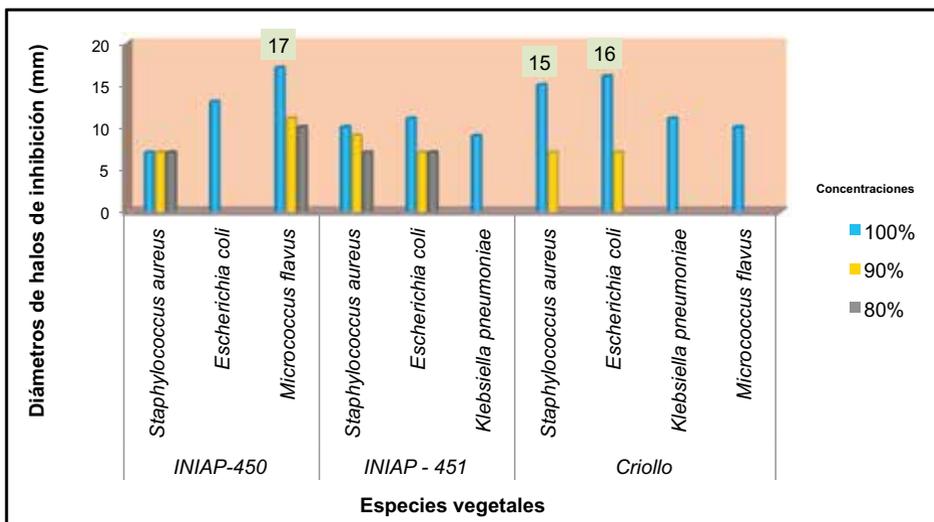


Figura 5. Halos de inhibición de extractos de alcaloides del chocho sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Micrococcus flavus*

3.1.4.2 Actividad antibacteriana de los extractos de saponina de la quinua: Método del antibiograma "Bauer-Kirby"

Los extractos de saponina al 100% de concentración, sobre *Staphylococcus aureus* presentaron halos de inhibición de 7, 8 y 11 mm de diámetro (Figura 6). Estas medidas indican que hay una susceptibilidad resistente (R) de la bacteria al extracto, según lo establecido en la norma CLSI M02-A11 (2012).

Sin embargo, según López, (2001) y Mendoza y Calvo, (2012) resaltan las propiedades expectorantes y antitúxicas de estos compuestos; además del efecto antioxidante, carácter citotóxico para las células cancerígenas, la modulación inmunológica y la regulación de la proliferación celular (Villacrés et al; 2013). Razón

por la cual, las saponinas de la quinua se convierten en una importante aplicación dentro del campo farmacéutico.

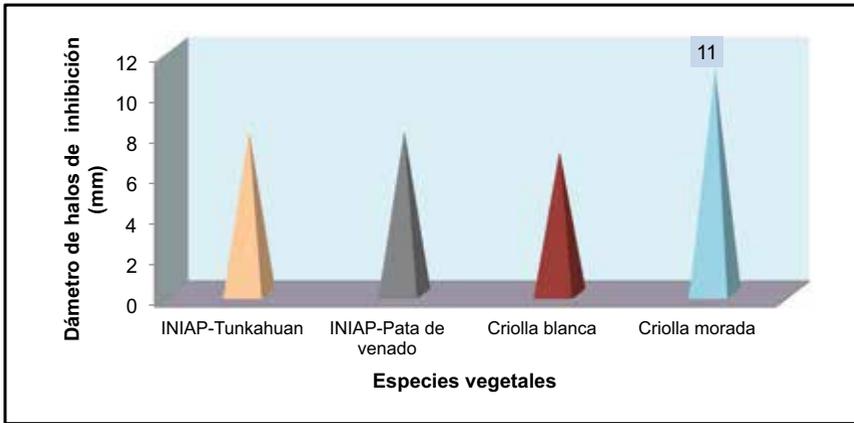


Figura 6. Halos de inhibición de extractos de saponina de quinua aplicados a *Staphylococcus aureus*

3.1.4.3 Actividad antibacteriana de extractos de flavonoides de amaranto y sangorache: Método del antibiograma "Bauer-Kirby"

Al igual que los extractos de saponina de la quinua, los extractos flavonoides del amaranto y sangorache, presentaron pequeños halos de inhibición, evidenciando la resistencia de *Staphylococcus aureus* al concentrado de flavonoides de las mencionadas especies. Un halo de inhibición de mayor diámetro (9 mm) se obtuvo con el extracto de flavonoides de la variedad de amaranto INIAP-Alegría sobre *Staphylococcus aureus*, seguido del sangorache INIAP- Rubí (grano, hojas y panoja) con una inhibición de 8 mm de diámetro. (Figura 7).

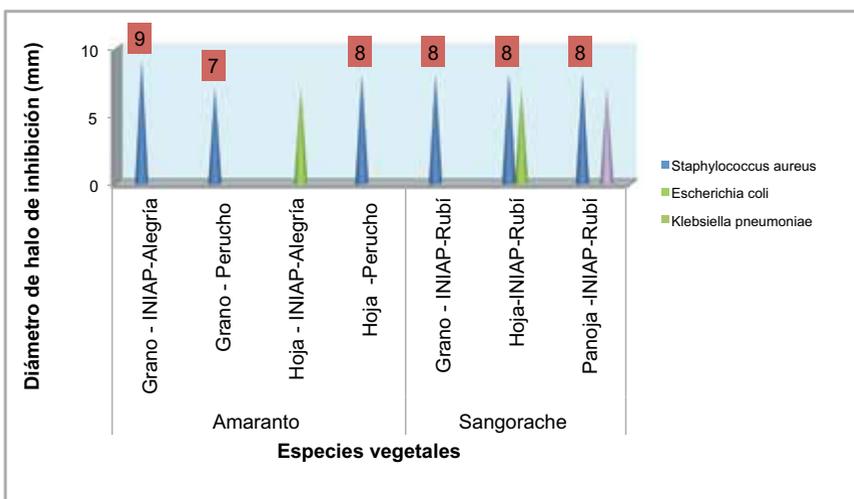


Figura 7. Halos de inhibición de extractos de flavonoides, aplicados a *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*

Los extractos flavonoides del amaranto presentaron baja actividad antibacteriana, expresada en el menor diámetro de los halos de inhibición, con respecto a los obtenidos con los extractos de saponina de la quinua y alcaloides del chocho; sin embargo los flavonoides concentrados del amaranto pueden presentar otro tipo de actividad biológica. Oliva *et al*; citado en Calderón, 2011, señala que los flavonoides, ayudan a prevenir ciertas enfermedades cancerígenas debido a sus propiedades antioxidantes, además de ejercer efecto antiviral, antitóxico y acción protectora del hígado (Martínez *et al*; 2002).

3.1.4.4 Actividad antibacteriana de los alcaloides en chocho, saponinas de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache: según el método de la concentración mínima inhibitoria

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria se aplicó diferentes concentraciones de los extractos en estudio. Los extractos alcaloidales de las variedades de chocho INIAP-450 y 451 inhibieron la actividad de *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, al 25 y 50% de concentración. Mientras que la actividad de *Micrococcus flavous*, se inhibió solo con el extracto concentrado de la variedad de chocho 451.

Tabla 7. Concentración mínima inhibitoria de extractos de alcaloides (chocho), saponina (quinua) y flavonoides (amaranto y sangorache)

Extracto	Especie vegetal en estudio		Concent. (V/V)	Microorganismo	O.D (1ra. lectura)	O.D (2da. lectura)	
ALCALOIDES	Chocho	Grano	INIAP-450	25%	<i>S. aureus</i>	0,13	0,13
			INIAP-451	50%		0,14	0,13
			INIAP-450	25%	<i>E. coli</i>	0,09	0,09
			INIAP-451	50%		0,06	0,06
			INIAP-450	25%	<i>K. pneumoniae</i>	0,6	0,09
			INIAP-451	50%		0,06	0,06
	INIAP-451	50%	<i>M. flavus</i>	0,10	0,10		
SAPONINAS	Quinua	Grano	INIAP-Tunkahuan	50%	<i>S. aureus</i>	0,30	0,25
			INIAP-Pata de venado	50%		0,30	0,18
			Criolla morada	25%		0,21	0,2
FLAVONOIDES	Amaranto	Grano	INIAP-Alegría	50%	<i>E. coli</i>	0,06	0,03
			Perucho	50%		0,09	0,02
	Sangorache	Hojas	INIAP-Rubí	50%	<i>M. flavus</i>	0,06	0,03

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014

El extracto de saponina al 50 y 25%, inhibió la actividad de *Staphylococcus aureus*; mientras que el extracto de flavonoides al 50% de concentración inhibió la actividad de *Escherichia coli* y *Micrococcus flavous*.

3.2 Evaluación de la actividad antimicótica de los extractos de granos de chocho, quinua, amaranto y sangorache.

3.2.1 Estandarización de los métodos para la determinación de la actividad antimicótica de los extractos de granos andinos.

La actividad antimicótica se evaluó a través de la técnica de antibiograma y la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC), metodologías que ayudaron a identificar si los hongos presentan sensibilidad o resistencia a los extractos de las especies en estudio y la concentración a la que éstos actúan. Para la determinación se tomó como base una lectura inicial de O.D (0,5-0,6) y el recuento de unidades formadoras de colonias de las cepas: *Candida albicans* y *Sacharomyces cerevisiae*, utilizando diluciones 1: 100.000, como se indica en la Tabla 8.

Tabla 8. Concentración inhibitoria mínima de los extractos de granos andinos sobre *Candida albicans* y *Sacharomyces cerevisiae*

Extracto del grano de Chocho		
Parámetros	<i>Candida albicans</i> *	<i>Sacharomyces cerevisiae</i> **
Densidad óptica	0,5	0,5
UFC	46	100
Extracto del grano de Quinua		
Densidad óptica	0,5	0,5
UFC	110	65
Extractos de los granos de Amaranto y Sangorache		
Densidad óptica	0,6	0,5
UFC	50	40
Tiempo de incubación: 48 * y 72 ** horas		

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014

3.2.2 Evaluación antimicótica de los extractos lipídicos

3.2.2.1 Actividad antimicótica de los extractos lipídicos: Método del antibiograma "Bauer-Kirby"

La sensibilidad microbiana a los extractos lipídicos se pudo evaluar a través del antibiograma de "Bauer-Kirby", cuyos resultados se muestran en la figura 8 y anexo 5.1.

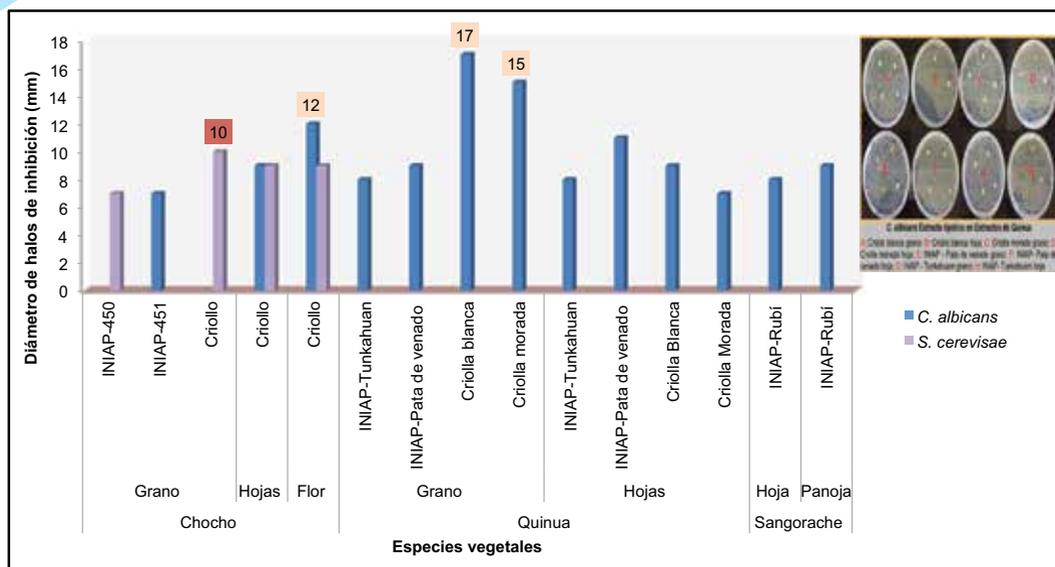


Figura 8. Halos de inhibición de los extractos lipídicos aplicados sobre *C. albicans* y *S. cerevisiae*

Se determinó que los extractos lipídicos de las variedades de quinua, criolla blanca y criolla morada sobre *Candida albicans* presentaron halos de inhibición de 17 y 15 mm, respectivamente. Estas dimensiones indican susceptibilidad catalogada como intermedia (I) de los microorganismos a los extractos, mientras que los otros extractos lipídicos del chocho, amaranto y sangorache, presentaron halos de inhibición en un rango de 7 hasta 12 mm, lo que evidencia una resistencia (R) de los microorganismos evaluados a los extractos aplicados. En el caso de *Sacharomyces cerevisiae* existió halos de inhibición resistentes (7 – 9 mm) para granos, hojas y flores de chocho.

3.2.2.2 Concentración mínima inhibitoria

Los extractos de las hojas, flores y granos de chocho así como de la quinua, inhibieron el crecimiento de *C. albicans*, *S. cerevisiae* a una concentración del 50%, expresada en la disminución de la densidad óptica de la segunda lectura (Tabla 9).

Tabla 9. Concentración mínima inhibitoria de extractos lipídicos de chocho, quinua, amaranto y sangorache

Especies vegetales			Concent. (V/V)	Microorganismo	O.D (1ra. lectura)	O.D (2da. lectura)
Chocho	Grano	INIAP-450	50%	<i>C. albicans</i>	0,27	0,19
	Hojas	Criollo	50%		0,51	0,43
	Flores		50%		0,84	0,63
	Hojas		50%	<i>S. cerevisae</i>	0,52	0,49
Quinua	Grano	Criolla morada	50%	<i>C. albicans</i>	0,2	0,13
		Criolla blanca	50%		0,25	0,07
		INIAP-Pata de venado	50%		0,22	0,09
		INIAP-Tunkahuan	50%		0,20	0,18
	Hojas	Criolla morada	50%		0,19	0,16
		Criolla blanca	50%		0,23	0,18
		INIAP-Pata de venado	50%		0,22	0,17
		INIAP-Tunkahuan	50%		0,20	0,19
Sangorache	Panoja	INIAP-Rubí	50%	<i>C. albicans</i>	0,74	0,52
	Panoja		50%	<i>S. cerevisae</i>	0,42	0,18

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014

3.2.3 Evaluación antimicótica de los extractos etanólicos del chocho, quinua, amaranto y sangorache

3.2.3.1 Actividad antimicótica de los extractos etanólicos: Método del antibiograma "Bauer-Kirby"

Con la aplicación del método de Bauer-Kirby, se determinó que los extractos etanólicos de las flores de chocho, variedad criollo, presentaron el mayor halo de inhibición (13 mm) al ser aplicadas sobre *C. albicans* y *S. cerevisae*. Sin embargo, indica un halo de inhibición resistente (R) a la acción de los extractos. Al igual que los extractos de quinua, amaranto y sangorache en sus diferentes fracciones, presentaron halos de inhibición resistentes (7-9 mm de diámetro), como se observa en la Figura 9 y anexo 5.2.

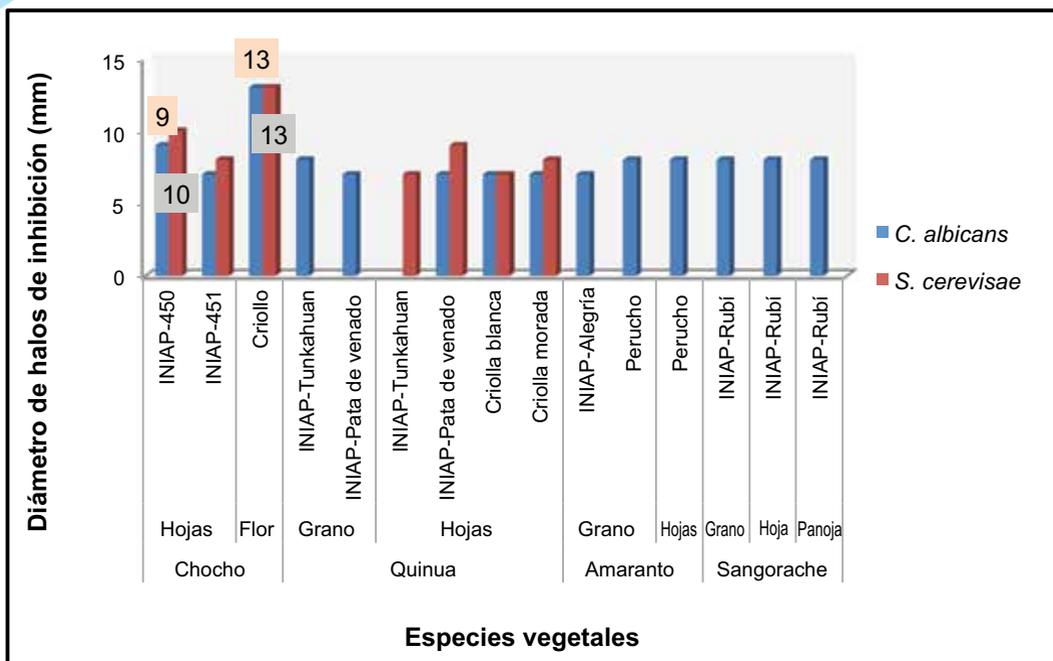


Figura 9. Halos de inhibición de la aplicación de los extractos etanólicos de granos andinos, sobre *C. albicans* y *S. cerevisiae*

3.2.3.2 Actividad antimicótica de los extractos etanólicos: Método de la concentración mínima inhibitoria

Para la determinación de este parámetro, se ensayaron con concentraciones de extractos al 10, 13, 25, 38 y 50%. Se determinó que los extractos de chocho, en sus diferentes fracciones de la planta, inhibieron el crecimiento de *Candida albicans* y *Sacharomyces cerevisiae* a concentraciones del 10 y 25% (75 y 186 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$). Mientras que con los extractos de quinua, se logró un efecto similar a una concentración del 50%. Con los extractos de hojas y grano de amaranto, variedad Perucho, se registró disminución de la densidad óptica (inhibición del crecimiento) a una concentración del 38%, como se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10. Concentración mínima inhibitoria de extractos etanólicos de chocho, quinua, amaranto y sangorache sobre *C. albicans* y *S. cerevisiae*

Especies vegetales			Concent. (V/V)	Microorganismo	O.D (1ra. lectura)	O.D (2da. lectura)	
Chocho	Grano	INIAP-451	25%	<i>C. albicans</i>	0,70	0,66	
		INIAP-450	10%		0,84	0,57	
	Hojas	INIAP-451	10%		0,65	0,47	
		Criollo	10%		0,47	0,42	
	Flores		Criollo		10%	0,53	0,32
	Grano	INIAP-450	10%		<i>S. cerevisiae</i>	0,62	0,63
		INIAP-451	25%	0,79		0,70	
		Criollo	25%	0,42		0,26	
	Hojas	INIAP-450	10%	0,67		0,5	
		INIAP-451	10%	0,73		0,52	
		Criollo	10%	0,58		0,49	
	Flores	Criollo	10%	0,76		0,46	
Quinua	Grano	INIAP-Pata de venado	50%	<i>C. albicans</i>		0,20	0,16
		INIAP-Tunkahuan	50%			0,20	0,19
	Hojas	Criolla morada	50%		0,22	0,16	
		Criolla blanca	50%		0,32	0,18	
		INIAP-Pata de venado	50%		0,31	0,17	
		INIAP-Pata de venado	50%		<i>S. cerevisiae</i>	0,30	0,28
Amaranto	Grano	INIAP-Alegria	50%	<i>C. albicans</i>	0,18	0,15	
		Perucho	50%		0,30	0,20	
	Hojas	INIAP-Alegria	50%		0,07	0,05	
		Perucho	50%		0,11	0,09	
	Grano	INIAP-Alegria	50%	<i>S. cerevisiae</i>	0,18	0,1	
		Perucho	38%		0,22	0,18	
Hojas	INIAP-Alegria	50%	0,03		0,03		
	Perucho	38%	0,10		0,06		
Sangorache	Grano	INIAP-Rubí	50%	<i>C. albicans</i>	0,22	0,11	
	Hojas		50%		0,23	0,18	
	Panoja		50%		0,04	0,02	
	Grano		38%	<i>S. cerevisiae</i>	0,13	0,12	
	Hojas		50%		0,22	0,20	
	Panoja		38%		0,09	0,08	

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014

3.2.4 Evaluación de la actividad antimicótica de los extractos alcaloides del chocho, saponina de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache

3.2.4.1 Actividad antimicótica de extractos alcaloides del chocho, saponina de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache: Método del antibiograma "Bauer-Kirby"

La aplicación de los extractos alcaloides del chocho, sin dilución (concentración 100%) sobre *Sacharomyces cerevisiae*, dieron como resultado halos de inhibición de 14 y 11 mm, correspondiente a la categoría "resistente" como se muestra en la figura 10 y anexo 5.3.

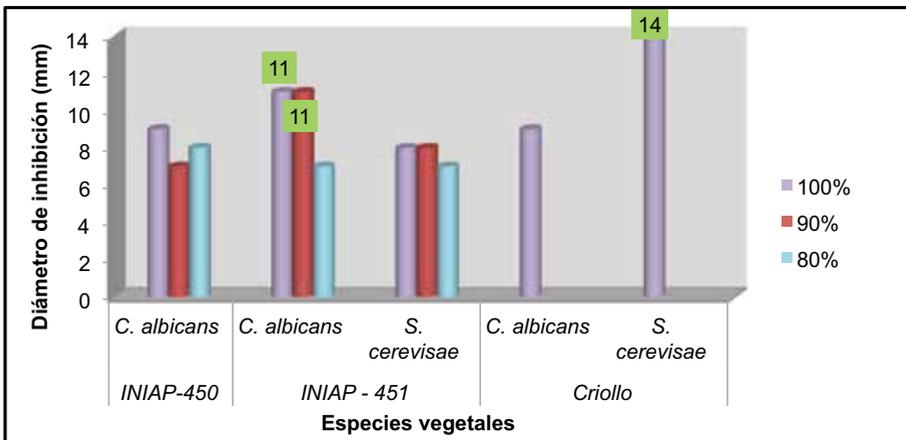


Figura 10. Halos de inhibición de extractos alcaloides del chocho sobre *C. albicans* y *S. cerevisiae*

Los extractos crudos de saponina de las 3 variedades de quinua (INIAP-Tunkahuan, blanca, morada), aplicada a *Candida albicans*, produjeron halos de inhibición de 7 y 8 mm de diámetro (Figura 11), mientras que la aplicación de los mencionados extractos sobre *Sacharomyces cerevisiae* no presentaron actividad inhibitoria.

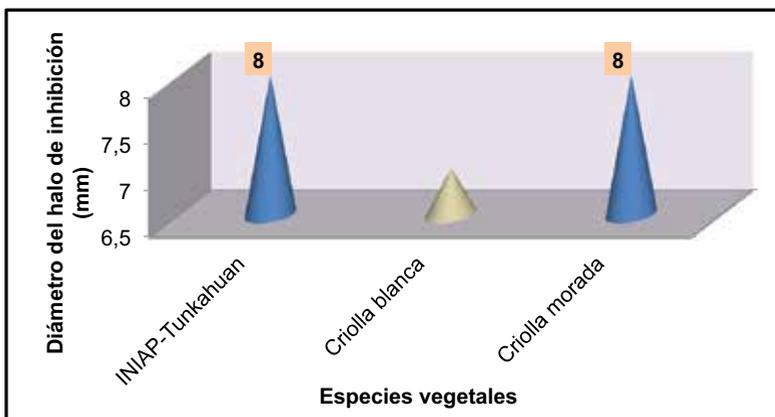


Figura 11. Halos de inhibición de extractos de saponina aplicados a *C. albicans*

Con los extractos de flavonoides obtenidos a partir del amaranto, variedades Alegría y Perucho, aplicados sobre *Candida albicans* se formaron halos de inhibición de 8 mm de diámetro; mientras que el extracto del grano de sangorache, actuando sobre el microorganismo mencionado, produjo un mayor halo de inhibición (11 mm), como se muestra en la Figura 12. Sin embargo, no existió inhibición antimicrobiana sobre cepas de *Sacharomyces cerevisiae* de estos extractos.

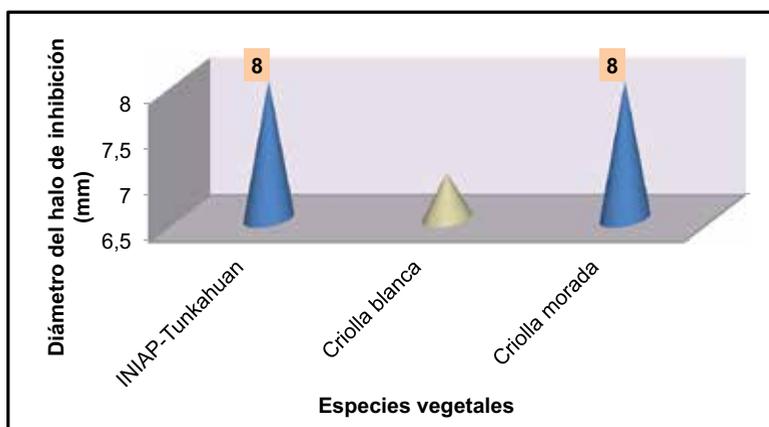


Figura 12. Halos de inhibición de los extractos de flavonoides, sobre *C. albicans*

3.2.4.2 Actividad antimicótica de extractos alcaloides del chocho, saponina de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache: método de la concentración mínima inhibitoria

Solo los extractos alcaloides del chocho, variedad criollo y los extractos de saponinas de las 3 variedades de quinua, presentaron un leve efecto inhibitorio en la actividad de *S. cerevisiae* y *C. albicans*. El extracto de alcaloides aplicado a *S. cerevisiae* produjo una leve disminución de la densidad óptica al 50% de concentración, mientras que los extractos de saponina de las 3 variedades de quinua, presentaron un efecto similar sobre *C. albicans*, al 38% de concentración. Los extractos de flavonoides tanto del amaranto como del sangorache no presentaron actividad antifúngica sobre los microorganismos en estudio (Tabla 11).

Tabla 11. Concentración mínima inhibitoria de los extractos de alcaloides y de saponina, sobre *S.cerevisiae* y *C.albicans*

Extracto	Especies vegetales			Concent. (V/V)	Microorganismo	O.D (1ra. lectura)	O.D (2da. lectura)
Alcaloides	Chocho	Grano	Criollo	50%	<i>S. cerevisiae</i>	0,09	0,08
Saponina	Quinua	Grano	INIAP-Tunkahuan	38%	<i>C. albicans</i>	0,22	0,20
			Criolla morada			0,23	0,20
			Criolla blanca			0,39	0,30

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014

3.3 Respuesta de los controles positivos utilizados en el ensayo

En todos los ensayos tanto de actividad antibacteriana como antimicótica se utilizaron como control positivo, productos farmacéuticos. Para la determinación de la actividad antibacteriana, se utilizó como control positivo "estreptomycin", mientras que para la actividad antimicótica, se utilizó "fluconazol".

Para efectos comparativos también se incluyeron en el análisis, extractos de otras plantas, consideradas medicinales como: Santa María, Marco, Ruda y Eucalipto.

3.3.1 Actividad antimicrobiana de los controles positivos: método del antibiograma

El ensayo del antibiograma reveló que los discos de estreptomycin, en concentraciones de 10 y 300 µg para cada cepa bacteriana, presentaron halos de inhibición correspondiente a la categoría de sensibles (S), según la norma de CLSI M02-A11 (2012), mientras que la aplicación de 20 y 50 µg de fluconazol sobre las cepas en estudio, presentaron halos de inhibición intermedios sobre las cepas de *Candida albicans* y *Sacharomyces cerevisiae*, como se observa en el Anexo 6 y la Figura 13.

Con los extractos de plantas consideradas medicinales, se obtuvieron halos de inhibición en la categoría de sensibles e intermedios. El mayor halo de inhibición (24 y 23 mm de diámetro) se obtuvo con el extracto de la planta "Santa María", actuando sobre *Candida albicans* y *Sacharomyces cerevisiae*. Mientras que los extractos aplicados a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Micrococcus flavus*, presentaron halos de inhibición de menor diámetro, correspondiente a la categoría "intermedia" (I).

Los extractos de las plantas "Ruda y Marco", aplicados sobre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Micrococcus flavus*, formaron halos de inhibición intermedios y resistentes. Sin embargo, su aplicación sobre *S. cerevisiae* y *C. albicans*, produjo halos de inhibición entre 9 a 11 mm diámetro, correspondiente a la categoría de resistente (R). Finalmente, con el extracto de eucalipto, se obtuvieron halos de inhibición catalogados como intermedios (I) y resistentes (R) tanto para las cepas bacterianas como micóticas, como se observa en el Anexo 6 y la Figura 13.

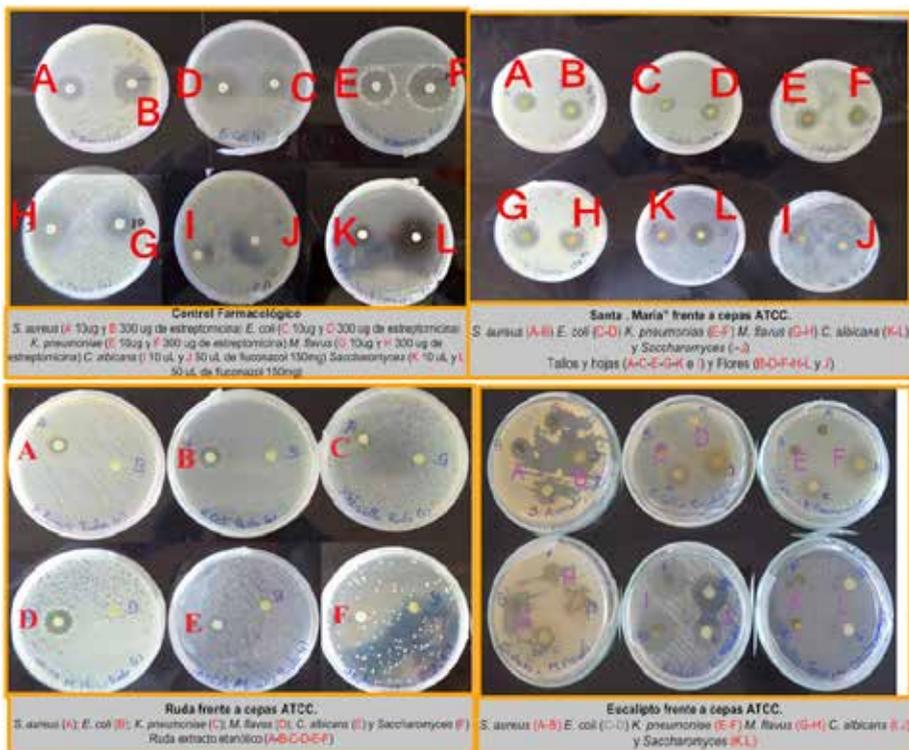


Figura 13. Controles positivos y comparativos de actividad antibacteriana y antimicótica

3.3.2 Actividad antimicrobiana: método de la concentración mínima inhibitoria

Para la determinación de la concentración inhibitoria mínima de los controles positivos, se aplicaron diferentes concentraciones de fármaco comprendidas ente 150, 100, 80,40, 20, 10,5 y 3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Con una concentración mínima de 5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ se logró inhibir la multiplicación de las cepas ATCC, como se indica en el Anexo 7.

Con los extractos de las plantas "Santa María" y "Eucalipto", se determinó actividad inhibitoria a una concentración del 10%, mientras que con los extractos de "Ruda" y "Marco", se obtuvo el mismo efecto con los extractos al 100% de concentración.

4. Conclusiones

Con relación a la actividad antibacteriana, se determinó que los extractos en estudio presentan halos inhibición de susceptibilidad intermedia (I), en el caso del extracto lipídico INIAP-Pata de venado (Hojas) para *Staphylococcus aureus*. Igualmente, extractos alcaloidales de chocho variedad criollo presentaron halos de inhibición de 16 y 15 mm, después de su aplicación sobre *Staphylococcus aureus* y *Escheria coli* respectivamente, mientras que para cepas de *Micrococcus flavous* existió un halo de inhibición de 17 mm aplicando extractos de chocho INIAP-450.

Respecto a la actividad antimicótica, los extractos lipídicos de las variedades de quinua criolla, blanca y morada, aplicados sobre *Candida albicans*, presentaron halos de inhibición de 17 y 15 mm diámetro, correspondiente a la categoría intermedio (I). Mientras que la aplicación de los extractos lipídicos, etanólicos, alcaloidales, saponinas y flavonoides de las variedades sobre *Sacharomyces cerevisae* en estudio presentaron halos de inhibición catalogados como resistentes (R).

Los extractos lipídicos y etanólicos de chocho, quinua, amaranto y sangorache, al igual que extractos alcaloidales de chocho y de flavonoides del amaranto y sangorache mostraron actividad antimicótica intermedia a una concentración del 50%, mientras que los extractos de saponina, presentaron similar actividad a una concentración del 38%.

De igual forma, los extractos lipídicos y alcaloidales de las diferentes variedades de chocho y etanólicos de quinua, amaranto y sangorache al igual que flavonoides, mostraron actividad inhibitoria al 50% de concentración del extracto. El extracto de saponinas, resultó efectivo como antimicótico a una concentración del 38%.

Glosario de Términos

- o **Antibiograma.-** Método de estudio "*in vitro*" de los antimicrobianos frente a los agentes infecciosos, con la finalidad de proporcionar información útil para la iniciación y marcha de la terapéutica antiinfecciosa. El estudio del antibiograma permite conocer la tendencia de sensibilidad de cada especie bacteriana, su coeficiente de benignidad frente a los antimicrobianos y su índice de especificidad. Es decir conocer su eficacia desde el punto de vista terapéutico y epidemiológico.
- o **Antibiótico.-** Sustancia química producida por diferentes especies de microorganismo (bacterias, hongos, actinomicetos) o sintetizados por métodos de laboratorio; estos suprimen el crecimiento de otros microorganismos y pueden eventualmente destruirlos.
- o **Antimicrobiano.-** Cualquier sustancia natural, semi-sintética o de origen sintético que inhibe el metabolismo y/o el crecimiento de un microorganismo y puede matarlo.
- o **Cepa.-** Cultivo puro derivado de un solo aislamiento.
- o **Concentración mínima inhibitoria.-** Concentración más baja de un agente antimicrobiano requerido para inhibir el crecimiento de un microorganismo.
- o **Densidad óptica.-** La medición del crecimiento microbiano se lo realiza por métodos turbidimétricos, a través de un espectrofotómetro que hace pasar la luz a través de una suspensión celular y puede detectar o medir la cantidad de luz no dispersada. Los resultados se expresan en unidades de densidad óptica (DO).
- o **Disco de sensibilidad.-** Discos de papel secante impregnados con diferentes antibióticos, Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar.
- o **Inóculo.-** Microorganismos o muestra bacteriológica que se pone en contacto con el medio de cultivo.
- o **Resistencia antimicrobiana.-** resistencia de un microorganismo a un medicamento o agente antimicrobiano al que originalmente era vulnerable.

Bibliografía

- o Aguirre, J. 2013. Evaluación *in vitro* de la actividad antibacteriana y antifúngica de grupos fitoquímicos extraídos de chochos (*Lupinus mutabilis* Sweet.), aplicados sobre cepas de interés clínico, durante el período mayo a diciembre de 2013. Tesis previa a la obtención del título de Licenciado en Laboratorio Clínico e Histopatológico. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
- o Araujo, J y Salas, R. 2008. Actividad Antimicrobiana de Plantas. Revista científica de la Universidad Científica del Sur, Lima, Perú. Consultado el 11 de octubre de 2014. Disponible en <http://www.apicoladelalba.cl/actividad-antimicrobiana-de-plantas-sci/>.
- o Atehortua, L. 1994. Retrospectiva de los plaguicidas de origen vegetal. En: Memorias del XXI Congreso Sociedad Colombiana de entomología. Medellín, Socolen. 21:1. p. 186-225.
- o Barberán, J. 2006. La multiresistencia, de la anécdota a la rutina. En La Otra Historia de los Antimicrobianos. Grupo ARS Médica. España, pp.43-45.
- o Botanical online. 2014. Antibióticos naturales. Revista del mundo de las plantas. Consultado el 9 de octubre de 2014. Disponible en <http://www.botanical-online.com>
- o Cabeza, E. 2011. Fundamentos de Microbiología predictiva: Aplicaciones teóricas y Prácticas. 1ª Edición. Universidad de Pamplona, Pamplona. Colombia.
- o Calderón, J. 2011. Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de plantas medicinales utilizadas en Pereira y Santa Rosa de Cabal (Risaralda). Tesis previa para la obtención del título en Tecnología Química. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira, Colombia.
- o Cavalieri, E, Ranlin, I, Harbeck, R, Sautter, R, McCarter, Y, Sharp, S, Ortez, J y Spiegel, C. 2005. Manual de pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. ISBN 1-55581-347-X
- o Chicaiza, G. 2014. Determinación *in vitro* de la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos obtenidos de plantas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) aplicado sobre cepas de interés clínico en el período diciembre de 2013 – mayo de 2014. Tesis previa a la obtención del título de Licenciado en Laboratorio Clínico e Histopatológico. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
- o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard- Eleventh Edition. M02-A11. Vol 32 No. 1. pp. 2.
- o Cordiés, L, Machado, L y Hamilton, M. 1998. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. Acta Médica 8 (1). pp.13-27. Consultado el 9 de octubre de 2014. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/act/vol8_1_98/act03198.htm

- o Cruz, A, Rodríguez N y 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 13 (2): 117-124.
- o García, D. 2014. Determinación *in vitro* de la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos obtenidos de plantas del género *amaranthus* aplicado sobre cepas de interés clínico en el periodo diciembre de 2013 – mayo de 2014. Tesis previa a la obtención del título de Licenciado en Laboratorio Clínico e Histopatológico. Universidad Nacional de Chimborazo. Riobamba, Ecuador.
- o García, P, Fernández del Barrio, MT y Paredes, F. 1994. Microbiología clínica Práctica. 2ª Edición, Cadiz, España.
- o Lock, O. 1988. Investigación Fitoquímica. Métodos para el estudio de productos naturales. Editorial de la Pontifica Universidad Católica de Perú. Perú. pp. 3-211.
- o López, M. 2001. Saponósidos – Fitoterapia. OFFARM-ELESEVIER. Consultado el 11 de octubre de 2014. pp. 124-128 Disponible en www.defarmacia.com.
- o Martínez, S, Gonzáles, J, Culbras, J y Tuñón, M. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Revista de Nutrición Hospitalaria. Vol 17 (6). Pp. 271-278.
- o Mendoza, E y Calvo, M. 2012. Toxicología de los Alimentos. Mc Graw-Hill Interamericana Editores.
- o Miranda, M. 2012. Manual de tamizaje fitoquímico. Curso teórico práctico “Productos naturales con interés agrícola y farmacológico”. Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador. CIBE-ESPOL, Guayaquil, 10p.
- o OMS. 2014. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibióticos pone de manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. Consultado el 11 de octubre de 2014. Disponible en < <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>>
- o OMS. 2014. Farmacoresistencia-Importancia de la resistencia a los antimicrobianos para la salud pública. Consultado el 11 de octubre de 2014. Disponible en <http://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/es/>
- o OMS. 2013. Resistencia a los antimicrobianos. Nota descriptiva N°. 194. Consultado el 11 de octubre de 2014. Disponible en <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>>
- o Picazo, J. s.f. Métodos Básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Procedimientos en Microbiología Clínica- Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. España.
- o Quizhpe, A. 2014. Uso apropiado de antibióticos y resistencia bacteriana. ReAct

Latinoamericana. Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Cuenca y la Asociación de Facultades de Ciencias Médicas de la Salud. Cuenca, Ecuador. pp. 27.

- o Roses, M. 2011. La resistencia a los antimicrobianos: un factor de riesgo para las enfermedades infecciosas. Revista Panamericana de Salud Pública. Consultado el 11 de octubre de 2014. Disponible en <http://www.paho.org/col>
- o Sharapin, N. 2000. Generación de Nuevos Medicamentos de Origen Vegetal En Fundamentos de Tecnologías de Productos Fitoterapéuticos. 1ª Edición, Área de Ciencia y Tecnología del Convenio Andrés Bello y la Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos. Bogotá, Colombia. pp. 191-193.
- o Valencia, E. 1993. Importancia ecofisiológica y evolutiva del sistema de Oxidasas de función mixta (MFO) en insectos: control biológico en Colombia, historia, avances y proyecciones. pp. 263-273.
- o Villacrés, E, Cuadrado, L y Falconí, F. 2013. Los granos andinos: Chocho (*Lupinus mutabilis Sweet*), Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*), Amaranto (*Amaranthus caudatus L.*) y Sangorache (*Amaranthus hybridus L.*), fuente de metabolitos secundarios y fibra dietética. Departamento de Nutrición y Calidad, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, INIAP- Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Chimborazo. ISBN: 9942-07-566. pp.42.

Anexos

Anexo 1

Evaluación "in vitro" de la actividad antibacteriana y antifúngica CLSI M02-A11 (2012)

Principio

El antibiograma obtenido por el método de Bauer-Kirby, evalúa la sensibilidad de los microorganismos a las sustancias antibacterianas.

Materiales

Medios de cultivo	Cepas bacterianas y fúngicas	Discos de sensibilidad
<ul style="list-style-type: none">• Caldo Triptona Soja (TSB)• Agar de Soja Triptica (TSA)• Agar Mueller Hinton	<ul style="list-style-type: none">• <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923• <i>Escherichia coli</i> ATCC 9637• <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031• <i>Micrococcus flavus</i> ATCC 14452	<ul style="list-style-type: none">• Prat Dumas France• Estreptomina

Procedimiento

- Se tomó 10 µl de cepas bacterianas y fúngicas, que se depositaron en 5 ml de medio de cultivo TSB; se llevó a incubación a 37°C durante 24 horas.
- Transcurrido el tiempo de incubación se preparó el inóculo, para lo cual se tomó 5 ml de suero fisiológico estéril y se agregó gota a gota el tubo incubado hasta que presente la misma turbidez que el patrón de BaSO₄ (0.5 McFarland).
- Se tomó 50 µl de la suspensión bacteriana y se depositó en cajas Petri preparadas unas con medio sólido TSA, otras con agar Mueller Hinton (para bacterias) y otras con agar Saboround (para hongos). Se procedió a sembrar con la ayuda de un hisopo, obteniendo una siembra uniforme.
- Los discos para evaluación de la sensibilidad (Prat Dumas France) de 6 mm se colocaron en una caja Petri estéril. Sobre estos se dispersaron diferentes volúmenes (20-40 y 50 µl) de los extractos en estudio.
- Las cajas Petri se sellaron con parafilm y se colocaron en refrigeración por cinco minutos para lograr la pre-difusión de los discos, luego se incubaron a 37°C por 18 horas.
- Como control positivo para la actividad antibacteriana se utilizó discos de estreptomina en concentraciones de 10 y 300 µg; para la actividad antifúngica se utilizó fluconazol a una concentración de 20 y 30 µg. Para efectos comparativos se utilizaron extractos de plantas, consideradas medicinales: Santa María, Marco, Ruda, Llantén y eucalipto al 100% de concentración.

Anexo 2

Concentración mínima inhibitoria de los extractos de chocho CLSI M02-A11 (2012)

Principio

Para la determinación de la concentración mínima de inhibición del antimicrobiano capaz de impedir el crecimiento de un microorganismo en condiciones normalizadas, se empleó diluciones sucesivas a partir de una concentración patrón, preparada en medio de cultivo TSB, sobre microplacas. Se determinó la densidad óptica (O.D) con un lector BioTek ELx800.

Materiales

Medios de cultivo	Cepas bacterianas y fúngicas	
<ul style="list-style-type: none">• Caldo Triptona Soja (TSB)• Agar de Soja Tríplica (TSA)• Agar Mueller Hinton	<ul style="list-style-type: none">• <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923• <i>Escherichia coli</i> ATCC 9637• <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031• <i>Micrococcus flavus</i> ATCC 14452	<ul style="list-style-type: none">• Placas de Microelisa

Procedimiento

1. Preparación de las cepas microbianas

- Se reactivaron las cepas de microorganismos en medio de cultivo TSB; el cultivo se realizó a 37°C, durante 24 horas, luego del crecimiento en placas Microelisa, se procedió a determinar la densidad óptica a una longitud de onda de 630 nm. Las concentraciones apropiadas para la lectura, se enmarcaron en el rango 0.5 a 0.6 O.D.
- Cuando la concentración del microorganismo en estudio superó el rango señalado, se diluyó con medio de cultivo líquido estéril, mientras que las cepas que no alcanzaron el rango señalado, se incubaron por un tiempo adicional hasta alcanzar la O.D apropiada.
- A partir de un tubo madre, se realizaron diluciones 1/1.000, 1/10.000 y 1/100.0000, con el propósito de estandarizar el número de bacterias sometidas al ensayo de actividad antimicrobiana, mediante la técnica de la concentración inhibitoria mínima.
- El conteo se realizó a partir de 50 µl de cada dilución, depositados y esparcidos en cajas Petri conteniendo medio de cultivo Agar Mueller y Hinton para bacterias y medio de cultivo Agar Sabouraud para hongos. Las cajas Petri y su contenido se incubaron a 37°C por el lapso de 24 a 72 horas.

2. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria del extracto (MIC)

- Se utilizaron placas de MicroElisa estéril de 96 pocillos. En cada uno se depositó medio de cultivo TSB estéril, los microorganismos obtenidos de la dilución 1/100.000 y por último los extractos en estudio, obteniendo como volumen final 200 μ l.
- Para los extractos se utilizaron diferentes concentraciones (50, 38, 25 y 12%), los mismos que se depositaron en los pocillos de las microplacas, bajo la siguiente distribución: En el pocillo A1, se depositó la concentración más alta del extracto y en los subsiguientes, se añadió concentraciones menores hasta alcanzar el pocillo E5. Luego se añadió 10 μ l de microorganismos y TSB, obteniendo un volumen final de 200 μ l.
- Como controles positivos de actividad antimicrobiana, se utilizaron estreptomina y fluconazol en concentraciones de 150, 100, 80, 40, 20, 10, 5 y 3 μ g/ μ l. Para efectos comparativos también se incluyeron extractos etanólicos concentrados de Santa María, Marco, Ruda, Llantén y Eucalipto.
- Mediante pipeteo se agitó el conjunto y se realizó la primera lectura espectrofotométrica a una longitud de onda de 630 nm. Luego se incubó el conjunto a 37°C durante 18 horas y se realizó una segunda lectura.
- Para determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto frente a los microorganismos de interés, se tomó como base el pozo conteniendo la mínima concentración del antimicrobiano, sin indicios de crecimiento y con lecturas de O.D similares antes y después de la incubación.

Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests - M02-A11

M02-A11
Vol. 32 No. 1
Replaces M02-A10
Vol. 29 No. 1

January 2012

Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition

4.1 Definitions

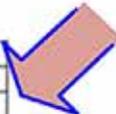
antimicrobial susceptibility test interpretive category – a classification based on an *in vitro* response of an organism to an antimicrobial agent at levels corresponding to blood or tissue levels attainable with usually prescribed doses of that agent.

- 1) **susceptible** – a category that implies that isolates are inhibited by the usually achievable concentrations of antimicrobial agent when the dosage recommended to treat the site of infection is used.
- 2) **intermediate** – a category that includes isolates with antimicrobial agent minimal inhibitory concentrations that approach usually attainable blood and tissue levels and for which response rates may be lower than for susceptible isolates; **NOTE:** The intermediate category implies clinical efficacy in body sites where the drugs are physiologically concentrated (eg, quinolones and β -lactams in urine) or when a higher than normal dosage of a drug can be used (eg, β -lactams). This category also includes a buffer zone, which should prevent small, uncontrolled, technical factors from causing major discrepancies in interpretations, especially for drugs with narrow pharmacotoxicity margins.
- 3) **resistant** – a category that implies that isolates are not inhibited by the usually achievable concentrations of the agent with normal dosage schedules and/or that demonstrate zone diameters that fall in the range in which specific microbial resistance mechanisms (eg, β -lactamases) are likely, and clinical efficacy of the agent against the isolate has not been reliably shown in treatment studies.
- 4) **nonsusceptible** – a category used for isolates for which only a susceptible interpretive criterion has been designated because of the absence or rare occurrence of resistant strains. Isolates that have minimal inhibitory concentrations (MICs) above or zone diameters below the value indicated for the susceptible breakpoint should be reported as nonsusceptible; **NOTE 1:** An isolate that is interpreted as nonsusceptible does not necessarily mean that the isolate has a resistance mechanism. It is possible that isolates with MICs above the susceptible breakpoint that lack resistance mechanisms may be encountered within the wild-type distribution subsequent to the time the susceptible-only breakpoint is set; **NOTE 2:** For strains yielding results in the “nonsusceptible” category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. (See M100¹ Appendix A.)

breakpoint interpretive criteria – minimal inhibitory concentration (MIC) or zone diameter value used to indicate susceptible, intermediate, and resistant as defined above.

For example, for antimicrobial agent X with interpretive criteria of:

	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	Zone Diameter (mm)
Susceptible	≤ 4	≥ 20
Intermediate	8–16	15–19
Resistant	≥ 32	≤ 14



Anexo 4

4.1 Actividad antibacteriana de los extractos lipídicos de granos andinos

EXTRACTOS LIPÍDICOS						
Especies vegetales			Bacterias			
			<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Micrococcus flavus</i>
Chocho	Grano	INIAP-450	7 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		INIAP-451	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criollo	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
	Hojas	Criollo	9 (R)	9 (R)	0 (R)	0 (R)
	Flor	Criollo	9 (R)	9 (R)	0 (R)	8 (R)
Quinua	Grano	INIAP-Tunkahuan	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		INIAP-Pata de venado	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criolla Blanca	12 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criolla Morada	12 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
	Hojas	INIAP-Tunkahuan	9 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		INIAP-Pata de venado	17 (I)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criolla Blanca	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criolla Morada	7 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
Amaranto	Grano	INIAP-Alegría	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		Perucho	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
Sangorache	Grano	INIAP-Rubí	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
	Hoja	INIAP-Rubí	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
	Panoja	INIAP-Rubí	9 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)

(S) sensible, (I) intermedio, (R) resistente

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014.

4.2 Actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de granos andinos

EXTRACTOS ETANÓLICOS						
Especies vegetales			Bacterias			
			<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Micrococcus flavus</i>
Chocho	Grano	INIAP-450	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		INIAP-451	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criollo	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
	Hojas	INIAP-450	8 (R)	0 (R)	0 (R)	8 (R)
		INIAP-451	7 (R)	0 (R)	0 (R)	7 (R)
		Criollo	9 (R)	8 (R)	0 (R)	0 (R)
	Flor	Criollo	10 (R)	10 (R)	0 (R)	13 (R)
Quinua	Grano	INIAP-Tunkahuan	12 (R)	8 (R)	8 (R)	8 (R)
		INIAP-Pata de venado	11 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criolla Blanca	11 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criolla Morada	12 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
	Hojas	INIAP-Tunkahuan	7 (R)	7 (R)	0 (R)	0 (R)
		INIAP-Pata de venado	8 (R)	8 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criolla Blanca	8 (R)	7 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criolla Morada	7 (R)	7 (R)	0 (R)	0 (R)
Amaranto	Grano	INIAP-Alegría	9 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
		Perucho	7 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
	Hojas	INIAP-Alegría	0 (R)	7 (R)	0 (R)	0 (R)
		Perucho	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
Sangorache	Grano	INIAP-Rubí	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
	Hoja	INIAP-Rubí	8 (R)	7 (R)	0 (R)	0 (R)
	Panoja	INIAP-Rubí	8 (R)	0 (R)	7 (R)	0 (R)

(S) sensible, (I) intermedio, (R) resistente

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014.

4.3 Actividad antibacteriana de los extractos alcaloidales del chocho, saponina de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache

Extracto	Especie vegetal		Bacterias				
			<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Micrococcus flavus</i>	
Alcaloides	Chocho	INIAP-450	100%	7 (R)	13 (R)	9 (R)	17 (I)
			90%	7 (R)	0 (R)	0 (R)	11 (R)
			80%	7 (R)	0 (R)	0 (R)	10 (R)
		INIAP-451	100%	10 (R)	11 (R)	9 (R)	0 (R)
			90%	9 (R)	7 (R)	0 (R)	0 (R)
			80%	7 (R)	7 (R)	0 (R)	0 (R)
		Criollo	100%	15 (I)	16 (I)	11 (R)	10 (R)
			90%	7 (R)	7 (R)	0 (R)	0 (R)
			80%	0 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)
Saponina	Quinua	INIAP-Tunkahuan	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	
		INIAP-Pata de venado	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	
		Criolla Blanca	7 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	
		Criolla Morada	11 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	
Flavonoides	Amaranto	INIAP- Alegría (Grano)	9 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	
		Perucho (Grano)	7 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	
		INIAP- Alegría (Hoja)	0 (R)	7 (R)	0 (R)	0 (R)	
		Perucho (Hoja)	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	
	Sangorache	INIAP -Rubí (Grano)	8 (R)	0 (R)	0 (R)	0 (R)	
		INIAP -Rubí (Hoja)	8 (R)	7 (R)	0 (R)	0 (R)	
INIAP -Rubí (Panoja)		8 (R)	0 (R)	7 (R)	0 (R)		

(S) sensible, (I) intermedio, (R) resistente

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014.

Anexo 5

5.1 Actividad antimicótica de los extractos lipídicos de los granos andinos

EXTRACTOS LIPIDICOS				
Especies vegetales			Hongos	
			<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Chocho	Grano	INIAP-450	0 (R)	7 (R)
		INIAP-451	7 (R)	0 (R)
		Criollo	0 (R)	10 (R)
	Hojas	Criollo	9 (R)	9 (R)
	Flor	Criollo	12 (R)	9 (R)
Quinoa	Grano	INIAP-Tunkahuan	8 (R)	0 (R)
		INIAP-Pata de venado	9 (R)	0 (R)
		Criolla Blanca	17 (I)	0 (R)
		Criolla Morada	15 (I)	0 (R)
	Hojas	INIAP-Tunkahuan	8 (R)	0 (R)
		INIAP-Pata de venado	11 (R)	0 (R)
		Criolla Blanca	9 (R)	0 (R)
		Criolla Morada	7 (R)	0 (R)
Amaranto	Grano	INIAP-Alegría	0 (R)	0 (R)
		Perucho	0 (R)	0 (R)
Sangorache	Grano	INIAP-Rubí	0 (R)	0 (R)
	Hoja	INIAP-Rubí	8 (R)	0 (R)
	Panoja	INIAP-Rubí	9 (R)	0 (R)

(S) sensible, (I) intermedio, (R) resistente

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014.

5.2 Actividad antimicótica de los extractos etanólicos de los granos andinos

EXTRACTOS ETANÓLICOS				
Especies vegetales			Hongos	
			<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Chocho	Grano	INIAP-450	0 (R)	0 (R)
		INIAP-451	0 (R)	0 (R)
		Criollo	0 (R)	0 (R)
	Hojas	INIAP-450	9 (R)	10 (R)
		INIAP-451	7 (R)	8 (R)
		Criollo	0 (R)	0 (R)
Flor	Criollo	13 (R)	13 (R)	
Quinua	Grano	INIAP-Tunkahuan	8 (R)	0 (R)
		INIAP-Pata de venado	7 (R)	0 (R)
		Criolla Blanca	0 (R)	0 (R)
		Criolla Morada	0 (R)	0 (R)
	Hojas	INIAP-Tunkahuan	0 (R)	7 (R)
		INIAP-Pata de venado	7 (R)	9 (R)
		Criolla Blanca	7 (R)	7 (R)
	Criolla Morada	7 (R)	8 (R)	
Amaranto	Grano	INIAP-Alegría	7 (R)	0 (R)
		Perucho	8 (R)	0 (R)
	Hojas	INIAP-Alegría	0 (R)	0 (R)
		Perucho	8 (R)	0 (R)
Sangorache	Grano	INIAP-Rubí	8 (R)	0 (R)
	Hoja	INIAP-Rubí	8 (R)	0 (R)
	Panoja	INIAP-Rubí	8 (R)	0 (R)

(S) sensible, (I) intermedio, (R) resistente

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014.

5.3 Actividad antimicótica de los extractos alcaloides del chocho, saponina de la quinua y flavonoides del amaranto y sangorache

Extracto	Especie vegetal			Hongo	
				<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Alcaloides	Chocho	INIAP-450	100%	9 (R)	0 (R)
			90%	7 (R)	0 (R)
			80%	8 (R)	0 (R)
		INIAP-451	100%	11 (R)	8 (R)
			90%	11 (R)	8 (R)
			80%	7 (R)	7 (R)
		Criollo	100%	9 (R)	14 (I)
			90%	0 (R)	0 (R)
			80%	0 (R)	0 (R)
Saponina	Quinua	INIAP-Tunkahuan		8 (R)	0 (R)
		INIAP-Pata de venado		0 (R)	0 (R)
		Criolla Blanca		7 (R)	0 (R)
		Criolla Morada		8 (R)	0 (R)
Flavonoides	Amaranto	INIAP- Alegría (Grano)		8 (R)	0 (R)
		Perucho (Grano)		8 (R)	0 (R)
	Sangorache	INIAP -Rubí (Grano)		11 (R)	0 (R)
		INIAP -Rubí (Hoja)		7 (R)	0 (R)
		INIAP -Rubí (Panoja)		7 (R)	0 (R)
(S) sensible, (I) intermedio, (R) resistente					

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014.

Anexo 6

Controles positivos aplicados sobre cepas de interés clínico

Controles	Halos de inhibición (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Micrococcus flavus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Antibiótico	Estreptomina - 10 µg	21 (S)	16 (I)	17 (I)	24 (S)	N/A	N/A
	Estreptomina - 300 µg	27 (S)	22 (S)	24 (S)	32 (S)	N/A	N/A
Antifúngico	Fluconazol - 20 µg	N/A	N/A	N/A	N/A	16 (I)	15 (I)
	Fluconazol - 50 µl	N/A	N/A	N/A	N/A	19 (I)	17 (I)
Extracto de plantas medicinales	Santa María (Extracto Etanólico - hojas y Tallo) 100%	19 (I)	16 (I)	15 (I)	20 (S)	29 (S)	23 (S)
	Santa María(Extracto Etanólicos - flores) 100%	19 (I)	15 (I)	16 (I)	17 (I)	24 (S)	23 (S)
	Ruda (Extracto Etanólico - hojas) 100%	12 (R)	15 (I)	11 (R)	18 (I)	9 (R)	9 (R)
	Marco (Extracto Etanólico - hojas) 100%	10 (R)	17 (I)	16 (I)	8 (R)	11 (R)	11 (R)
	Eucalipto (Extracto Etanólico) 20 µg	13 (R)	12 (R)	10 (R)	10 (R)	13 (R)	11 (R)
	Eucalipto (Extracto Etanólico) 50 µg	17 (I)	15 (I)	13 (R)	12 (R)	17 (I)	14 (R)

(S) sensible, (I) intermedio, (R) resistente; (N/A) no aplica

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014.

Concentración mínima inhibitoria de productos farmacéuticos y extractos de plantas medicinales

Controles	Lecturas Densidad Óptica (O.D)	Cepas Bacterianas				Cepas Micóticas	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Micrococcus flavus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Farmacéuticos	O.D (1ra. lectura)	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,20
	O.D (2da. lectura)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,18
Santa María (Tallos y Hojas)	O.D (1ra. lectura)	0,19	0,95	0,08	0,56	0,16	1,89
	O.D (2da. lectura)	0,04	0,11	0,05	0,56	0,12	0,11
Santa María (Flores)	O.D (1ra. lectura)	1,93	1,9	1,69	0,10	2,22	1,99
	O.D (2da. lectura)	1,72	1,82	1,53	0,03	2,13	1,89
Ruda	O.D (1ra. lectura)	0,59	0,82	0,61	0,71	0,72	0,70
	O.D (2da. lectura)	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Marco	O.D (1ra. lectura)	0,28	0,33	0,37	0,34	0,25	0,25
	O.D (2da. lectura)	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04

Fuente: Aguirre, 2013; Chicaiza, 2014 y García, 2014.



■ Misión del INIAP

Investigar, desarrollar tecnologías, generar procesos de innovación y transferencia tecnológica en el sector agropecuario, agroindustrial y de forestación comercial, para contribuir al desarrollo sostenible del Ecuador.

■ Misión del Departamento de Nutrición y Calidad

Desarrollar y apoyar trabajos de investigación en calidad de alimentos y agroindustria. Promover acciones participativas de investigación, oferta, capacitación y servicio de análisis especializado, contando con la experiencia de un grupo multidisciplinario de profesionales capacitados, equipos e infraestructura adecuada.



GOBIERNO NACIONAL DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR

Econ. Rafael Correa Delgado
PRESIDENTE CONSTITUCIONAL

Lcdo. Javier Ponce Cevallos
MINISTRO DE AGRICULTURA, GANADERÍA, ACUACULTURA Y PESCA

Dr. Juan Manuel Domínguez Andrade
DIRECTOR GENERAL DEL INIAP

ISBN 978-9942-07-887-2



9 789942 078872

MAYOR INFORMACIÓN:

Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina – INIAP
Panamericana sur Km1 • Teléfono: (593-2) 3007134, extensión 17

Web: www.iniap.gob.ec

Mejía-Ecuador

INIAP - Estación Experimental Santa Catalina