



Universidad Autónoma Metropolitana



Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud.

Departamento de Sistemas Biológicos.

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica.

“Estudio de la actividad antimicrobiana de *Cascabela thevetioides* en el control de bacterias y hongos”

Nombre: Mirna Areli Guzmán Estrada

Matricula: 2193072769

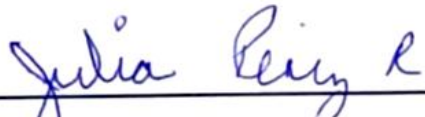
Asesora:

Dra. Julia Pérez Ramos

Número económico: 9814

Fecha de inicio: 29 de abril de 2024

Fecha de termino: 30 de octubre de 2024


Dra. Julia Pérez Ramos

INDICE	
1. INTRODUCCIÓN	2
2. MARCO TEORICO	3
2.1 Antecedentes de <i>Cascabela thevetioides</i>	3
2.2. Resistencia antimicrobiana	3
2.3. Infecciones fúngicas más importantes	4
2.4. Infecciones bacterianas importantes.....	5
2.5. Fármacos de referencia.....	6
2.6. Importancia de las plantas medicinales contra la resistencia antimicrobiana	9
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
4. JUSTIFICACIÓN	10
5. OBJETIVO GENERAL	11
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
7. METODOLOGÍA	12
7.1. Preparación del ensayo	12
7.2. Preparación del inóculo	12
7.3. Preparación de los controles positivos	14
7.4. Preparación de los extractos	15
7.5. Procedimiento experimental en placas.....	15
7.6. Evaluación del crecimiento microbiano	16
8. RESULTADOS	16
8.1. Características morfológicas.....	16
8.2. Lectura en lector de placas ELISA	25
9. DISCUSIÓN	32
10. CONCLUSIÓN	34
11. REFERENCIAS	35
ANEXOS	38

1. INTRODUCCIÓN

La resistencia antimicrobiana es hoy uno de los mayores retos para la salud pública global, reduciendo constantemente las opciones de tratamiento contra infecciones bacterianas y fúngicas. A medida que los patógenos desarrollan mecanismos de resistencia, la efectividad de los antimicrobianos disminuye, comprometiendo nuestra capacidad para tratar tanto infecciones comunes como complejas (OMS, 2020). En este contexto, la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos es crucial, con un interés creciente en compuestos naturales de plantas con propiedades medicinales (Gupta et al. 2019).

Entre las plantas con potencial terapéutico se encuentra *Cascabela thevetioides*, de la familia *Apocynaceae*. Tradicionalmente utilizada en medicina, esta planta es de interés científico debido a sus posibles propiedades biológicas, incluidas sus capacidades antimicrobianas (Silva M. et al., 2018). Sin embargo, se requiere una investigación rigurosa para evaluar su potencial frente a diversos patógenos bacterianos y fúngicos (Kumar et al. 2017).

El objetivo de este proyecto es explorar y caracterizar la actividad antimicrobiana de *Cascabela thevetioides*. Para ello, se diseñó un estudio que incluye la extracción de compuestos bioactivos y su evaluación frente a microorganismos de relevancia clínica. Las bacterias seleccionadas, tales como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* (Gram negativas), así como *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus* (Gram positivas), son patógenos que presentan serios desafíos debido a su creciente resistencia a múltiples antibióticos (González et al., 2021). Estas bacterias causan una amplia variedad de infecciones, desde urinarias y respiratorias hasta infecciones en la piel y tejidos blandos (Healthline, 2021).

Además, se evaluó la actividad de *Cascabela thevetioides* frente a hongos del género *Candida*, como *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. tropicalis*. Estos hongos son responsables de infecciones oportunistas, especialmente en personas inmunocomprometidas, donde la resistencia a los tratamientos convencionales es una creciente preocupación en entornos hospitalarios (Hernández et al., 2020).

Los resultados de esta investigación pueden revelar la capacidad de los extractos de *Cascabela thevetioides* para inhibir el crecimiento de bacterias y hongos patógenos (Pérez et al., 2019). Estos hallazgos podrían no solo ampliar el conocimiento sobre el potencial antimicrobiano de esta planta, sino también impulsar el desarrollo de nuevas terapias que ofrezcan alternativas efectivas contra la resistencia antimicrobiana (World J. 2022).

2. MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de *Cascabela thevetioides*

Cascabela thevetioides, conocida comúnmente como “codo de fraile” o “palo mulato”, es una planta de la familia *Apocynaceae*, nativa de las regiones tropicales de México, Centroamérica y Sudamérica. Este arbusto ornamental, que puede alcanzar entre 3 y 6 metros de altura, ha sido valorado en la medicina tradicional por sus propiedades terapéuticas, utilizadas para aliviar dolor de muelas, sordera, afecciones de la piel y como desparasitante (Balderas-López et al., 2019).

A pesar de su toxicidad, las plantas medicinales despiertan un interés creciente como fuentes potenciales de nuevos compuestos antimicrobianos. En este contexto, *Cascabela thevetioides* podría poseer propiedades antimicrobianas aún no exploradas que podrían resultar útiles en el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas.

2.2. Resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana es un fenómeno en el cual los microorganismos, ya sean bacterias o hongos, desarrollan la capacidad de sobrevivir a los efectos de los medicamentos diseñados para eliminarlos (World Health Organization. 2023). Este problema ha cobrado importancia a nivel mundial debido al incremento en la incidencia de infecciones resistentes a los tratamientos convencionales. La Organización Mundial de la Salud (OMS) advierte que la resistencia antimicrobiana podría causar hasta 10 millones de muertes anuales para el año 2050, si no se toman medidas urgentes (World Health Organization. 2023). El proceso de resistencia puede ser inherente, es decir, que algunas bacterias son naturalmente resistentes a ciertos antibióticos. Sin embargo, en muchos casos, la resistencia se desarrolla como resultado del uso indebido o excesivo de

antimicrobianos, lo que promueve la selección de cepas resistentes (Gupta et al. 2019). Esta situación ha generado una crisis global, pues las opciones terapéuticas para tratar infecciones graves se están agotando rápidamente. Las plantas medicinales, con sus múltiples compuestos bioactivos, se han convertido en una de las alternativas más exploradas en la búsqueda de nuevas estrategias antimicrobianas (Silva, et al. 2021).

2.3. Infecciones fúngicas más importantes

Las infecciones causadas por hongos patógenos son un problema de salud pública significativo, especialmente en personas con sistemas inmunitarios debilitados, como pacientes oncológicos, receptores de trasplantes o personas con VIH. El género *Cándida* incluye una variedad de especies de levaduras que son patógenos oportunistas importantes en humanos. Estas levaduras pueden colonizar la piel, las mucosas y el tracto gastrointestinal, causando infecciones que van desde leves hasta potencialmente mortales, especialmente en individuos inmunocomprometidos. Las infecciones por *Cándida*, conocidas como candidiasis, pueden presentarse en diversas formas, como candidiasis oral o vulvovaginal. (Perfect, et al. 2019)

- *Cándida albicans*: Es la especie más común de *Cándida* y responsable de la mayoría de las infecciones fúngicas. *C. albicans* es parte del microbiota normal de la piel, la boca, el tracto gastrointestinal y la vagina, pero bajo condiciones de inmunosupresión o alteraciones del equilibrio microbiano, puede volverse patógena. Esta levadura tiene la capacidad de formar hifas, lo que contribuye a su virulencia. Las infecciones comunes incluyen candidiasis oral, candidiasis vaginal y candidemia en casos más graves (Williams, et al. 2018).
- *Cándida glabrata*: Se diferencia de *C. albicans* en su resistencia inherente a ciertos antifúngicos, como los azoles, lo que la convierte en un desafío en el tratamiento. Aunque no es tan común como *C. albicans*, su incidencia ha aumentado, especialmente en pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos. *C. glabrata* es responsable principalmente de infecciones del tracto urinario y candidemia (Vazquez, et al. 2020).

- *Cándida krusei*: Presenta una alta resistencia a los azoles, particularmente al fluconazol, lo que limita las opciones de tratamiento. Es menos frecuente que *C. albicans*, pero es una causa importante de infecciones en pacientes con cáncer o que han recibido trasplantes. La candidemia por *C. krusei* tiene una tasa de mortalidad considerable, especialmente en pacientes inmunocomprometidos (Ben-Ami, et al. 2021).
- *Cándida tropicalis*: Se encuentra con neoplasias hematológicas y es un patógeno relevante en entornos hospitalarios. *C. tropicalis* es conocida por su capacidad de formar biofilms, lo que dificulta su erradicación y contribuye a la resistencia a los antifúngicos. Es una de las principales causas de candidiasis invasiva en América Latina (Wang, et al. 2020).

2.4. Infecciones bacterianas importantes

Las infecciones bacterianas siguen siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial. Algunas bacterias han desarrollado resistencia a múltiples clases de antibióticos, lo que ha complicado su tratamiento en entornos hospitalarios y comunitarios. A continuación, se describen algunas de las bacterias más relevantes desde el punto de vista clínico:

- *Escherichia coli* (Gram -): Esta bacteria es una de las principales causantes de infecciones del tracto urinario. Además, algunas cepas, como *E. coli* productora de toxina shiga, pueden causar cuadros graves de diarrea y colitis hemorrágica. La resistencia a antibióticos como las fluoroquinolonas y los beta-lactámicos ha aumentado en los últimos años, lo que ha limitado las opciones de tratamiento (Kaper, et al. 2019).
- *Pseudomona aeruginosa* (Gram -): *P. aeruginosa* es un patógeno oportunista que causa infecciones respiratorias, urinarias y en heridas, particularmente en pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos. Su capacidad para formar biopelículas y resistir múltiples antibióticos la convierte en uno de los patógenos más difíciles de tratar. Las cepas resistentes a carbapenémicos son especialmente preocupantes debido a las pocas opciones terapéuticas disponibles (Mulcahy, et al. 2019).

- *Enterococcus faecalis* (Gram +): Este patógeno es una de las principales causas de infecciones nosocomiales, incluyendo infecciones del tracto urinario, bacteriemia y endocarditis. La resistencia a la vancomicina (VRE) ha aumentado significativamente, lo que ha complicado el tratamiento de las infecciones por *E. faecalis* (Arias, et al. 2019).
- *Staphylococcus aureus* (Gram +): Es uno de los patógenos más comunes en infecciones de la piel, huesos, pulmones y válvulas cardíacas. La aparición de cepas resistentes a la meticilina (MRSA) ha provocado serios problemas en hospitales, ya que estas infecciones son difíciles de tratar y pueden ser mortales si no se manejan adecuadamente (Chambers, et al. 2019).

2.5. Fármacos de referencia

En el contexto del presente estudio sobre la actividad antimicrobiana de *Cascabela thevetioides*, es fundamental establecer una comparación con fármacos de referencia que han demostrado eficacia clínica en el control de diversas infecciones bacterianas y fúngicas. Entre los agentes antimicrobianos seleccionados para este fin se encuentran el ciprofloxacino, el fluconazol y el itraconazol, tres compuestos ampliamente utilizados en la práctica médica. Estos fármacos, representativos de las clases de antibióticos y antifúngicos, actúan mediante mecanismos de acción específicos que alteran procesos celulares esenciales en los patógenos, lo que les confiere una alta efectividad en el tratamiento de infecciones comunes y oportunistas. A continuación, se detalla su mecanismo de acción, espectro de actividad y relevancia clínica, con el objetivo de proporcionar un marco de comparación sólido para los resultados obtenidos en el presente estudio.

2.5.1. Ciprofloxacino

El ciprofloxacino es un antibiótico de amplio espectro que pertenece a la clase de las fluoroquinolonas. Este fármaco actúa inhibiendo el ADN girasa y la topoisomerasa IV, dos enzimas bacterianas esenciales en el proceso de replicación y transcripción del ADN. La inhibición de estas enzimas provoca el bloqueo de la replicación bacteriana, lo que conduce a la muerte celular. El ciprofloxacino es eficaz contra una amplia gama de bacterias gramnegativas, como *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, y algunas grampositivas como

Staphylococcus aureus. Sin embargo, tiene menor actividad frente a bacterias anaerobias y algunas especies de *Streptococcus* (Hooper et al. 2015).

El ciprofloxacino es ampliamente utilizado en infecciones del tracto urinario, infecciones respiratorias, infecciones gastrointestinales y algunas infecciones cutáneas. Su versatilidad lo convierte en una opción terapéutica popular para combatir infecciones difíciles, especialmente en el contexto de bacterias resistentes a otros antibióticos. Una de las características importantes del ciprofloxacino es su capacidad de penetrar en los tejidos y fluidos corporales, lo que le permite ser eficaz en infecciones difíciles de alcanzar, como las infecciones óseas o articulares (Mandell et al. 2002).

No obstante, su uso prolongado o inapropiado puede llevar a la aparición de resistencia bacteriana, lo que ha limitado su eficacia en algunos contextos clínicos. Las bacterias pueden desarrollar resistencia al ciprofloxacino mediante mutaciones en los genes que codifican para la ADN girasa o mediante la adquisición de bombas de eflujo que expulsan el fármaco de la célula bacteriana (Hooper et al. 2015).

2.5.2. Fluconazol

El fluconazol es un antifúngico triazólico utilizado principalmente en el tratamiento de infecciones por hongos, incluyendo *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans* y algunas especies de dermatofitos. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la enzima 14-alfa-desmetilasa, la cual es clave en la biosíntesis del ergosterol, un componente fundamental de la membrana celular fúngica. Al inhibir la síntesis de ergosterol, el fluconazol altera la permeabilidad de la membrana celular, lo que lleva a la muerte del hongo (Rex et al. 1990).

El fluconazol tiene buena absorción oral y excelente penetración en el sistema nervioso central, lo que lo convierte en una opción eficaz para tratar meningitis criptocócica, una de las infecciones más severas en pacientes inmunocomprometidos, como aquellos con VIH/SIDA. Además, es ampliamente utilizado para el tratamiento de candidiasis oral, vaginal y sistémica (Pappas et al., 2009).

Aunque es un antifúngico eficaz y bien tolerado, el uso prolongado o inadecuado de fluconazol puede favorecer la aparición de resistencia. Las cepas de *Candida albicans* han desarrollado mecanismos de resistencia, tales como la mutación del enzima objetivo (14-alfa-desmetilasa) ya que las cepas pueden mutar el gen que codifica la enzima, de manera que el fármaco ya no puede unirse eficientemente a ella, volviéndose menos efectivo. O el aumento en la expresión de bombas de flujo que expulsan el fármaco de la célula fúngica, al aumentar la expresión de estas bombas, el hongo puede eliminar el fármaco antes de que haga efecto, evitando así su acción letal (Prasad et al. 2014)

También existen otras especies de *Candida*, como *Candida glabrata* y *Candida krusei*, que presentan resistencia intrínseca al fluconazol, lo que ha llevado a la necesidad de utilizar otros agentes antifúngicos en estos casos (Pappas et al., 2009).

2.5.3. Itraconazol

El itraconazol es otro antifúngico triazólico ampliamente utilizado en el tratamiento de infecciones micóticas sistémicas y superficiales. Al igual que el fluconazol, su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la enzima 14-alfa-desmetilasa, que interfiere con la síntesis de ergosterol en la membrana celular del hongo. Sin embargo, el itraconazol tiene un espectro de actividad más amplio que el fluconazol, siendo efectivo no solo contra *Candida* spp., sino también contra hongos filamentosos como *Aspergillus* spp., lo que lo hace útil en el tratamiento de aspergilosis invasiva y otras infecciones fúngicas más raras pero severas (Perfect et al. 1999).

El itraconazol también es eficaz en el tratamiento de onicomicosis, infecciones dérmicas, y algunas infecciones pulmonares crónicas causadas por hongos dimórficos como *Histoplasma* y *Blastomyces*. A diferencia del fluconazol, el itraconazol tiene una biodisponibilidad más compleja y se absorbe mejor con alimentos grasos. Sin embargo, su uso prolongado puede estar asociado con efectos secundarios como hepatotoxicidad, y debe ser monitoreado cuidadosamente, especialmente en pacientes con insuficiencia hepática o aquellos

que toman múltiples medicamentos debido a sus interacciones farmacológicas (Perfect et al. 1999).

La resistencia al itraconazol es menos común que la resistencia al fluconazol, pero puede ocurrir, especialmente en infecciones prolongadas o recurrentes por especies de hongos menos comunes o en pacientes inmunodeprimidos. También se han reportado casos de resistencia cruzada entre los distintos antifúngicos triazólicos, lo que puede limitar las opciones terapéuticas en algunos contextos (Odds et al. 2001).

2.6. Importancia de las plantas medicinales contra la resistencia antimicrobiana

El uso de plantas medicinales ha sido una práctica extendida durante milenios en todo el mundo. Sin embargo, en las últimas décadas, el interés por las plantas como fuente de nuevos agentes antimicrobianos ha crecido significativamente, debido al aumento de la resistencia bacteriana y fúngica. Numerosos estudios han demostrado que muchas plantas contienen compuestos con actividad antimicrobiana, lo que ha llevado a la investigación intensiva de sus extractos como posibles tratamientos alternativos. *Cascabela thevetioides*, en particular, presenta un alto interés debido a su uso tradicional en diversas culturas, pero su potencial terapéutico no ha sido explorado. Estudios preliminares sugieren que podría contener compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana. La evaluación de su actividad frente a bacterias y hongos patógenos podría proporcionar una nueva alternativa en la lucha contra la resistencia antimicrobiana.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La resistencia antimicrobiana se ha convertido en una de las mayores amenazas para la salud pública a nivel global. Cada año, millones de personas se ven afectadas por infecciones bacterianas y fúngicas difíciles de tratar debido a la creciente resistencia de los microorganismos a los tratamientos convencionales. Esta resistencia reduce considerablemente las opciones terapéuticas, lo cual incrementa la mortalidad, prolonga el curso de las enfermedades y genera altos costos tanto para los sistemas de salud como para los pacientes. La ineficacia de

los antibióticos y antifúngicos disponibles impulsa la urgente necesidad de explorar nuevas alternativas para combatir estas infecciones.

En este contexto, la búsqueda de nuevas fuentes de agentes antimicrobianos se vuelve prioritaria. Las plantas medicinales, conocidas por su uso tradicional y por su contenido de metabolitos bioactivos, representan una fuente prometedora de nuevos compuestos. Entre ellas, *Cascabela thevetioides*, una planta empleada en la medicina tradicional con diversos fines terapéuticos surge como una candidata potencial para ofrecer soluciones frente a la crisis de resistencia antimicrobiana. Sin embargo, pese a su uso tradicional, la investigación científica exhaustiva sobre sus propiedades antimicrobianas es aún limitada, por lo que es esencial evaluar de manera sistemática su actividad contra patógenos bacterianos y fúngicos.

El estudio de *Cascabela thevetioides* no solo permitiría ampliar el conocimiento sobre sus propiedades medicinales, sino que también podría contribuir al desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas. Dichas alternativas serían cruciales en la lucha contra patógenos resistentes a los medicamentos, como bacterias multirresistentes y hongos patógenos. Por tanto, es fundamental investigar el potencial antimicrobiano de esta planta, tanto en términos de identificación de compuestos activos como en la evaluación de su eficacia para inhibir o eliminar bacterias y hongos que presentan resistencia a los tratamientos actuales.

4. JUSTIFICACIÓN

La creciente resistencia a los antibióticos y antifúngicos convencionales representa un desafío crítico para la salud pública a nivel mundial. Patógenos que antes eran fácilmente tratables ahora muestran una resistencia notable a los medicamentos disponibles, lo que pone en riesgo la eficacia de los tratamientos y contribuye a un aumento en la morbilidad y mortalidad asociada a infecciones bacterianas y fúngicas. Esta situación no solo eleva los costos de atención sanitaria, sino que también prolonga la duración de las enfermedades y puede desencadenar brotes de infecciones resistentes difíciles de contener y tratar. Frente a esta crisis de resistencia antimicrobiana, se hace urgente la búsqueda de nuevas fuentes de agentes terapéuticos eficaces.

Las plantas medicinales han sido durante siglos una fuente importante de compuestos bioactivos, y su exploración científica sigue siendo esencial en la búsqueda de tratamientos innovadores. *Cascabela thevetioides*, una planta con antecedentes de uso tradicional para diversos fines medicinales emerge como una posible fuente de compuestos antimicrobianos que aún no han sido suficientemente estudiados. Evaluar la actividad antimicrobiana de esta planta podría contribuir de manera significativa al descubrimiento de nuevos agentes capaces de inhibir o eliminar bacterias y hongos patógenos, especialmente aquellos resistentes a los tratamientos convencionales.

Este tipo de investigación es particularmente relevante en el contexto actual, donde la resistencia antimicrobiana se ha convertido en un problema de alcance global. Identificar nuevas fuentes de agentes antimicrobianos derivados de plantas como *Cascabela thevetioides* podría abrir el camino hacia el desarrollo de terapias más eficaces y seguras. Además, la exploración de plantas con potencial terapéutico fomenta la diversificación de los tratamientos, lo cual es crucial para enfrentar la resistencia emergente y reducir la dependencia de los antibióticos tradicionales. En consecuencia, esta evaluación no solo contribuiría al avance científico en el campo de la farmacología, sino que también tendría implicaciones directas en la mejora de las opciones de tratamiento para infecciones resistentes, fortaleciendo así la respuesta global a la crisis de resistencia antimicrobiana.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antimicrobiana de *Cascabela thevetioides*, investigando su eficacia en el control de bacterias y hongos patógenos, con el fin de determinar su potencial como agente terapéutico en el tratamiento de infecciones causadas por estos microorganismos.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la capacidad inhibitoria del extracto metanólico de *Cascabela thevetioides* frente al crecimiento de bacterias patógenas seleccionadas y levaduras, evaluando su potencial como agente antimicrobiano.

- Investigar la actividad antifúngica y antibacteriana del extracto de diclorometano de *Cascabela thevetioides* contra especies de hongos comúnmente implicadas en infecciones humanas y bacterias patógenas, con el fin de identificar su eficacia en el control de estos patógenos.

7. METODOLOGÍA

7.1. Preparación del ensayo

Para evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos de *Cascabela thevetioides*, se utilizaron placas de 96 pozos de fondo redondo, las cuales permiten realizar pruebas de micro dilución que son adecuadas para determinar la actividad antimicrobiana en muestras de volumen reducido. El procedimiento consiste en lo siguiente:

- En la columna 1 de cada placa, se añaden 40 μL de caldo y 60 μL de solución salina.
- En la columna 2, se añaden 40 μL de caldo, 10 μL de cepa y 50 μL de solución salina.
- De la columna 3 a la 8, se añaden 40 μL de caldo, 10 μL de cepa ajustada a 10^5 UFC/mL y 50 μL del extracto o fármaco en las siguientes diluciones seriadas: para los extractos, concentraciones de 2500, 1250, 625, 312.5, 156.2 y 78.12 $\mu\text{g/mL}$; para los fármacos de itraconazol y fluconazol, concentraciones de 16, 8, 4, 2, 1 y 0.5 $\mu\text{g/mL}$; y para el ciprofloxacino, concentraciones de 64, 32, 16, 8, 4 y 2 $\mu\text{g/mL}$.

Obteniendo un volumen total de 100 μL por cada pozo.

Este diseño experimental permitió evaluar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto vegetal, así como su comparación frente a los controles positivos de referencia.

7.2. Preparación del inóculo

7.2.1. Enterobacterias

Cada enterobacteria seleccionada, es decir, *Escherichia coli* (gram negativa), *Pseudomonas aeruginosa* (gram negativa), *Enterococcus faecalis* (gram positiva) y

Staphylococcus aureus (gram positiva) fueron cultivadas en condiciones controladas para asegurar su viabilidad y cantidad adecuada para las pruebas. Se utilizo caldo BHI como medio de cultivo debido a su capacidad de promover el crecimiento de bacterias Grampositivas y Gramnegativas.

El proceso fue el siguiente:

- En un volumen de 8 mL de caldo BHI, se inocularon 500 µL de cada una de las cepas, previamente conservadas a -80°C.
- Las cepas se incubaron a 37°C durante 24 horas para favorecer su crecimiento.
- Posteriormente, se sembraron en medios de agar MacConkey, sal y manitol, pseudomona y sangre respectivamente para su observación. La tinción Gram y la observación microscópica aseguro que las características morfológicas fueron las adecuadas.

Cada cepa bacteriana se ajustó a una turbidez equivalente a 0.5 en la escala de McFarland, lo cual corresponde aproximadamente a 1.5×10^8 UFC/mL. Esos ensayos necesitan concentraciones más pequeñas de UFC, para alcanzar la concentración de trabajo deseada (10^5 UFC/mL), se realizó una dilución 1:1000 en solución salina estéril.

7.2.2. Levaduras

Para las levaduras, las cuales son *Cándida albicans*, *Cándida glabrata*, *Cándida krusei* y *Cándida tropicalis*, el procedimiento fue similar, pero se utilizó caldo de dextrosa Sabouraud, el cual es un medio específico para el crecimiento de hongos.

El procedimiento fue:

- En 8 mL de caldo de dextrosa Sabouraud, se inocularon 500 µL de cada cepa congelada.
- Las cepas se incubaron a 37°C durante 24 horas.
- Las colonias resultantes se observaron mediante tinción y microscopía para confirmar la viabilidad y pureza de las levaduras.

Al igual que en el caso de las bacterias, cada cepa se ajustó a 0.5 en la escala de McFarland y se diluyó en una proporción 1:1000, logrando una concentración final de 10^5 UFC/mL.

7.3. Preparación de los controles positivos

7.3.1 Antifúngicos

Para evaluar la eficacia del extracto de *Cascabela thevetioides* frente a hongos, se utilizaron como controles positivos los siguientes antifúngicos de referencia:

- Fluconazol: Se utilizó una solución inyectable de 2000 $\mu\text{g/mL}$, que se diluyó en solución salina estéril hasta alcanzar una concentración final de 16 $\mu\text{g/mL}$.
- Itraconazol: Se empleó una capsula con pellets de 5000 $\mu\text{g/mL}$, que se diluyó en solución salina hasta alcanzar una concentración final de 16 $\mu\text{g/mL}$.

Estas concentraciones se seleccionaron en función de datos reportados en la literatura científica, donde la MIC para *Cándidas* oscila entre 0.5 y 2 $\mu\text{g/mL}$ como se muestra en la tabla 1.

MIC de levaduras ($\mu\text{g/mL}$)				
	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. tropicalis</i>
Fluconazol	0.53	1.95	0.97	0.97
Itraconazol	0.75	2	0.51	0.13

Tabla 1. Concentración mínima inhibitoria de levaduras

7.3.2. Antibióticos

Para las bacterias, se utilizó Ciprofloxacino como control positivo:

- Se empleó una solución inyectable de 2000 $\mu\text{g/mL}$, que se diluyó en solución salina hasta obtener una concentración de 64 $\mu\text{g/mL}$, en concordancia con estudios previos que sitúan la MIC para enterobacterias en un rango de 2 a 16 $\mu\text{g/mL}$ como se muestra en la tabla 2.

MIC de enterobacterias ($\mu\text{g/mL}$)				
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>
Ciprofloxacino	3.42	5.4	16	2.1

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria de enterobacterias

7.4. Preparación de los extractos

Se trabajo con dos tipos de extractos de *Cascabela thevetioides*:

1. Extracto metanólico a 10 µg/mL.
2. Extracto de diclorometano a 10 µg/mL.

Ambos extractos se obtuvieron utilizando un matraz bola, y posteriormente se diluyeron con dimetilsulfóxido (DMSO) y solución salina. Se añadió 0.05 mL de DMSO y 0.95 mL de solución salina para obtener una concentración final de 5000 µg/mL en un volumen total de 1 mL. Los extractos se almacenaron en tubos Eppendorf y se prepararon diluciones seriadas.

Se seleccionaron estas concentraciones porque, a diferencia de los antibióticos convencionales, los extractos de plantas no ofrecen el mismo nivel de especificidad ni potencia. Su composición variable y la baja concentración de sus compuestos activos hacen necesario utilizar dosis más altas para alcanzar un efecto antimicrobiano similar.

7.5. Procedimiento experimental en placas

El ensayo se realizó utilizando placas de 96 pozos y se hizo por triplicado. Para las pruebas con enterobacterias, se utilizaron tres placas, mientras que para las levaduras se emplearon seis placas debido a la prueba con dos antifúngicos diferentes.

Cada placa albergo:

- 10 µL de cepa microbiana (bacteria o levadura) ajustada a 10^5 UFC/mL.
- 50 µL del extracto o fármaco en diluciones seriadas.
- 40 µL de caldo BHI (bacterias) o caldo de dextrosa Sabouraud (levaduras).

Con un volumen final de 100 µL

Se establecieron los siguientes controles:

- Control negativo: En la columna 1 de cada placa, se añadirá 40 µL de caldo y 60 µL de solución salina.

- Control positivo de cepa: En la columna 2, se añadirán 40 µL de caldo, 10 µL de cepa y 50 µL de solución salina.
- Prueba experimental: De la columna 3 a la 8, se añadirán 40 µL de caldo, 10 µL de cepa ajustada a 10^5 UFC/mL y 50 µL del extracto o fármaco en las siguientes diluciones seriadas: para los extractos, concentraciones de 2500, 1250, 625, 312.5, 156.2 y 78.12 µg/mL; para los fármacos de itraconazol y fluconazol, concentraciones de 16, 8, 4, 2, 1 y 0.5 µg/mL; y para el ciprofloxacino, concentraciones de 64, 32, 16, 8, 4 y 2 µg/mL.

7.6. Evaluación del crecimiento microbiano

Después de 24 horas de incubación a 37°C, se evaluó el crecimiento microbiano en las placas mediante dos métodos:

- Observación Visual de Turbidez: La evaluación inicial del crecimiento se realizó visualmente, observando la turbidez generada en los pozos. La turbidez se debe al aumento de la densidad celular en cada pozo, lo que indica la presencia y grado de crecimiento microbiano. Un crecimiento activo se reflejará en una mayor opacidad del pozo, mientras que la inhibición del crecimiento se verá como una disminución de la turbidez o claridad del medio.
- Lectura en Lector de Placas ELISA: Además de la observación visual, se realizó una lectura cuantitativa en un lector de placas ELISA que permitirá cuantificar la turbidez y detectar la inhibición del crecimiento bacteriano o fúngico.

8. RESULTADOS

8.1. Características morfológicas

En el presente estudio, se analizaron las características morfológicas de diversas cepas bacterianas y fúngicas de importancia clínica, incluyendo *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y varias especies del género *Cándida*. El objetivo fue describir las estructuras celulares y patrones de crecimiento de estos microorganismos mediante técnicas de cultivo y tinción, como la tinción de Gram.

8.1.1. Enterobacterias

Los resultados obtenidos, apoyados con imágenes microscópicas, proporcionan una visión detallada de las particularidades morfológicas de cada una de las cepas.

- *Escherichia coli* (Gram -)

En la figura 1 se observa la cepa *E. coli* sembrada en agar MacConkey, presentó colonias de tamaño mediano, con una coloración rosada que indica fermentación de lactosa. En la figura 2 bajo el microscopio, se observan células en forma de bacilos, con una forma alargada, y su tinción de Gram resultó negativa.



Figura 1. Colonias de *E. coli* en agar MacConkey

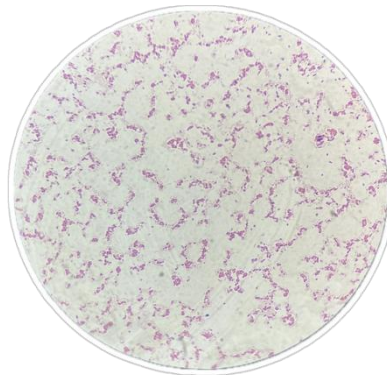


Figura 2. Colonias de *E. coli* bajo microscopio

- *Pseudomonas aeruginosa* (Gram -)

En la figura 3 se observa *P. aeruginosa* cultivada en agar específico para esta especie, mostró colonias grandes con bordes irregulares y una distintiva coloración verdeazulada, resultado de la producción de pigmentos. En la figura 4 al ser observada bajo el microscopio, sus células en forma de bacilos confirmaron su carácter Gram negativo.



Figura 3. Colonias de *P. aeruginosa* en agar específico

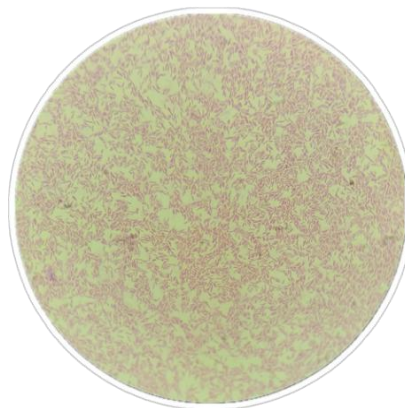


Figura 4. Colonias de *P. aeruginosa* bajo microscopio

- *Enterococcus faecalis* (Gram +)

En la figura 5 se observa *E. faecalis* sembrado en agar sangre, produjo colonias pequeñas, circulares y blancas, sin hemólisis visible (hemólisis gamma). Morfológicamente, al microscopio, en la figura 6 se observaron cocos Gram positivos en cadenas cortas.



Figura 5. Colonias de *E. faecalis* en agar sangre

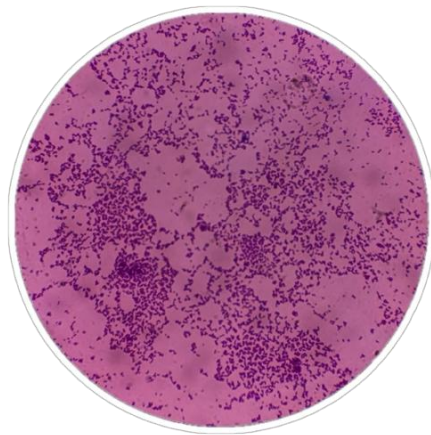


Figura 6. Colonias de *E. faecalis* bajo microscopio

- *Staphylococcus aureus* (Gram +)

En la figura 7 se observa *S. aureus* crecido en agar sal y manitol, formó colonias redondas. Además, debido a su capacidad de fermentar el manitol, se observó un cambio de color en el medio a amarillo. Microscópicamente, en la figura 8 se identificaron cocos en racimos, característicos de esta especie Gram positiva.



Figura 7. Colonias de *S. aureus* en agar sal y manitol

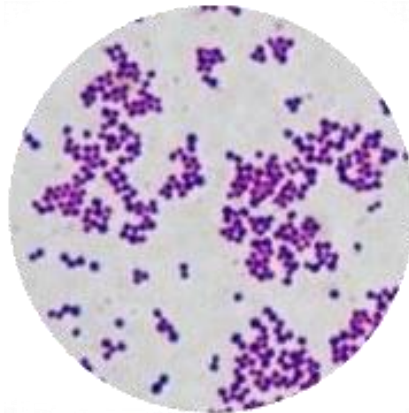


Figura 8. Colonias de *S. aureus* bajo microscopio

8.1.2. Levaduras

Al igual que las enterobacterias, los resultados obtenidos de las levaduras apoyados con imágenes microscópicas, proporcionan una visión detallada de las características morfológicas de cada una de las cepas.

- *Cándida albicans*

En la figura 9 se observa *C. albicans* crecida en agar Sabouraud, la cual formó colonias redondas y cremosas, de color blanco. Estas características son típicas de esta especie en dicho medio de cultivo. Microscópicamente, en la figura 10 se identificaron levaduras en gemación y la presencia de pseudohifas, lo que coincide con su comportamiento morfológico habitual.



Figura 9. Colonias de *C. albicans* en agar dextrosa Sabouraud

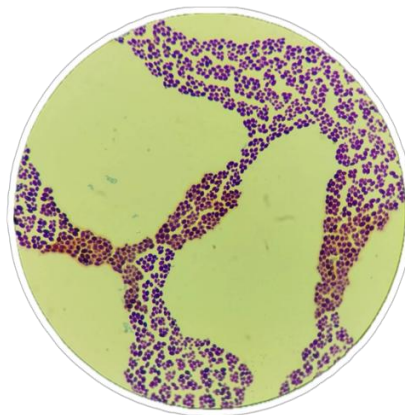


Figura 10. Colonias de *C. albicans* bajo microscopio con tinción de Gram

- *Cándida glabrata*

En la figura 11 se presenta *C. glabrata* en agar Sabouraud, con colonias más pequeñas y de apariencia cremosa. A diferencia de otras especies del mismo género, no se observaron pseudohifas al microscopio, como se puede apreciar en la figura 12, donde solo se observan levaduras en forma redondeada.



Figura 11. Colonias de *C. glabrata* en agar dextrosa Sabouraud

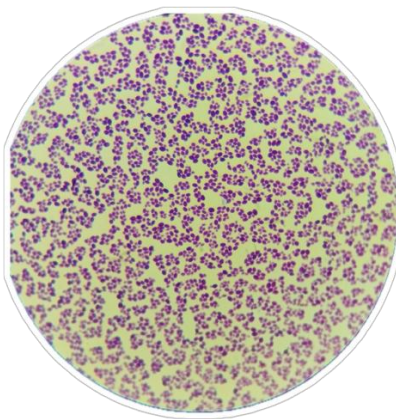


Figura 12. Colonias de *C. glabrata* bajo microscopio con tinción de Gram

- *Cándida krusei*

En la figura 13 se muestra el crecimiento de *C. krusei* en agar Sabouraud, donde se formaron colonias secas y rugosas, de color blanquecino. Al realizar la observación microscópica, en la figura 14 se notaron levaduras de forma alargada con poca formación de pseudohifas, características distintivas de esta especie.



Figura 13. Colonias de *C. krusei* en agar dextrosa Sabouraud

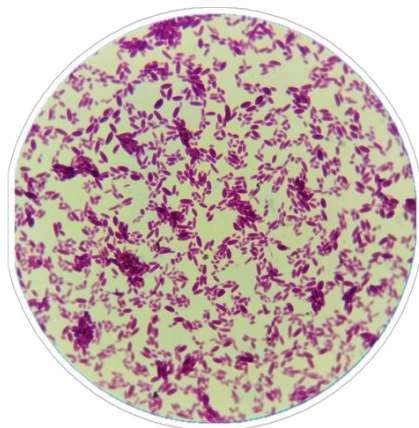


Figura 14. Colonias de *C. krusei* bajo microscopio con tinción de Gram

- *Cándida tropicalis*

En la figura 15 se visualiza el crecimiento de *C. tropicalis* en el mismo medio de cultivo, con colonias lisas, cremosas y de color blanco a beige. Microscópicamente, en la figura 16 se observó una abundante formación de pseudohifas y levaduras en gemación, confirmando las propiedades morfológicas típicas de esta especie.



Figura 15. Colonias de *C. tropicalis* en agar dextrosa Sabouraud

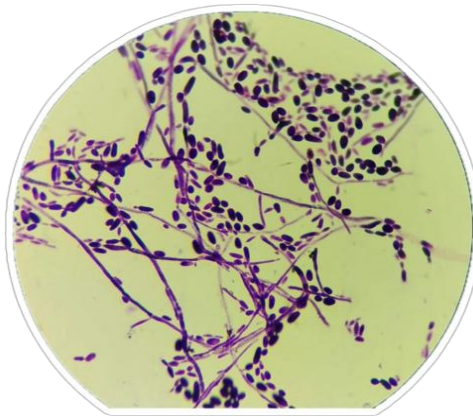


Figura 16. Colonias de *C. tropicalis* bajo microscopio con tinción de Gram

8.2. Lectura en lector de placas ELISA

De acuerdo con la metodología utilizada, el experimento se distribuyó en las placas de pozos según lo indicado en la tabla 3. Para el grupo de enterobacterias, las condiciones experimentales se organizaron de la siguiente manera:

- Control negativo: En la columna 1 de cada placa, se añadieron 40 μL de caldo y 60 μL de solución salina, sin presencia de cepas bacterianas, para evaluar la ausencia de actividad antimicrobiana.
- Control positivo de cepa: En la columna 2, se añadieron 40 μL de caldo, 10 μL de la cepa bacteriana y 50 μL de solución salina, con el fin de verificar el crecimiento normal de la bacteria sin interferencia de compuestos externos.
- Prueba experimental: Desde la columna 3 hasta la columna 8, se añadieron 40 μL de caldo, 10 μL de la cepa y 50 μL del extracto o fármaco a ensayar, aplicando distintas diluciones para evaluar el efecto inhibitorio en las cepas bacterianas.

Este diseño experimental permitió evaluar la actividad antimicrobiana del extracto o fármaco frente a diferentes cepas de bacterias en concentraciones decrecientes.

		Enterobacterias							
		1	2	3	4	5	6	7	8
		Control -	Control +	Prueba experimental (diluciones)					
A - Ciprofloxacino	Caldo BHI + Solución salina.	S. aureus	64 $\mu\text{g/mL}$	32 $\mu\text{g/mL}$	16 $\mu\text{g/mL}$	8 $\mu\text{g/mL}$	4 $\mu\text{g/mL}$	2 $\mu\text{g/mL}$	
B - Extracto D/M			2500 $\mu\text{g/mL}$	1250 $\mu\text{g/mL}$	625 $\mu\text{g/mL}$	312.5 $\mu\text{g/mL}$	156.2 $\mu\text{g/mL}$	78.12 $\mu\text{g/mL}$	
C - Ciprofloxacino		P. aeruginosa	64 $\mu\text{g/mL}$	32 $\mu\text{g/mL}$	16 $\mu\text{g/mL}$	8 $\mu\text{g/mL}$	4 $\mu\text{g/mL}$	2 $\mu\text{g/mL}$	
D - Extracto D/M			2500 $\mu\text{g/mL}$	1250 $\mu\text{g/mL}$	625 $\mu\text{g/mL}$	312.5 $\mu\text{g/mL}$	156.2 $\mu\text{g/mL}$	78.12 $\mu\text{g/mL}$	
E - Ciprofloxacino		E. coli	64 $\mu\text{g/mL}$	32 $\mu\text{g/mL}$	16 $\mu\text{g/mL}$	8 $\mu\text{g/mL}$	4 $\mu\text{g/mL}$	2 $\mu\text{g/mL}$	
F - Extracto D/M			2500 $\mu\text{g/mL}$	1250 $\mu\text{g/mL}$	625 $\mu\text{g/mL}$	312.5 $\mu\text{g/mL}$	156.2 $\mu\text{g/mL}$	78.12 $\mu\text{g/mL}$	
G - Ciprofloxacino		E. faecalis	64 $\mu\text{g/mL}$	32 $\mu\text{g/mL}$	16 $\mu\text{g/mL}$	8 $\mu\text{g/mL}$	4 $\mu\text{g/mL}$	2 $\mu\text{g/mL}$	
H - Extracto D/M			2500 $\mu\text{g/mL}$	1250 $\mu\text{g/mL}$	625 $\mu\text{g/mL}$	312.5 $\mu\text{g/mL}$	156.2 $\mu\text{g/mL}$	78.12 $\mu\text{g/mL}$	

Tabla 3. Disposición de las concentraciones en los pozos para ensayo de sensibilidad en enterobacterias

8.2.1 Extracto de diclorometano en enterobacterias

Ver cada tabla de los resultados obtenidos mediante el lector de placas ELISA de cada repetición en anexos.

Durante el desarrollo del experimento, se utilizó extracto de diclorometano como agente experimental, y ciprofloxacino fue empleado como fármaco de referencia para evaluar su actividad antimicrobiana.

En las placas de pozos el extracto de diclorometano no presentó ningún efecto inhibitorio significativo sobre las enterobacterias evaluadas, ya que no se observó reducción en el crecimiento bacteriano en las distintas concentraciones. En contraste, el ciprofloxacino mostró una notable actividad antimicrobiana, reduciendo el crecimiento bacteriano de manera evidente.

A continuación, en la tabla 4 se presentan los resultados cuantitativos promedio obtenidos para cada cepa en las tres placas que se realizaron, donde se observan las diferencias significativas en la absorbancia entre los pozos tratados con ciprofloxacino y aquellos tratados con el extracto de diclorometano. Estos resultados confirman que el fármaco de referencia fue eficaz en inhibir el crecimiento de las enterobacterias, mientras que el extracto no mostró actividad comparable.

Promedio de las 3 placas		
	Ciprofloxacino	Extracto D
S. aureus	0.083	0.423
P. aeruginosa	0.093	0.754
E. coli	0.071	0.520
E. faecalis	0.071	0.512

Tabla 4. Promedio de absorbancia obtenido en las tres placas para cada cepa

En las mediciones de absorbancia obtenidas se observó que, a mayor absorbancia, correspondía un mayor crecimiento de las bacterias, indicando menor inhibición; por el contrario, a menor absorbancia, el crecimiento disminuía, evidenciando un mayor efecto inhibitorio. Los resultados obtenidos fueron consistentes, mostrando que el

extracto de diclorometano no presentó ningún efecto inhibitorio significativo sobre las enterobacterias, mientras que el ciprofloxacino demostró un claro efecto antimicrobiano en todas las pruebas.

8.2.2 Extracto de diclorometano en levaduras

De igual forma, para las levaduras se utilizó extracto de diclorometano como agente experimental, y fluconazol e itraconazol como fármacos de referencia para evaluar su actividad. El experimento se distribuyó de la misma manera con la única diferencia de las diluciones del fármaco, las condiciones experimentales se organizaron de la siguiente manera

- Control negativo: En la columna 1 de cada placa, se añadieron 40 µL de caldo y 60 µL de solución salina, sin presencia de cepas.
- Control positivo de cepa: En la columna 2, se añadieron 40 µL de caldo, 10 µL de la cepa de levaduras y 50 µL de solución salina.
- Prueba experimental: Desde la columna 3 hasta la columna 8, se añadieron 40 µL de caldo, 10 µL de la cepa y 50 µL del extracto o fármaco a ensayar, aplicando distintas diluciones para evaluar el efecto inhibitorio.

En la tabla 5 se muestra el orden de distribución.

		Levaduras							
		1	2	3	4	5	6	7	8
		Control -	Control +	Prueba experimental (diluciones)					
A - Fluconazol / Itraconazol	Caldo dextrosa S. + Solución salina.	C. albicans	16 µg/mL	8 µg/mL	14 µg/mL	2 µg/mL	1 µg/mL	0.5 µg/mL	
B - Extracto D/M			2500 µg/mL	1250 µg/mL	625 µg/mL	312.5 µg/mL	156.2 µg/mL	78.12 µg/mL	
C - Fluconazol / Itraconazol		C. glabrata	16 µg/mL	8 µg/mL	14 µg/mL	2 µg/mL	1 µg/mL	0.5 µg/mL	
D - Extracto D/M			2500 µg/mL	1250 µg/mL	625 µg/mL	312.5 µg/mL	156.2 µg/mL	78.12 µg/mL	
E - Fluconazol / Itraconazol		C. krusei	16 µg/mL	8 µg/mL	14 µg/mL	2 µg/mL	1 µg/mL	0.5 µg/mL	
F - Extracto D/M			2500 µg/mL	1250 µg/mL	625 µg/mL	312.5 µg/mL	156.2 µg/mL	78.12 µg/mL	
G - Fluconazol / Itraconazol		C. tropicalis	16 µg/mL	8 µg/mL	14 µg/mL	2 µg/mL	1 µg/mL	0.5 µg/mL	
H - Extracto D/M			2500 µg/mL	1250 µg/mL	625 µg/mL	312.5 µg/mL	156.2 µg/mL	78.12 µg/mL	

Tabla 5. Disposición de las concentraciones en los pozos para ensayo de sensibilidad en levaduras

El extracto de diclorometano no presentó ningún efecto inhibitorio significativo sobre las levaduras evaluadas, ya que en la placa de pozos no se observó reducción en el crecimiento a las diferentes concentraciones probadas. En contraste, el fluconazol demostró una clara actividad antifúngica, reduciendo de manera evidente el crecimiento de las levaduras.

En la tabla 6 se presentan los resultados promedio obtenidos, donde se observan diferencias significativas en la absorbancia entre los pozos tratados con fluconazol y aquellos tratados con el extracto de diclorometano.

Promedio de las 3 placas		
	Fluconazol	Extracto D
C. albicans	0.076	0.359
C. glabrata	0.087	0.224
C. krusei	0.083	0.275
C. tropicalis	0.085	0.223

Tabla 6. Promedio de absorbancia obtenido en las tres placas para cada cepa

De la misma manera se utilizó itraconazol como segundo fármaco de referencia para evaluar la actividad antifúngica.

El extracto de diclorometano tampoco mostró ninguna actividad inhibitoria apreciable contra las levaduras analizadas. En cambio, el itraconazol demostró ser altamente efectivo, logrando una notable supresión en el desarrollo de las levaduras.

Los resultados promedio presentados en la tabla 7, obtenidos muestran diferencias significativas en las mediciones de absorbancia entre los pozos que recibieron tratamiento con itraconazol y aquellos tratados con el extracto de diclorometano. Es importante destacar que todos los ensayos fueron realizados por triplicado, garantizando la fiabilidad de los datos obtenidos

Promedio de las 3 placas		
	Itraconazol	Extracto D
C. albicans	0.085	0.374
C. glabrata	0.076	0.314
C. krusei	0.075	0.298
C. tropicalis	0.071	0.269

Tabla 7. Promedio de absorbancia obtenido en las tres placas para cada cepa

Las mediciones de absorbancia mostradas en las tablas 6 y 7 permitieron evaluar el grado de crecimiento de las levaduras, observándose que a mayor absorbancia correspondía un mayor crecimiento, lo que refleja una menor inhibición. Por el contrario, una menor absorbancia se asoció con un crecimiento reducido, lo que evidenció una mayor inhibición del crecimiento. Los resultados fueron consistentes en cada prueba, mostrando que el extracto no presentó un efecto inhibitorio significativo, mientras que fluconazol e itraconazol demostraron una actividad antimicótica clara y reproducible en todas las pruebas.

8.2.3 Extracto metanólico en enterobacterias

A lo largo de la fase experimental, se empleó el extracto metanólico como segundo agente experimental manteniendo al ciprofloxacino como fármaco de referencia para comparar la actividad antimicrobiana. La metodología utilizada, así como el orden de distribución de los pozos en las placas se mantuvieron constantes en todos los ensayos, garantizando la reproducibilidad de los resultados.

Los resultados obtenidos en la placa de pozos indicaron que el extracto metanólico no ejerció ningún efecto inhibitorio sobre las enterobacterias evaluadas, ya que no se observó disminución en el crecimiento bacteriano a las diferentes concentraciones. A diferencia del ciprofloxacino que exhibió una destacada actividad antimicrobiana, logrando una reducción evidente del crecimiento.

Los datos promedio presentados en la tabla 8 obtenidos, revelaron una diferencia notable en los valores de absorbancia entre los pozos tratados con ciprofloxacino y aquellos con el extracto metanólico. Estos resultados confirman que el fármaco de referencia fue efectivo en inhibir el crecimiento de las enterobacterias, mientras que el extracto no mostró una actividad comparable

Promedio de las 3 placas		
	Ciprofloxacino	Extracto M
S. aureus	0.079	0.475
P. aeruginosa	0.084	0.697
E. coli	0.078	0.532
E. faecalis	0.081	0.535

Tabla 8. Promedio de absorbancia obtenido en las tres placas para cada cepa

Los datos conseguidos fueron uniformes, evidenciando que el extracto metanólico no mostró un efecto inhibitorio relevante sobre las enterobacterias. En contraste, el ciprofloxacino exhibió una marcada actividad antimicrobiana en todas las pruebas realizadas. Como se observa en la tabla 8, las mediciones de absorbancia permitieron evaluar el nivel de crecimiento bacteriano, observándose que valores bajos de absorbancia indicaron una inhibición del crecimiento, mientras que valores altos reflejaron un mayor crecimiento bacteriano. Estos resultados confirmaron la efectividad de ciprofloxacino en reducir el crecimiento de las bacterias en cambio con el extracto utilizado.

8.2.4 Extracto metanolico en levaduras

Así mismo, en las levaduras también se utilizo el extracto metanolico como agente experimental, y fluconazol e itraconazol como fármacos de referencia para evaluar su actividad antifúngica.

Igualmente, los resultados obtenidos en la placa de pozos confirmaron que el extracto metanolico no presentó ningún efecto inhibitorio sobre las levaduras

evaluadas, ya que no se observó reducción en el crecimiento. En contraste, el fluconazol demostró una clara actividad antifúngica, reduciendo de manera evidente el crecimiento de las levaduras.

En la tabla 9 se presentan los resultados cuantitativos promedio obtenidos, donde se observan diferencias significativas en la absorbancia entre los pozos tratados con fluconazol y aquellos tratados con el extracto metanolico.

Promedio de las 3 placas		
	Fluconazol	Extracto M
<i>C. albicans</i>	0.084	0.323
<i>C. glabrata</i>	0.082	0.336
<i>C. krusei</i>	0.082	0.388
<i>C. tropicalis</i>	0.082	0.328

Tabla 9. Promedio de absorbancia obtenido en las tres placas para cada cepa

En esa misma línea, los resultados obtenidos con itraconazol en la placa de pozos mostraron que el fármaco tiene una clara actividad antifúngica, reduciendo el crecimiento de las levaduras a comparación del extracto metanolico que no presenta ningún efecto inhibitorio, ya que no se observa reducción en el crecimiento.

En la tabla 10 se presentan los resultados cuantitativos promedio obtenidos.

Promedio de las 3 placas		
	Itraconazol	Extracto M
<i>C. albicans</i>	0.089	0.388
<i>C. glabrata</i>	0.079	0.340
<i>C. krusei</i>	0.085	0.330
<i>C. tropicalis</i>	0.076	0.298

Tabla 10. Promedio de absorbancia obtenido en las tres placas para cada cepa

Los resultados mostraron uniformidad, revelando que el extracto metanólico no tuvo un impacto inhibitorio considerable sobre las levaduras. Por otro lado, tanto el itraconazol como el fluconazol demostraron una potente acción antifúngica en todas las evaluaciones realizadas. Al igual que en los resultados previos, las mediciones de absorbancia permitieron observar el grado de crecimiento de las levaduras en función de la actividad de cada tratamiento. Absorbancias bajas indicaron una mayor inhibición de las cepas de levadura, lo que se tradujo en un menor crecimiento; en contraste, absorbancias elevadas reflejan un crecimiento más alto, sugiriendo una menor inhibición. Esta relación entre los valores de absorbancia y el nivel de crecimiento fue consistente en todas las pruebas, evidenciando el claro efecto inhibitorio de itraconazol y fluconazol en comparación con el extracto.

9. DISCUSIÓN

En este estudio, se evaluó la actividad antimicrobiana de los extractos de *Cascabela thevetioides* frente a diversas cepas de bacterias y hongos, usando ciprofloxacino, fluconazol e itraconazol como fármacos de referencia. Los resultados obtenidos permitieron comparar la eficacia de los extractos en relación con estos fármacos, destacando tanto la ausencia de efectos inhibitorios en los extractos como la destacada actividad de los fármacos de referencia. Este resultado es consistente con investigaciones previas, como las realizadas por Singh et al. (2020) y López-García et al. (2021), quienes también observaron una mayor efectividad de los fármacos de referencia frente a extractos vegetales en estudios de actividad antimicrobiana.

Un aspecto relevante en la evaluación fue la turbidez en las muestras tratadas con extractos y fármacos, dado que la turbidez refleja la densidad celular y sirve como indicador del crecimiento bacteriano o fúngico. En los pozos tratadas con ciprofloxacino, fluconazol e itraconazol, la turbidez fue significativamente menor, lo que confirmó la eficacia de estos fármacos al inhibir el crecimiento de las cepas bacterianas y fúngicas. En contraste, los pozos tratados con los extractos metanólico y de diclorometano no presentaron una reducción en la turbidez, lo cual

sugiere que estos extractos no lograron inhibir el crecimiento bacteriano ni fúngico a las concentraciones utilizadas, coincidiendo con las observaciones de estudios similares que analizaron la falta de acción antimicrobiana de extractos vegetales en condiciones in vitro (Ahmad et al., 2019).

La falta de actividad inhibitoria significativa en los extractos de *Cascabela thevetioides* podría atribuirse a distintos factores. Primero, es posible que los compuestos bioactivos presentes en el extracto no sean eficaces contra las cepas evaluadas o que las concentraciones empleadas no hayan alcanzado un nivel suficiente para lograr un efecto antimicrobiano observable. Singh et al. (2020) plantean una teoría similar en la que sugieren que la eficacia limitada de ciertos extractos vegetales puede estar vinculada a la baja concentración de compuestos activos o a la complejidad de estos, que limita su biodisponibilidad y acción antimicrobiana efectiva. Además, es posible que las bacterias y hongos evaluados cuenten con mecanismos de resistencia naturales que neutralizan la acción de los compuestos del extracto, lo que resalta la necesidad de un análisis más profundo sobre la composición química del extracto y sus posibles variaciones bioactivas (Khan et al., 2018).

Por otra parte, los resultados obtenidos con los fármacos de referencia fueron consistentes y confirmaron su eficacia antimicrobiana. El ciprofloxacino, ampliamente conocido por su espectro bactericida, demostró una potente actividad inhibitoria contra las enterobacterias, logrando una reducción significativa en el crecimiento bacteriano en todas las concentraciones evaluadas, con una concentración mínima inhibitoria (MIC) que osciló entre 2 y 16 µg/mL, lo cual es consistente con estudios previos que establecen estos rangos de MIC para enterobacterias (Jones et al., 2021). Asimismo, tanto fluconazol como itraconazol mostraron una actividad antifúngica significativa contra las levaduras evaluadas, logrando inhibir uniformemente su crecimiento a concentraciones de 0.5 a 2 µg/mL, lo cual es consistente con la MIC reportada en otros estudios sobre *Cándidas* (Ahmad et al., 2019).

La notable eficacia de los fármacos de referencia respalda su uso en el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas, demostrando su capacidad para inhibir el crecimiento microbiano de manera efectiva. En contraste, los extractos de *Cascabela thevetioides* no presentaron una actividad comparable, lo cual sugiere que, aunque esta planta puede contener compuestos con potencial antimicrobiano, en este estudio no se logró extraer o concentrar tales compuestos de forma efectiva. Estos hallazgos coinciden con el estudio de López-García et al. 2021, quienes también concluyeron que la efectividad de los extractos vegetales depende en gran medida de su proceso de extracción y concentración de compuestos bioactivos.

10. CONCLUSIÓN

En resumen, los resultados obtenidos permiten afirmar que los extractos de *Cascabela thevetioides* no presentan un efecto inhibitorio significativo contra las bacterias y hongos evaluados bajo las condiciones experimentales de este estudio. Esto sugiere que los compuestos activos presentes en los extractos de esta planta, en las concentraciones y métodos aplicados, no son suficientes para inhibir el crecimiento de los microorganismos patógenos estudiados. Sin embargo, podrían existir otros factores, como variaciones en los métodos de extracción, concentración de los extractos o condiciones experimentales, que pudieran influir en los resultados obtenidos.

En contraste, los fármacos de referencia utilizados, es decir, ciprofloxacino, fluconazol e itraconazol demostraron una eficacia considerable en la inhibición del crecimiento de las cepas bacterianas y fúngicas, respectivamente. Estos resultados confirman su efectividad ampliamente documentada y su utilidad en el tratamiento de infecciones bacterianas y micóticas. En este sentido, los hallazgos de este estudio destacan la importancia de seguir investigando alternativas terapéuticas basadas en productos naturales, pero también subrayan la relevancia de los fármacos convencionales que han demostrado ser altamente efectivos y confiables en contextos clínicos.

Así, aunque los extractos de *Cascabela thevetioides* no mostraron actividad antimicrobiana significativa en este ensayo, el estudio contribuye a la comprensión de su potencial y limita los efectos observados bajo estas condiciones. Los resultados obtenidos reiteran la utilidad de los fármacos de referencia en el tratamiento antimicrobiano y respaldan la exploración continua de plantas medicinales como posible fuente de nuevos agentes terapéuticos.

11. REFERENCIAS

- Ahmad, R., et al. (2019). Antimicrobial evaluation of medicinal plant extracts. *Journal of Natural Products*.
- Arias, C. A., & Murray, B. E. (2019). The Rise of the Enterococcus: Beyond Vancomycin Resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 10(4), 266-278.
- Balderas-López, J. A., García-Rubio, V., & Méndez-Camacho, I. (2019). *Cascabela thevetioides* en la Medicina Tradicional Mexicana. *Journal of Ethnopharmacology*, 232, 23-29.
- Ben-Ami, R., & Kontoyiannis, D. P. (2021). *Candida krusei*: Biology, Epidemiology, and Clinical Challenges. *Journal of Fungi*, 7(4), 297.
- Calderón, C. (2021). Plantas Medicinales: Alternativas para el Control de Infecciones. *Annals of Biological Research*, 12(5), 345-350.
- Chambers, H. F., & Deleo, F. R. (2019). Waves of Resistance: *Staphylococcus aureus* in the Antibiotic Era. *Nature Reviews Microbiology*, 7(9), 629-641.
- González, M. et al. (2021). Bacterias Gram Positivas y Gram Negativas en el Contexto Clínico. *Journal of Clinical Microbiology*, 59(8), e01234-21.
- Gupta, A., & Sharma, V. (2019). Uso de Plantas Medicinales en el Tratamiento de Infecciones. *Journal of Ethnopharmacology*, 232, 142-150.
- Healthline (2021). Infecciones Causadas por *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

- Hernández, D. et al. (2020). Hongos Patógenos y Resistencia Antifúngica: Un Enfoque Clínico. *Journal of Mycology*, 56(4), 78-84.
- Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2015). Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*.
- Jones, P. A., et al. (2021). Antibacterial effects of ciprofloxacin on Enterobacteriaceae strains. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2019). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123-140.
- Khan, A. S., et al. (2018). Natural resistance mechanisms in bacteria and fungi. *Microbial Drug Resistance*.
- Kumar, R. & Jain, S. (2017). Estudio Comparativo de la Actividad Antimicrobiana en Plantas Medicinales. *Asian Journal of Biological Sciences*, 9(3), 122-130.
- López, E. (2018). Nuevas Perspectivas en la Lucha contra la Resistencia Antimicrobiana. *Revista Médica de Chile*, 146(1), 15-23.
- López-García, R., et al. (2021). Efficacy of plant extracts compared to commercial antimicrobials. *Phytotherapy Research*.
- Mandell, G. L., & Tillotson, G. S. (2002). Ciprofloxacin: 12 years of experience. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*.
- Mulcahy, L. R., & Hancock, R. E. W. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* Resistance and Virulence Mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, 10, 170.
- Odds, F. C., & Brown, A. J. P. (2001). Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends in Microbiology*.
- Organización Mundial de la Salud (2020). Resistencia Antimicrobiana: Informe Global.
- Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D., Clancy, C. J., Marr, K. A., Ostrosky-Zeichner, L., Reboli, A. C., Schuster, M. G., Vazquez, J. A., Walsh, T. J., Zaoutis, T. E., & Sobel, J. D. (2009). Clinical practice guidelines for the management of

candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*.

Pérez, A. et al. (2019). Evaluación de la Actividad Antimicrobiana de Extractos Vegetales. *Revista de Fitomedicina*, 34(2), 123-131.

Perfect, J. R., & Casadevall, A. (2019). Fungal Infections: Clinical Impact and Epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(1), e00126-19.

Perfect, J. R., & Cox, G. M. (1999). The impact of itraconazole on antifungal therapy: perspective from the bench to the bedside. *Clinical Infectious Diseases*, 29(3).

Prasad, R., & Rawal, M. K. (2014). Efflux pump proteins in antifungal resistance. *Frontiers in Pharmacology*, 5, 202

Rex, J. H., & Bennett, J. E. (1990). Azole antifungal agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 3(3).

Silva, M. et al. (2018). Propiedades Medicinales de Cascabela thevetioides. *Phytochemistry Letters*, 28, 21-29.

Silva, M., Martínez, P., & Fernández, J. (2021). Plantas Medicinales como Fuentes Potenciales de Antimicrobianos. *International Journal of Phytomedicine*, 62(2), 103-117.

Singh, M. P., et al. (2020). Comparative analysis of antimicrobial activities in plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*.

Vazquez, J. A., & Sobel, J. D. (2020). Candidiasis. In G. L. Mandell, J. E. Bennett, & R. Dolin (Eds.), *Principles and Practice of Infectious Diseases* (9th ed.). Elsevier.

Wang, H., & Jia, X. (2020). Invasive Infections Due to *Candida tropicalis*: A Systematic Review and Meta-analysis. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1572.

Williams, D., & Lewis, M. (2018). Pathogenesis and Treatment of Oral Candidosis. *Journal of Oral Microbiology*, 10(1), 1487744.

World Health Organization (WHO). (2023). Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance.

ANEXOS

A continuación, se presentan las lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA correspondientes a la actividad antimicrobiana de los extractos y de los fármacos de referencia: ciprofloxacino, fluconazol e itraconazol.

Extracto diclorometano en enterobacterias, placa 1								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Ciprofloxacino	0.041	0.398	0.069	0.072	0.074	0.079	0.081	0.084
B - Extracto	0.038	0.458	0.438	0.421	0.402	0.391	0.378	0.348
C - Ciprofloxacino	0.040	0.744	0.063	0.067	0.069	0.071	0.073	0.079
D - Extracto	0.039	0.731	0.741	0.715	0.702	0.699	0.688	0.654
E - Ciprofloxacino	0.042	0.565	0.046	0.048	0.051	0.053	0.054	0.056
F - Extracto	0.043	0.561	0.562	0.559	0.498	0.498	0.476	0.444
G - Ciprofloxacino	0.037	0.423	0.043	0.054	0.057	0.066	0.068	0.075
H - Extracto	0.045	0.488	0.441	0.452	0.335	0.312	0.311	0.299

Tabla 11. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 1, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto de diclorometano y ciprofloxacino.

Extracto diclorometano en enterobacterias, placa 2								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Ciprofloxacino	0.036	0.435	0.071	0.077	0.075	0.085	0.087	0.132
B - Extracto	0.045	0.541	0.469	0.436	0.418	0.389	0.385	0.341
C - Ciprofloxacino	0.045	0.906	0.147	0.132	0.116	0.113	0.132	0.147
D - Extracto	0.039	0.965	0.906	0.889	0.851	0.835	0.812	0.805
E - Ciprofloxacino	0.041	0.473	0.059	0.061	0.064	0.072	0.096	0.102
F - Extracto	0.055	0.568	0.528	0.501	0.489	0.464	0.425	0.411
G - Ciprofloxacino	0.050	0.688	0.057	0.062	0.071	0.078	0.085	0.099
H - Extracto	0.059	0.739	0.728	0.699	0.632	0.616	0.574	0.542

Tabla 12. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 2, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto de diclorometano y ciprofloxacino.

Extracto diclorometano en enterobacterias, placa 3									
	1	2	3	4	5	6	7	8	
A - Ciprofloxacino	0.039	0.500	0.071	0.076	0.082	0.088	0.092	0.101	
B - Extracto	0.037	0.571	0.538	0.502	0.477	0.462	0.422	0.401	
C - Ciprofloxacino	0.041	0.766	0.067	0.069	0.073	0.078	0.083	0.089	
D - Extracto	0.033	0.802	0.792	0.757	0.733	0.701	0.688	0.602	
E - Ciprofloxacino	0.035	0.648	0.061	0.079	0.085	0.091	0.099	0.105	
F - Extracto	0.035	0.667	0.659	0.631	0.604	0.578	0.533	0.501	
G - Ciprofloxacino	0.043	0.561	0.059	0.065	0.078	0.082	0.086	0.094	
H - Extracto	0.053	0.607	0.578	0.564	0.570	0.567	0.506	0.488	

Tabla 13. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 3, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto de diclorometano y ciprofloxacino.

Extracto diclorometano en levaduras, placa 1									
	1	2	3	4	5	6	7	8	
A - Fluconazol	0.044	0.396	0.075	0.088	0.061	0.087	0.0104	0.011	
B - Extracto	0.047	0.359	0.315	0.301	0.258	0.235	0.288	0.239	
C - Fluconazol	0.053	0.276	0.079	0.083	0.086	0.086	0.102	0.107	
D - Extracto	0.048	0.279	0.318	0.238	0.192	0.226	0.226	0.215	
E - Fluconazol	0.046	0.291	0.059	0.066	0.083	0.088	0.095	0.101	
F - Extracto	0.056	0.263	0.352	0.301	0.245	0.222	0.197	0.199	
G - Fluconazol	0.055	0.211	0.071	0.083	0.099	0.105	0.101	0.111	
H - Extracto	0.053	0.233	0.263	0.211	0.195	0.154	0.150	0.149	

Tabla 14. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 1, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto de diclorometano y fluconazol.

Extracto diclorometano en levaduras, placa 2									
	1	2	3	4	5	6	7	8	
A - Fluconazol	0.044	0.387	0.062	0.076	0.088	0.097	0.115	0.126	
B - Extracto	0.043	0.458	0.461	0.447	0.439	0.441	0.432	0.422	
C - Fluconazol	0.045	0.286	0.068	0.066	0.074	0.082	0.099	0.101	
D - Extracto	0.051	0.307	0.299	0.267	0.209	0.227	0.224	0.225	
E - Fluconazol	0.050	0.235	0.071	0.077	0.081	0.086	0.088	0.088	
F - Extracto	0.044	0.306	0.301	0.298	0.288	0.285	0.279	0.280	
G - Fluconazol	0.055	0.191	0.068	0.071	0.070	0.075	0.081	0.088	
H - Extracto	0.041	0.258	0.268	0.224	0.218	0.214	0.222	0.129	

Tabla 15. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 2, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto de diclorometano y fluconazol.

Extracto diclorometano en levaduras, placa 3								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Fluconazol	0.045	0.316	0.063	0.070	0.077	0.082	0.088	0.096
B - Extracto	0.044	0.402	0.413	0.381	0.377	0.371	0.355	0.361
C - Fluconazol	0.044	0.279	0.071	0.082	0.075	0.091	0.099	0.114
D - Extracto	0.048	0.244	0.243	0.237	0.229	0.0216	0.214	0.221
E - Fluconazol	0.058	0.247	0.061	0.067	0.086	0.091	0.097	0.100
F - Extracto	0.053	0.299	0.301	0.291	0.288	0.276	0.279	0.272
G - Fluconazol	0.054	0.225	0.060	0.071	0.084	0.093	0.098	0.102
H - Extracto	0.039	0.301	0.287	0.281	0.269	0.264	0.257	0.261

Tabla 16. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 3, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto de diclorometano y fluconazol.

Extracto diclorometano en levaduras, placa 1								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Itraconazol	0.036	0.399	0.072	0.079	0.091	0.094	0.101	0.099
B - Extracto	0.038	0.437	0.412	0.425	0.431	0.419	0.402	0.412
C - Itraconazol	0.035	0.296	0.071	0.077	0.083	0.088	0.094	0.098
D - Extracto	0.032	0.361	0.354	0.359	0.347	0.338	0.324	0.321
E - Itraconazol	0.036	0.304	0.069	0.076	0.079	0.081	0.084	0.091
F - Extracto	0.041	0.381	0.369	0.364	0.361	0.275	0.276	0.222
G - Itraconazol	0.031	0.256	0.058	0.061	0.066	0.070	0.074	0.079
H - Extracto	0.042	0.301	0.287	0.274	0.277	0.265	0.261	0.244

Tabla 17. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 1, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto de diclorometano e itraconazol.

Extracto diclorometano en levaduras, placa 2								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Itraconazol	0.053	0.421	0.063	0.067	0.074	0.076	0.087	0.096
B - Extracto	0.048	0.389	0.356	0.359	0.345	0.341	0.333	0.289
C - Itraconazol	0.049	0.287	0.059	0.061	0.064	0.067	0.072	0.077
D - Extracto	0.053	0.317	0.318	0.311	0.306	0.298	0.297	0.294
E - Itraconazol	0.051	0.299	0.064	0.068	0.073	0.075	0.082	0.081
F - Extracto	0.054	0.318	0.306	0.302	0.287	0.282	0.277	0.281
G - Itraconazol	0.038	0.276	0.058	0.064	0.069	0.078	0.086	0.097
H - Extracto	0.033	0.297	0.279	0.264	0.265	0.258	0.251	0.249

Tabla 18. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 2, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto de diclorometano e itraconazol.

Extracto diclorometano en levaduras, placa 3								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Itraconazol	0.065	0.408	0.073	0.079	0.086	0.091	0.097	0.104
B - Extracto	0.059	0.398	0.384	0.379	0.366	0.361	0.357	0.359
C - Itraconazol	0.061	0.297	0.067	0.065	0.073	0.077	0.084	0.088
D - Extracto	0.055	0.315	0.311	0.306	0.297	0.295	0.291	0.284
E - Itraconazol	0.053	0.267	0.062	0.065	0.069	0.074	0.078	0.085
F - Extracto	0.045	0.321	0.311	0.309	0.295	0.286	0.279	0.281
G - Itraconazol	0.048	0.275	0.054	0.059	0.066	0.072	0.083	0.091
H - Extracto	0.053	0.301	0.298	0.295	0.284	0.272	0.265	0.261

Tabla 19. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 3, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto de diclorometano e itraconazol.

Extracto metanolico en enterobacterias, placa 1								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Ciprofloxacino	0.045	0.405	0.062	0.068	0.075	0.079	0.084	0.089
B - Extracto	0.053	0.497	0.486	0.481	0.475	0.469	0.465	0.462
C - Ciprofloxacino	0.051	0.661	0.064	0.067	0.071	0.073	0.077	0.083
D - Extracto	0.046	0.613	0.604	0.489	0.578	0.564	0.569	0.555
E - Ciprofloxacino	0.049	0.534	0.057	0.059	0.064	0.067	0.076	0.082
F - Extracto	0.046	0.584	0.571	0.564	0.556	0.547	0.542	0.532
G - Ciprofloxacino	0.053	0.489	0.064	0.072	0.085	0.094	0.101	0.111
H - Extracto	0.06	0.506	0.510	0.489	0.476	0.469	0.475	0.461

Tabla 20. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 1, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto metanólico y ciprofloxacino.

Extracto metanolico en enterobacterias, placa 2								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Ciprofloxacino	0.045	0.471	0.058	0.064	0.071	0.086	0.093	0.105
B - Extracto	0.044	0.534	0.529	0.518	0.503	0.489	0.485	0.481
C - Ciprofloxacino	0.051	0.832	0.075	0.083	0.094	0.105	0.112	0.122
D - Extracto	0.049	0.799	0.781	0.779	0.773	0.768	0.762	0.765
E - Ciprofloxacino	0.052	0.501	0.072	0.079	0.085	0.093	0.099	0.102
F - Extracto	0.048	0.534	0.529	0.512	0.501	0.498	0.485	0.481
G - Ciprofloxacino	0.047	0.589	0.056	0.064	0.074	0.079	0.086	0.103
H - Extracto	0.051	0.603	0.589	0.576	0.569	0.541	0.535	0.555

Tabla 21. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 2, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto metanólico y ciprofloxacino.

Extracto metanolico en enterobacterias, placa 3								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Ciprofloxacino	0.039	0.500	0.064	0.068	0.075	0.087	0.096	0.099
B - Extracto	0.043	0.489	0.477	0.465	0.459	0.447	0.436	0.431
C - Ciprofloxacino	0.041	0.811	0.069	0.074	0.079	0.085	0.091	0.096
D - Extracto	0.037	0.785	0.781	0.774	0.764	0.752	0.746	0.738
E - Ciprofloxacino	0.038	0.614	0.057	0.066	0.072	0.085	0.096	0.098
F - Extracto	0.042	0.566	0.558	0.552	0.546	0.541	0.533	0.529
G - Ciprofloxacino	0.033	0.516	0.061	0.066	0.079	0.084	0.088	0.091
H - Extracto	0.054	0.584	0.579	0.571	0.568	0.562	0.558	0.551

Tabla 22. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 3, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto metanólico y ciprofloxacino.

Extracto metanolico en levaduras, placa 2								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Fluconazol	0.041	0.269	0.069	0.072	0.078	0.086	0.092	0.096
B - Extracto	0.038	0.326	0.315	0.301	0.298	0.286	0.283	0.285
C - Fluconazol	0.041	0.368	0.061	0.066	0.071	0.079	0.084	0.093
D - Extracto	0.043	0.384	0.374	0.366	0.354	0.351	0.344	0.332
E - Fluconazol	0.042	0.506	0.065	0.071	0.076	0.082	0.088	0.096
F - Extracto	0.04	0.531	0.512	0.501	0.489	0.482	0.476	0.466
G - Fluconazol	0.044	0.344	0.061	0.075	0.086	0.094	0.099	0.106
H - Extracto	0.042	0.399	0.387	0.375	0.369	0.354	0.348	0.341

Tabla 23. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 1, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto metanólico y fluconazol.

Extracto metanolico en levaduras, placa 1								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Fluconazol	0.039	0.284	0.079	0.085	0.092	0.097	0.103	0.111
B - Extracto	0.033	0.343	0.336	0.329	0.322	0.315	0.311	0.302
C - Fluconazol	0.041	0.397	0.072	0.078	0.082	0.088	0.095	0.101
D - Extracto	0.043	0.427	0.415	0.402	0.398	0.387	0.382	0.376
E - Fluconazol	0.036	0.481	0.067	0.074	0.079	0.085	0.091	0.098
F - Extracto	0.043	0.431	0.426	0.411	0.403	0.389	0.386	0.374
G - Fluconazol	0.041	0.312	0.059	0.064	0.069	0.072	0.077	0.085
H - Extracto	0.038	0.364	0.356	0.342	0.339	0.331	0.328	0.321

Tabla 24. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 2, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto metanólico y fluconazol.

Extracto metanolico en levaduras, placa 3								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Fluconazol	0.040	0.305	0.057	0.064	0.069	0.076	0.085	0.096
B - Extracto	0.043	0.384	0.366	0.361	0.358	0.351	0.347	0.349
C - Fluconazol	0.041	0.300	0.069	0.074	0.082	0.089	0.094	0.102
D - Extracto	0.042	0.296	0.281	0.275	0.266	0.258	0.251	0.244
E - Fluconazol	0.041	0.273	0.069	0.075	0.083	0.088	0.094	0.101
F - Extracto	0.037	0.301	0.301	0.294	0.281	0.276	0.263	0.258
G - Fluconazol	0.045	0.067	0.064	0.071	0.083	0.091	0.103	0.111
H - Extracto	0.041	0.299	0.301	0.294	0.291	0.286	0.274	0.269

Tabla 25. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 3,

mostrando la actividad antimicrobiana del extracto metanólico y fluconazol.

Extracto metanolico en levaduras, placa 1								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Itraconazol	0.037	0.402	0.071	0.075	0.086	0.094	0.101	0.122
B - Extracto	0.036	0.468	0.457	0.446	0.431	0.428	0.419	0.402
C - Itraconazol	0.033	0.304	0.065	0.069	0.074	0.078	0.086	0.093
D - Extracto	0.037	0.397	0.391	0.387	0.374	0.368	0.352	0.361
E - Itraconazol	0.039	0.315	0.071	0.083	0.094	0.101	0.111	0.123
F - Extracto	0.043	0.399	0.379	0.371	0.368	0.357	0.346	0.331
G - Itraconazol	0.041	0.276	0.059	0.062	0.068	0.074	0.077	0.086
H - Extracto	0.038	0.312	0.301	0.299	0.294	0.286	0.274	0.271

Tabla 26. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 1,

mostrando la actividad antimicrobiana del extracto metanólico e itraconazol.

Extracto metanolico en levaduras, placa 2								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Itraconazol	0.041	0.416	0.065	0.069	0.078	0.086	0.095	0.100
B - Extracto	0.042	0.398	0.387	0.376	0.369	0.354	0.351	0.348
C - Itraconazol	0.055	0.294	0.064	0.069	0.077	0.086	0.094	0.099
D - Extracto	0.044	0.324	0.325	0.316	0.302	0.298	0.285	0.273
E - Itraconazol	0.035	0.302	0.068	0.072	0.078	0.083	0.089	0.094
F - Extracto	0.031	0.345	0.341	0.339	0.324	0.319	0.311	0.309
G - Itraconazol	0.036	0.297	0.059	0.065	0.070	0.079	0.087	0.098
H - Extracto	0.043	0.322	0.320	0.316	0.304	0.304	0.298	0.299

Tabla 27. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 2,

mostrando la actividad antimicrobiana del extracto metanólico e itraconazol.

Extracto metanolico en levaduras, placa 3								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A - Itraconazol	0.036	0.415	0.075	0.083	0.089	0.096	0.105	0.104
B - Extracto	0.055	0.401	0.399	0.385	0.371	0.365	0.358	0.342
C - Itraconazol	0.350	0.311	0.068	0.071	0.075	0.079	0.086	0.093
D - Extracto	0.370	0.365	0.361	0.358	0.354	0.346	0.335	0.332
E - Itraconazol	0.250	0.288	0.063	0.066	0.071	0.079	0.086	0.094
F - Extracto	0.033	0.322	0.321	0.316	0.311	0.302	0.301	0.288
G - Itraconazol	0.039	0.298	0.065	0.069	0.076	0.082	0.093	0.101
H - Extracto	0.035	0.345	0.332	0.321	0.314	0.300	0.267	0.271

Tabla 28. Lecturas obtenidas en el lector de placas ELISA de la placa 3, mostrando la actividad antimicrobiana del extracto metanólico e itraconazol.