

# FACS Salud

## UNEMI

Revista de la Facultad Ciencias de la Salud de la Universidad Estatal de Milagro  
Milagro, Ecuador

2

Volumen 2, N° 2

Junio 2018 - Noviembre 2018

Indexada en:



[ojs.unemi.edu.ec](http://ojs.unemi.edu.ec)



UNIVERSIDAD  
ESTATAL DE MILAGRO  
**UNEMI**  
*Evolución Académica*

## Departamento de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación

Ing. Fabricio Guevara Viejo, PhD.  
**Rector**

Ing. Richard Ramírez Anormaliza, PhD.  
**Vicerrector Académico y de Investigación**

Ing. Washington Guevara Piedra, MSc.  
**Vicerrector Administrativo**

Lcda. Diana Pincay Cantillo  
**Secretaria General**

Ing. Mayra D'Armas Regnault, PhD.  
**Director del Departamento de Investigación,  
Desarrollo Tecnológico e Innovación**

Segundo Número Vol. 2  
**ISSN Electrónico 26028360**

**Indexada en: Google Scholar**  
**Junio- Noviembre , 2018**  
**Milagro – Ecuador**

**Revista FACS Salud UNEMI**

Ana Paola Echavarría V, PhD.  
**Directora Revista FACS Salud UNEMI**

Oskary Zambrano, PhD.  
**Revisor de Estilo**

Mirtha Manzano Díaz, PhD.  
Haydelba D'Armas R, PhD.  
**Revisores de Traducción**

Lic. José Flores Moran  
**Arte y Diagramación**

Ing. Ruth Farías Lema  
Ing. Pedro Noboa Romero  
**Gestor Técnico**

Lic. Víctor Cabezas  
**Director de Comunicación Institucional UNEMI**

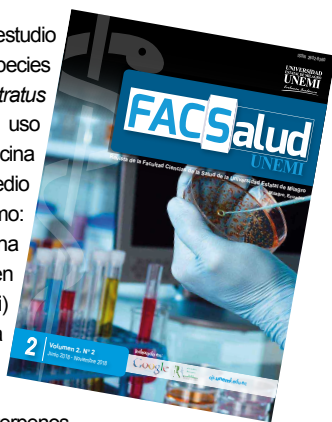
Nuestra Portada:

La Revista FACS Salud UNEMI, es una publicación de la Unidad Académica de Ciencias de la Salud (FACS), de la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI), Ecuador. Es una revista científica arbitrada, de publicación semestral dirigida a la población universitaria, que publica principalmente trabajos originales de investigación científica, estudios de casos, ensayos y comunicaciones breves en las áreas relacionadas con la Salud Humana: Biotecnología, Enfermería, Medicina Ancestral, Microbiología, Nutrición, Salud Pública, Tecnología de Alimentos, Terapia Respiratoria, y áreas afines a la salud.

Se autoriza la reproducción total o parcial de los artículos, siempre y cuando se cite su procedencia. Las opiniones de los autores son de su exclusiva responsabilidad y la revista no se solidariza con doctrinas, ideas o pensamientos expresados en ellos.

Solicitudes, comentarios y sugerencias favor dirigirse a: Universidad Estatal de Milagro, Departamento de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación, Revista FACS Salud UNEMI. km 1.5, vía Milagro a Parroquia Virgen de Fátima. O comunicarse por + 593 04 2715081 Ext. 5201. Dirección electrónica: [facsalud@unemi.edu.ec](mailto:facsalud@unemi.edu.ec)

Vélez *et al*, realizaron un estudio de los extractos de las especies vegetales *Cymbopogon citratus* y *Melissa officinalis*, de uso tradicional en la medicina popular ecuatoriana, por medio de ensayos biológicos como: actividad antimicrobiana (antibiograma: difusión en agar en placas de Petri) y letalidad con *Artemia salina*. Los cuáles revelaron la presencia de esteroides insaturados, triterpenos pentacíclicos, fenilpropanoides y catequinas. Las hojas de las plantas estudiadas exhibieron un efecto antibacteriano y antifúngico significativo contra las cepas de bacterias Gram (+), Gram (-) y hongo ensayado (*C. albicans*) respectivamente. Algunos de los metabolitos secundarios detectados en los extractos, constituyen una fuente promisoriosa de compuestos químicos de interés farmacológico (antimicrobianos y citotóxicos).



## Contenido

Vol. 2, Nº 2, Junio – Noviembre 2018

**5** Comité de Evaluadores

**6** Editorial

### MICROBIOLOGÍA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**7** Contaminación fúngica toxigénica de las bebidas a base de cacao: una posible preocupación de salud pública en un país tropical

Chinwe-Christy Isitua; Isaiah-Nnanna Ibeh; Tony- Ifeanyi Ojezeh

**13** Caracterización físico-química de una mezcla de *Cucumis sativus L.* y *Aloysia triphylla* (Cedrón) con propiedades nutracéuticas

Angélica Paucar; Nubia-Lisbeth Matute; Ana-Paola Echavarría

**19** Evaluación antibacteriana y perfil cromatográfico (CG-EM) de fracciones de hojas y tallo de *Calotropis procera* (Linn)

Oluwakemi-Sola Asoso; Muftau-Kolawole Oladunmoye; Ayodele Olujemisi Ogundare

**26** Liberación de iones sodio y potasio en extracto de *Calotropis procera* Linn en determinados microorganismos patógenos

Oluwakemi-Sola Asoso; M.K Oladunmoye; A.O. Ogundare

**31** Metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de las hojas de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil)

Ruth Vélez; Haydelba D'Armas; Carmita Jaramillo-Jaramillo; Elington Vélez.

**40** Producción de bioetanol a partir de cáscaras de yuca (*Manihot esculenta*)

Chinwe-Christy Isitua; Scholastica-Onyebuchi Anadozie; Isaiah-Nnanna Ibeh

### SALUD PÚBLICA

**46** Consecuencias clínicas del uso de biopolímeros como prácticas de auto-atención en el proceso de transformación corporal en personas transexuales

Angie Ripalda; Adrián Loja; Lilian Víctor; Pedro Herrera; Pedro J. Freitas

**53** Malformación Adenomatosa del pulmón. Reporte de casos y revisión de la literatura

Amaralis Trull; Katuska Mederos-Mollineda; Liliam Escariz-Borrego; Jorge-Alberto Díaz-Rodríguez; Víctor Chávez-Guerra

**61** Proceso de atención de enfermería en un paciente post-operado de corrección total de Tetralogía de Fallot. Reporte de Caso y Revisión de la Literatura

Katty Almache; Elicia Agurto; Carol Moreta; Johanna Riccardi; Katherine Vera; Alicia Cercado

**68** Normas de Publicación

- 5** Evaluating Committee
- 6** Editorial
- 7** **MICROBIOLOGY AND FOOD TECHNOLOGY**  
**Toxicogenic fungal contamination of cocoa-based beverages: A possible public health concern in a tropical country**  
Chinwe-Christy Isitua; Isaiah-Nnanna Ibeh; Tony- Ifeanyi Ojjezeh
- 13** **Physico-chemical characterization of mixtures *Cucumis sativus L.* and *Aloysia triphylla* (Cedrón) with nutraceuticals properties.**  
Angélica Paucar; Nubia-Lisbeth Matute; Ana-Paola Echavarría
- 19** **Antibacterial screening and GC-MS profile of leave and stem fractions of *Calotropis procera* (Linn)**  
Oluwakemi-Sola Asoso; Muftau-Kolawole Oladunmoye; Ayodele Olujemisi Ogundare
- 26** **Release of sodium and potassium ions of *Calotropis procera* extract on selected pathogenic organisms**  
Oluwakemi-Sola Asoso; M.K Oladunmoye; A.O. Ogundare
- 31** **Secondary metabolites, antibacterial activity and lethality of *Cymbopogon citratus* (lemon verbena) and *Melissa officinalis* (lemon balm)**  
Ruth Vélez; Haydelba D'Armas; Carmita Jaramillo-Jaramillo; Elington Vélez
- 40** **Bioethanol production from cassava (*Manihot esculenta*) peels**  
Chinwe-Christy Isitua; Scholastica-Onyebuchi Anadozie; Isaiah-Nnanna Ibeh
- PUBLIC HEALTH**
- 46** **Clinical consequences of the use of biopolymers as self-attention practices in the process of body transformation in transsexual persons**  
Angie Ripalda; Adrián Loja; Lilian Víctor; Pedro Herrera; Pedro J. Freitas
- 53** **Adenomatoid malformation of de lung. Cases report and review of literature**  
Amaralis Trull; Katuska Mederos-Mollineda; Liliam Escariz-Borrego; Jorge-Alberto Díaz-Rodríguez; Víctor Chávez-Guerra
- 61** **Process of nursing care in a post-operative patient of complete correction of Tetralogy of Fallot. Case study and literature review**  
Katy Almache; Elicia Agurto; Carol Moreta; Johanna Riccardi; Katherine Vera; Alicia Cercado
- 68** **Guidelines for Publishing**

## Comité Editorial

**Ana Paola Echavarría V. PhD**  
 Universidad Estatal de Milagro,  
 UNEMI  
 aechavarriv@unemi.edu.ec  
 Milagro, Ecuador

**Alicia G. Cercado M. PhD**  
 Universidad Estatal de Milagro,  
 UNEMI  
 acercadom@unemi.edu.ec  
 Milagro, Ecuador

**Lizan G. Ayol P. MSc**  
 Universidad Estatal de Milagro,  
 UNEMI  
 layolp@unemi.edu.ec  
 Milagro, Ecuador

**Delma Veron. PhD**  
 Universidad de Buenos Aires  
 delveron@gmail.com  
 Buenos Aires, Argentina

**Jordi Pagán G. PhD**  
 Universidad de Lleida  
 jpagan@udl.edu.ca  
 Lleida, España

**Ricardo Benítez B. PhD**  
 Universidad del Cauca  
 rbenitez4@hotmail.com  
 Popayán, Colombia

**Haydelba D'Armas R. PhD**  
 Universidad de Oriente  
 hdarmasr@gmail.com  
 Cumaná, Venezuela

**Carmen Almaguer R. MSc**  
 Instituto Superior de Ciencias  
 Médicas  
 Universidad de Ciencias Médicas  
 de Camagüey  
 car.cmw@informed.sld.cu  
 Camagüey, Cuba

## Comité de Evaluadores Externos

**Dra. Isoled del Valle Herrera P.**  
 PhD en Ciencias de la Educación  
 Docente Investigador  
 Universidad Nacional Experimental de los  
 Llanos Rómulo Gallegos  
 Mérida, Venezuela

**Dr. Angel Eladio Caballero T.**  
 PhD Doctor en Ciencias Medicas  
 Doctor en Medicina Veterinaria  
 Docente Investigador  
 Universidad Tecnica de Manabi  
 drangelcaballerotorres@gmail.com  
 Manabi, Ecuador

**Máster Nubia Lisbeth Matute.**  
 Ingeniera en Alimentos  
 Master en Ingeniería Alimentaria  
 Docente Investigador  
 Universidad Técnica de Machala  
 nmatute@utmachala.edu.ec  
 Machala, Ecuador

**Dra. Yumy Estela Fernandez V.**  
 MSc. Salud Pública  
 Doctora en Medicina General  
 Hospital Liborio Panchana Sotomayor  
 yumy.fernandezv@gmail.com  
 Santa Elena, Ecuador

**Dra. María Jose D'Armas R.**  
 Especialista en Neurología  
 Doctora Cirujano General  
 Hospital Santos Anibal Dominici  
 mariajosedarmasr@yahoo.es  
 Carúpano, Venezuela

**Dr. Raúl Siche Jara.**  
 PhD en Ingeniería de Alimentos  
 State University of Campinas  
 UNICAMP (Brazil).  
 Docente Investigador  
 Universidad Nacional de Trujillo  
 rsiche@unitru.edu.pe  
 Trujillo, Perú

**Dra. Carmen Gonzalez A.**  
 Especialista Primer Grado en Pediatría  
 Master en Atención Integral al Niño  
 Doctora en Medicina  
 Universidad de Ciencias Médicas de  
 Camagüey  
 carmenmaricarmen@gmail.com  
 Camaguey, Cuba

**Dra. Chinwe Christy Isitua.**  
**PhD en Microbiología**  
 Docente Investigador  
 Afe Babalola University Nigeria  
 christykings@yahoo.com  
 Nigeria, Africa

**E**n el lanzamiento de este segundo número de la revista electrónica FACSalud, nos complace hacer notar la diversificación en la procedencia de los trabajos recibidos y publicados en estos dos volúmenes. Si bien la mayoría de artículos provienen de las regiones del país donde se concentran los grupos de investigación, hay un creciente interés y participación de otras regiones. Así mismo, colaboración de investigadores del exterior donde se refleja en los artículos recibidos de Cuba, Nigeria (África Occidental) y Venezuela.

Siendo el análisis microbiológico aplicado a la Biotecnológica, Tecnología de Alimentos y la Salud Pública, los ejes centrales de este número, con diversos temas de importancia en las áreas de Investigación mencionadas a continuación:

En el área de Microbiología se destaca el trabajo realizado por Isitua *et al.*, donde hacen referencia a la preocupación a nivel mundial que ha generado el cambio climático y el aumento en los precios de productos derivados del petróleo, por lo cual han buscado alternativas como lo es el bioetanol, produciendo y analizando el etanol a partir de almidón de yuca (*Manihot esculenta*), como fuente de carbono. Asoso *et al.*, participan con una investigación sobre la evaluación antibacteriana y perfil cromatográfico (CG-EM) de fracciones de hojas y tallo de *Calotropis procera* (Linn), este trabajo está relacionado con la medicina tradicional, también conocida como medicina ancestral o popular, que comprende sistemas de conocimientos que se desarrollaron a lo largo de generaciones dentro de varias sociedades antes de la era de la medicina moderna.

Otro de sus trabajos (Asoso *et al.*) es la liberación de iones de sodio y potasio en extracto de *Calotropis procera* Linn en determinados microorganismos patógenos.

Continuando con el análisis de plantas medicinales

tenemos a Vélez *et al.*, con el trabajo de Metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de las hojas de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil).

En el área de Tecnología de Alimentos el trabajo de Paucar *et al.* Hace referencia a la Caracterización físico química de una mezcla de *Cucumis sativus* L. y *Aloysia triphylla* (Cedrón) con propiedades nutraceuticas.

En Salud Pública, los médicos y enfermeros investigadores han presentado casos relacionados con la malformación adenomatoidea del pulmón (Trull *et al.*), proceso de atención de enfermería en un paciente post-operado de corrección total de Tetralogía de Fallot. (Almache *et al.*) y un estudio realizado en una comunidad ecuatoriana donde Ripalda *et al.* tratan las consecuencias clínicas del uso de biopolímeros como prácticas de auto-atención en el proceso de transformación corporal en personas transexuales.

La Revista FACSalud tiene como objetivo ser un medio de difusión y divulgación de la investigación académica original en el campo de la Salud Humana. Con el fin de divulgar la producción científica y académica que se genera en la formación de pregrado y postgrado de las carreras de la Facultad de Salud; así como reflejar la situación actual de la investigación, innovación y docencia, tanto en las áreas básicas y clínicas como de los laboratorios especializados.

Hacia adelante el reto y nuestro compromiso editorial es consolidar la calidad de la revista y ampliar su visibilidad nacional e internacional. La Revista electrónica Facsalud puede plantearse estos retos gracias al apoyo que ha permitido su existencia. Es el momento de agradecer a Unidad Académica Ciencias de la Salud (FACS), de la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI), Ecuador.

**Ana Paola Echavarría V. PhD.**  
Directora Revista FACSalud UNEMI

## Toxigenic fungal contamination of cocoa-based beverages: A possible public health concern in a tropical country

**Chinwe-Christy, Isitua<sup>1</sup>; Isaiah-Nnanna, Ibeh<sup>2</sup>; Tony- Ifeanyi, Ojiezeh<sup>3</sup>**  
(Recibido: Febrero - 2018, Aceptado: Marzo - 2018)

<sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Microbiology Unit, College of Sciences, Afe Babalola University Ado-Ekiti, KM 8.5, Afe Babalola Way, P.M.B. 5454, Ekiti State, Nigeria. Email:christyking@yahoo.com, isituacc@abuad.edu.ng

<sup>2</sup>Department of Medical Laboratory Sciences, School of Basic Medical Sciences, College of Medicine, University of Benin, P.M.B. 1154, Benin City, Edo State, Nigeria.

<sup>3</sup>Department of Medical Laboratory Sciences, College of Medical and Health Sciences, Afe Babalola University Ado-Ekiti, KM 8.5, Afe Babalola Way, P.M.B. 5454, Ekiti State, Nigeria

### Abstract

Food safety is a call for concern nowadays. Food borne disease and microbial spoilage of food result from the failure of or inability to control microorganisms at one or more stages of food chain, from raw material production to consumption of the final product. This study was undertaken to screen some cocoa-based beverages sold in Nigeria in order to ascertain the mycological and aflatoxin status of such foods. Seventy-nine (79) samples of different brand of cocoa beverages collected from different markets in Benin City, Nigeria was evaluated by estimating the fungal load; using standard plate count method, and aflatoxin B1 (AFB1) level by immunoaffinity silica gel column extraction and thin layer chromatography with spectrophotometric detection. Colonies of mould isolated from the samples were identified by standard mycological methods as *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Aspergillus fumigatus*. Zamis beverage sample recorded the highest fungal count of 5500 cfu/g, AFB1 level of  $40.6 \pm 3.2$  µg/kg and moisture content of 4.00%; while Peak beverage sample recorded the least fungal count of 500 cfu/g, AFB1 level of  $5.3 \pm 2.5$  µg/kg and 1.00% moisture content. AFB1 was not detected in Ovaltine and Benco beverage samples. The most frequent genera of moulds in all samples was *A. flavus*, having an incidence of 63.3%. Sachet cocoa-based beverages sold in Benin metropolis carry potential health hazard. Thus, improved handling through food processing, preservation and storage can minimize aflatoxins in foodstuffs and ensure sustainable quality of food supply. This findings suggest needs for urgent attention to the possible public health implications.

**Keywords:** Aflatoxin B1; cocoa beverages; moulds; Public health.

## Contaminación fúngica toxigénica de las bebidas a base de cacao: una posible preocupación de salud pública en un país tropical

### Resumen

Las enfermedades transmitidas por los alimentos y su deterioro microbiano son el resultado de la incapacidad de regular o controlar los microorganismos en una o más etapas de la cadena alimentaria, desde la producción de la materia prima hasta el consumo del producto final. Este estudio se realizó para detectar algunas bebidas a base de cacao que se venden en Nigeria, con el fin de determinar el estado micológico y aflatoxínico de dichos alimentos. Setenta y nueve (79) muestras de diferentes marcas de bebidas de cacao recogidas de diferentes mercados en la ciudad de Benin (Nigeria), se evaluaron mediante la estimación de la carga de hongos; utilizando el método de recuento de placa estándar y el nivel de aflatoxina B1 (AFB1) por extracción de columna de gel de sílice de inmunoafinidad y cromatografía de capa fina con detección espectrofotométrica. Las colonias de moho aisladas de las muestras se identificaron mediante métodos micológicos estándar como *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatus*. La muestra de bebidas Zamis registró el mayor recuento de hongos de 5500 ufc /g, nivel de AFB1 de  $40,6 \pm 3,2$  µg/kg y contenido de humedad de 4,00%; mientras que la muestra de bebidas Peak registró el menor recuento de hongos de 500 ufc /g, el nivel de AFB1 de  $5,3 \pm 2,5$  µg/kg y el contenido de humedad del 1.00%. AFB1 no se detectó en muestras de bebidas de Ovaltine y Benco. Los géneros más frecuentes de moho en todas las muestras fue *A. flavus*, con una incidencia de 63,3%. Las bebidas con bolsita de cacao que se venden en la metrópolis de Benin conllevan un riesgo potencial para la salud. Por lo tanto, una mejor manipulación a través del procesamiento, la conservación y el almacenamiento de los alimentos puede minimizar las aflatoxinas en los alimentos y garantizar una calidad sostenible del suministro de alimentos. Estos hallazgos sugieren la necesidad de una atención urgente a las posibles implicaciones para la salud pública.

**Palabras Clave:** Aflatoxina B1; bebida cacao; mohos; salud pública.

## INTRODUCTION

In recent years food and feed safety has been a major concern of nations especially as more knowledge is gathered on the occurrence of natural toxins in food stuffs, fertilizers, animal feed and edible plant materials. World Health Organization (WHO) has characterized naturally occurring toxins as significant sources of food borne illnesses (1), while the Food and Agriculture Organization (FAO) has estimated that fungal toxins alone contaminate about 25% of agricultural products worldwide resulting in great losses for farmers (2) (3).

Food safety is usually determined by the absence or presence of pathogenic organisms, or their toxins, and the number of pathogens, with their expected or destructive agents (4). The level of spoilage microbes reflects the microbial quality, wholesomeness, of a food product as well as the effectiveness of measures used to control or destroy such microbes (5). Food borne disease and microbial spoilage of food result from the failure of or inability to control microorganisms at one or more stages of food chain, from raw material production to consumption of the final product (6). Specifically, the microbiological tools are used to assess the safety of food, adherence to good manufacturing practices (GMPs), the keeping quality (shelf life) of certain perishable foods and the utility (suitability) of a food or ingredient for a particular purpose (7).

In Nigeria, like other tropical and sub-tropical regions of the world, aflatoxicosis is a public health problem and control of aflatoxin contamination requires thorough risk assessment, monitoring, quality control and empirical data (8). Aflatoxin problem is global; however, it is more serious in tropical countries of the world where relative humidity is high and temperatures conducive for the growth and production of aflatoxin by moulds. Aflatoxin are potent carcinogens that are produced as secondary metabolites of strains of *Aspergillus parasiticus* and *Aspergillus flavus* that grow on important food crops such as groundnuts, maize, cocoa and other oilseeds (9).

The consumption of cocoa-based beverages is fast gaining ground in Nigeria due to its nutritional and health benefits. Its production has been an increasing trend in Nigeria without much concern for whether or not they meet the microbiological criteria

for food safety and public health consequences (10). Cocoa powder has a reduced water activity that may not constitute suitable substrate for the growth of microbes, but if not handled in hygienic form before consumption can result in the production of pathogenic organisms or production of toxic metabolites that can cause serious health problems (10).

Moulds are frequently found in cocoa beans and it is not uncommon to find mycotoxin-producing moulds and occasionally low levels of mycotoxins in cocoa (11). Beside *Aspergillus* being among the fungus genera, it has also been implicated in mycotoxicosis because it produces toxic metabolite called mycotoxins in food. Some of the species of this genus that have been severally reported in mycotoxicosis includes *Aspergillus flavus*, which produces aflatoxin that causes cancer of the liver, *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus niger* which produce ochratoxin that is nephrotoxic (4).

In view of this, there is need to determine the mycological safety of the cocoa based beverages we consume as health drink so as to stem down the occurrences of mycotoxin associated diseases in our community. Also, regardless of the wide consumption of these group of food by Nigerians, little or no data are available as regards mycotoxin levels in the commodities; the need for this study.

In this research, we screened some sachet cocoa beverages retailed in Benin metropolis, Edo State, Nigeria for aflatoxin B1 levels and fungal load with the aim of providing preliminary useful data on the aflatoxin status of these foods consumed in many homes and to enlighten the manufacturers and consumers on the need for proper food processing, handling and storage.

## MATERIALS AND METHODS

### Collection of samples

Seventy-nine (79) samples of different brands of the beverages (Zamis, Domo, Milo, Cowbell, Richoco, Ovaltine, Bournvita, Spectra, Benco and Peak chocolate) were obtained from four different markets (Uselu Market, New-Benin Market, Oba Market and Zoro supermarkets) in Benin City (Nigeria). The samples were obtained at two-week intervals for 24 weeks to obtain a good representation. Samples were analysed mycologically within 24 h of collection.



### Evaluation of mycoflora

The evaluation of fungi was carried out using dilution plating method and the direct plating technique (12). Decimal dilutions of the samples were carried out by placing one gram (1.0 g) of the beverage powder into 9.0 ml of sterile distilled water. This was thoroughly shaken and from the suspension, 1.0 ml was transferred to another tube containing 9.0 ml of sterile distilled water and thoroughly mixed again. This dilution procedure was further repeated thrice so that there were series of five tubes giving a serial dilution of 10<sup>-1</sup> to 10<sup>-5</sup>. An aliquot of 1.0 ml was pipetted at each dilution into sterile Petri dishes. Three of the plates were over-laid with cooled molten potato dextrose agar (PDA). The remaining three were over-laid with Harold agar. The latter contained malt, 40 % sucrose and yeast extract which makes it suitable for isolating osmophilic and xerophilic moulds.

Each medium was supplemented with 0.60 µg/ml of streptomycin sulphate to suppress bacterial growth. The plates containing the beverage powder and melted agar were swirled round to allow for thorough mixing of aliquot and media. After the agar had gelled, the plates were incubated at room temperature (28±2°C) for 5 to 7 days. The number of fungal colonies that appeared in a plate was multiplied by the dilution factor to obtain the number of colony forming units per gram (cfu/g) of cocoa-based beverage. For direct plating on agar media, 1.0 g of each sample was aseptically plated on PDA and Harold agar. The plates were incubated under room conditions (28±2°C) and examined after 7 days under a stereoscopic binocular microscope for the presence of fungi.

Representative colonies of fungi that appeared on agar plates were repeatedly sub-cultured on fresh PDA until pure culture of each isolate was established. Identification of fungi was by observing the growth habits and morphological characteristics under a wild binocular microscope. Wet mounts of hyphal/asexual structures stained with lactophenol in cotton blue were viewed under the compound microscope and identified with reference to standard texts (13) (14). Characterization of the fungi was done based on the colour of the colony, appearance, conidiophore, mycelium, arrangement of conidia on sterigmata. The pure culture of fungi got was prepared on a clean glass slide and stained with cotton blue in lactophenol. Observation was done under ×40 oil immersion objective lens.

### Estimation of total fungal counts

The total fungal in the samples was estimated from the decimal dilutions carried out. The incidence of mould contamination using direct inoculation was expressed as a percentage of the 79 samples examined.

### Determination of pH and moisture content

The pH of each sample was analysed using the pH meter. Moisture content of each sample was determined using Automated Moisture Analyzer (Sartorius MA 150, Germany) as described by the (15). The method was based on loss of moisture upon drying at 105°C.

### Extraction and determination of aflatoxin

The beverage samples were extracted with chloroform, and the extract was concentrated in vacuum. The dry material was transferred to 1-dram vials with small amounts of chloroform. The solution was evaporated to dryness under a stream of nitrogen. The crude extract was cleaned up by silica gel column (15). Aflatoxins were dissolved in chloroform and separated by thin layer chromatography on silica gel 60 plates using chloroform-methanol (97:3 v/v) as the developing solvent. The spots of aflatoxin B1 were removed from the plates, eluted with methanol and estimated spectrophotometrically with absorbance read at 365nm (16).

### Statistical Analysis

The data obtained were subjected to analyses using the one-way analysis of variance (ANOVA) in SPSS statistical package and statistical significance was accepted at 5% probability level or less.

### RESULTS AND DISCUSSION

The total fungal counts and moisture content in the samples varied from 0.5 x 10<sup>3</sup> to 5.5 x 10<sup>3</sup> cfu/g and 1.00 to 4.00 respectively with an average pH value of 7.15 for all samples (Table 1). Altogether, 3 fungal species belonging to *Aspergillus* mould (*A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*) were identified with *A. flavus* mainly isolated; having an incidence rate of 63.3%. Aflatoxin B1 levels was not detected in 2 samples (*Ovaltine* and *Benco*) but identified and quantified in 8 of the samples analysed; with amount varying from 5.3µg/kg to 40.6µg/kg.

**Table 1.** Total fungal count per gram of beverage and some physicochemical parameters

Beverage sample	Fungal count (10 <sup>3</sup> cfu/g)	Moisture content (%)	pH value
Zamis	5.5	4.00	7.02
Domo	5.0	2.00	7.04
Milo	4.5	2.70	7.60
Cowbell	4.5	1.23	7.08
Richoco	4.0	3.02	7.70
Ovaltine	4.0	1.00	7.01
Bournvita	2.5	3.00	6.98
Spectra	2.5	1.03	7.01
Benca	2.0	1.03	7.01
Peak	0.5	1.00	7.08

Table 2 shows the allowable limits (4.0µg/kg) specified by the European Commission (17) which is also currently being used by the National Agency for Food and Drug Administration and Control (NAFDAC), in Nigeria. Zamis sample had the highest fungal count and aflatoxin B1 level which correlated directly ( $r = 0.91$ ) with its moisture content amongst all sample analysed. It has been demonstrated that most of these food-borne fungi exhibit the potential to produce toxic metabolites.

There is sufficient evidence to conclude that naturally occurring mixtures of aflatoxins are carcinogenic to animals and humans (18). Some mycotoxins are tremorgenic i.e. cause novel neurotoxic effects; muscular tremors in animals.

Beverage sample	Total No of sample	flavus (%)	A.niger (%)	AFB1 (µg/kg)	sA.fumigats (%)	A.fumigats (%)	A.fumigats
Zamis	10	8(10.1)	5(6.3)	7(8.9)			40.6(3.2)
Domo	10	4(5.1)	3(3.8)	-			10.5(4.1)
Milo	10	6(7.6)	3(3.8)	-			15.3(2.2)
Cowbell	9	8(10.1)	4(5.1)	-			24.6(2.0)
Richoco	8	7(8.9)	3(3.8)	6(7.6)			24.6(2.0)
Ovaltine	8	2(2.5)	4(5.1)	4(5.1)			-
Bournvita	8	7(8.9)	5(6.3)	4(5.1)			18.2(3.5)
Spectra	6	4(5.1)	-	-			13.2(2.8)
Benca	5	2(2.5)	-	-			-
Peak	5	2(2.5)					5.3(2.5)
<b>Overall total</b>	<b>79</b>	<b>50(63.3)</b>	<b>27(34.2)</b>	<b>21 (26.7)</b>			<b>154.2(22.9)</b>

Tremorgens are produced mainly by species of *Aspergillus* and *Penicillium*. Also, they have been known to produce mycotoxins such as aflatoxin, ochratoxins, aflatrem, aspergillilic acid and aspertoxin. Mycotoxins seem able to cause serious disease of the liver, kidney and blood – forming organs in extremely low quantities i.e. parts per billion. In addition, many mycotoxins have been shown to impair immunity against various pathogenic agents. This has been demonstrated for aflatoxins, diacetoxyscripenol, ochratoxin and rubratoxin (19) (20).

Again, in humans, mycotoxins have been implicated in a form of encephalopathy observed in Thailand and in a particular nephropathy rather

frequently seen in the Balkans (14). Apart from danger of food poisoning caused by these fungi, they also utilize nutrients found in the food thereby causing deterioration of such food. To improve the quality of cocoa beverages and to prevent spoilage at various water activity ( $a_w$ ), it was suggested by Mossel and Shennan (21) that if the  $a_w$  is below 0.65 and the product is maintained at this level during storage, problems arising due to microbial spoilage are rare, irrespective of the number of contaminating organisms present. It was further noted that aflatoxins production ceases or become very low at  $a_w$  below 0.85. However, high level of contaminating organisms should be avoided,

since they can survive for long periods and may contaminate other foods or cause problems after dehydration.

Pelczar et al., (22) also reported that the extent of contamination will depend upon the initial microbiological quality of the product and the level of aseptic precaution used during handling. Therefore, if the product is well handled, the level of microbial content of the final product will be minimal. Furthermore, the spectrum of the fungi isolated is similar to those in the raw material. This may be due to reinfection of the product during cooling of the samples before they are packaged into polyethylene bags because of the ubiquity of these organisms.

A more recent and increasingly popular way of preserving foods is the use of controlled storage or modified atmosphere packaging (MAP). These methods take advantage of combining the inhibitory effect of low O<sub>2</sub> levels and elevated CO<sub>2</sub> levels in any deterioration processes in foods as well as preventing the microbial spoilage (23).

The results of our investigation demonstrate that the aflatoxigenic fungus (*Aspergillus*) aided by moisture and other factors is a common agent of contamination of cocoa-based beverages marketed in Benin City, Nigeria. However, not all samples contain the B1 aflatoxin screened for; but the levels of Aflatoxin B1 in most of the food samples were generally above the maximum allowable limits of NAFDAC. Reduction of aflatoxin levels in food stuffs in Nigeria especially in cocoa-based beverages should be a public health priority.

Values in parentheses for AFB1 levels are S.D. of three replicates

Conflict of interest

The authors have declared no conflict of interest.

## REFERENCES

1. WHO. Global strategy for food safety: Safer food for better health, food safety programme. Geneva, Switzerland; 2002.
2. Kabak B, Dobson AD, Var II. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2006 Dec 1;46(8):593-619.
3. Wu F. Measuring the economic impacts of Fusarium toxins in animal feeds. *Anim Feed Sci Technol*. 2007;137((3-4)):363-74.
4. Ogunledun DS. Incidence of Microbial Contaminant and Nutrient Composition of Selected Cocoa-based Beverages in Ibadan, Nigeria. University of Ibadan; 2007.
5. Pierson M, Zink D, Smoot L. Indicator microorganisms and microbiological criteria In: Food Microbiology. Doyle M, Beuchat L (ed), Food Microbiol Fundam Front. 2007;Third Edit:71-8.
6. Gressel J, Hanafi A, Head G, Marasas W, Obilana AB, Ochanda J, Souissi T, Tzotzos G. Major heretofore intractable biotic constraints to African food security that may be amenable to novel biotechnological solutions. *Crop Protection*. 2004; 1;23(8):661-89.
7. National Research Council (NRC). An Evaluation of the Microbiology Criteria for Food Ingredient. Washingt DC Natl Acad Press. 1985;1-69.
8. Williams IO, Ugbaje SA, Igile G., Ekpe O. Occurrence of Aflatoxin in Some Food Commodities Commonly Consumed in Nigeria. *J Food Res*. 2015;4(5):81-8.
9. Jimoh K., Kolapo A. Mycoflora and aflatoxin production in market samples of some selected Nigerian foodstuffs. *Res J Microbiol [Internet]*. 2008;3:169-74. Available from: <http://dx.doi.org/10.3923/jm.2008.169.174>
10. Jayeola CO, Oluwadun AO. Mycoflora and nutritional components of cocoa powder samples in South West Nigeria. *African J Agric Res*. 2010;5(19):2694-8.
11. Oyetunji TO. Mycological evaluation of a ground cocoa-based beverage. *African J Biotechnol*. 2006;5(22):2073-6.
12. MacFaddin, J.F. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. 3rd Edition, Lippincott Williams & Wilkins, New York. 2000; 4-302
13. Barnett H, Hunter B. *Illustrated genera of imperfect fungi [Internet]*. 4th ed. Minneapolis.: Burgess Publishing Company; 1986. Available from: <https://lib.ugent.be/catalog/rug01:000452985>
14. Berthiller F, Crews C, Dall'Asta C, Saeger SD,

- Haesaert G, Karlovsky P, Oswald IP, Seefelder W, Speijers G, Stroka J. Masked mycotoxins: A review. *Molecular nutrition & food research*. 2013; 1;57(1):165-86.
15. AOAC. Natural toxins. In *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International*. 18th ed. Gaithersburg; 2006. 1-89 p.
16. Mishra BB, Gautam S, Sharma A. Microbial decontamination of tea (*Camellia sinensis*) by gamma radiation. *Journal of food science*. 2006 Aug 1;71(6).
17. AESAN. The effect on the Spanish population of the derogation of national regulation on maximum allowed limits for aflatoxins B1, B2, G1 & G2 in food. *Comm Spanish Agency Food Saf Nutr*. 2011;14(1):1–16.
18. IARC. Traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene, and styrene. Vol. 82, *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans*. Lyon, France; 2002.
19. Pohland A. Mycotoxins in review. *Food Addit Contam*. 1993;10(1):17–28.
20. Oyetunji TO. Mycological evaluation of a ground cocoa-based beverage. *African Journal of Biotechnology*. 2006;5(22).
21. Mossel DA, Shennan J. Microorganisms in dried food, their significance, limitation and enumeration. *J Food Technol*. 1976;11(3):205–20.
22. Pelczar MJ, Chan ECS, Noel RK. *Microbiology: Concepts and Application*. New York: Mc Graw Hill Inc; 1993. 842-852 p.
23. Taniwaki MH, Hocking AD, Pitt JI, Fleet GH. Growth and mycotoxin production by food spoilage fungi under high carbon dioxide and low oxygen atmospheres. *International journal of food microbiology*. 2009; 30;132(2-3):100-8.

## Caracterización físico química de una mezcla de *Cucumis sativus L.* y *Aloysia triphylla* (Cedrón) con propiedades nutraceuticas

Angélica, Paucar<sup>1</sup>; Nubia-Lisbeth, Matute<sup>1</sup>; Ana-Paola, Echavarría<sup>2</sup>

(Recibido: Noviembre - 2017, Aceptado: Marzo - 2018)

<sup>1</sup>Escuela de Ingeniería de Alimentos-Universidad Técnica de Machala-El Oro-Ecuador

<sup>2</sup>Facultad de Ingeniería (FACI) -Universidad Estatal de Milagro-Guayas-Ecuador.

\*aechavariav@unemi.ed.ec

### Resumen

Uno de los principales problemas en la alimentación actual es el sobrepeso que genera enfermedades crónicas como diabetes e hipertensión. En los últimos años a nivel mundial el consumo de alimentos saludables ha sido una alternativa a este problema, y una variedad de estos productos son los llamados alimentos funcionales. Investigaciones previas han demostrado que el cedrón posee propiedades medicinales mientras que el pepino está compuesto por el 95 % de agua, vitamina E y aceites naturales. El objetivo de este trabajo fue evaluar los componentes nutricionales, físico-químicos y la capacidad antioxidante de una mezcla óptima de pepino (*Cucumis sativus L.*) y cedrón (*Aloysia triphylla*) como base de una bebida funcional o nutraceutica. Para definir la composición de las mezclas hidroalcohólicas se realizó un diseño de superficie de respuesta D-óptimo, evaluándose dos niveles del extracto hidroalcohólico de cedrón (0,025 – 0,125 %) y de pepino (0,05 – 0,15 %). Además, se evaluó la capacidad antioxidante de las mezclas mediante la inhibición del radical DPPH, el valor de IC50 (Concentración inhibidora máxima media) fue de 144,91 ug/mL, el porcentaje de inhibición del radical DPPH fue de 36,09 a una longitud de onda de 517 nm, se identificó presencia los compuestos bioactivos como flavonoides, taninos de los cuales resulto positivo para flavonoides en todas las mezclas.

**Palabras Clave:** *Cucumis sativus L.*, *Aloysia triphylla*, actividad antioxidante, funcional, nutraceutico

## Physico-chemical characterization of mixtures *Cucumis sativus L.* and *Aloysia triphylla* (Cedrón) with nutraceuticals properties.

### Abstract

One of the main problems in the current diet is the overweight that generates chronic diseases such as diabetes and hypertension. In recent years globally, healthy food consumption has been an alternative to this problem, and a variety of these products are so-called functional foods. Previous research has shown that the Cedrón possesses medicinal properties while the cucumber is formed in 95% by water and is rich in vitamin E and natural oils. The aim of this work was to evaluate the nutritional, physical and chemical components and the antioxidant capacity of an optimal mixture of cucumber (*Cucumis sativus L.*) and cedron (*Aloysia triphylla*) as the basis of a functional or nutraceutical drink. In order to define the composition of the hydroalcoholic mixtures, a D-optimal response surface design was carried out, evaluating 2 levels of the hydroalcoholic extract of Cedrón (0.025 – 0.125%) and cucumber (0.05 – 0.15%).

In addition, the antioxidant capacity of the mixtures was evaluated by the inhibition of the DPPH radical, the value of IC50 (maximum mean inhibitor concentration) was of 144.91 ug/ML, the inhibition percentage of the DPPH radical was 36.09 at a wavelength of 517 nm, we identified the presence of bioactive compounds such as flavonoids, tannins of which was positive for flavonoids in all mixtures.

**Keywords:** *Cucumis sativus L.*, *Aloysia triphylla*, antioxidant activity, functional, nutraceutical

## INTRODUCCIÓN

El concepto de alimento nutraceutico ha sido recientemente reconocido como aquel suplemento dietético que proporciona una forma concentrada de un agente presumiblemente bioactivo de un alimento, presentado en una matriz no alimenticia y utilizado para incrementar la salud en dosis que exceden aquellas que pudieran ser obtenidas del alimento normal (1). Los productos nutraceuticos se refieren a cualquier producto que pueda considerarse alimento, capaz de proporcionar beneficios saludables, incluidos la prevención y el tratamiento de enfermedades (2). Al igual que los alimentos funcionales, además de satisfacer las necesidades nutricionales básicas, proporcionan beneficios para la salud o reducen el riesgo de sufrir enfermedades, transformando la materia prima en productos alimenticios sanos, nutritivos y seguros, con propiedades nutricionales que prolonguen su vida media y que mantengan o mejoren sus características organolépticas hasta el momento de su consumo (3). Siendo la capacidad antioxidante una de las principales características de un alimento funcional, por proveer beneficios a la salud, como reducción de riesgo de enfermedades cardiovasculares y cáncer, al combatir el daño celular causado por los radicales libres (4). Los flavonoides son la subclase de polifenoles más grande y abundante del mundo vegetal, poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antivirales entre otras. Se distribuyen en las plantas vasculares de manera ubicua y la variedad de sus propiedades biológicas son del grupo de polifenoles más estudiado (5).

Según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) realizada por el Instituto Ecuatoriano de Estadística y Censos (INEC) y el Ministerio de Salud Pública (MSP) en el año 2012, en el Ecuador el 62,8 % de personas entre 20 y 60 años padecen obesidad y la principal causa de muerte del país en general es la diabetes mellitus (7), la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) alertó que la obesidad y el sobrepeso son factores que generan enfermedades crónicas como hipertensión y enfermedades cardiovasculares, insuficiencia renal, diabetes y enfermedades hepáticas como la cirrosis. (8)

En la actualidad, la disponibilidad de alimentos y

bebidas naturales se ve afectada por la oferta y el fácil acceso a alimentos procesados, los cuales pueden llegar a ser nocivos para la salud a largo plazo, debido a que estos alimentos contienen elevadas cantidades de grasa, azúcar y sal, componentes que si se consumen en exceso pueden llegar a provocar enfermedades como obesidad, diabetes e hipertensión. (9).

En esta investigación se estudió material hipocalórico como son ; el pepino y el cedrón que tienen propiedades antioxidantes, son ricos en diferentes compuestos polifenólicos: como fenoles, flavonoides, entre otros .

El cedrón es un arbusto aromático originario de Chile, Perú y Argentina, que posee propiedades medicinales y aromáticas de gran interés. Debido a que investigaciones anteriores demuestran que el cedrón posee propiedades medicinales como tranquilizante, calmante nervioso, expectorante, sedante, analgésico y diurético; en la industria alimenticia en yerbas compuestas y bebidas. En uso medicinal las hojas y tallo son ricos en un aceite esencial, cuyo componente principal es el citral, responsable de su aroma, contiene además limoneno, linalol, cineol, terpineol y cariofileno, un aldehído sesquiterpenico al que se atribuye acción eupéptica y espasmolítico. (9).

El cedrón tiene como propiedad medicinal aliviar los dolores estomacales. Además se ha demostrado científicamente mediante pruebas de laboratorio importantes propiedades antimicrobianas con respecto a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris* (11). Mientras que el pepino posee propiedades diuréticas, hidratantes y alcalinizantes neutralizando el exceso de sustancias de desecho de reacción ácida depurativo, facilitando la eliminación de sustancias de desecho que circulan por la sangre, tanto por vía urinaria como a través de la piel. (10).

De acuerdo a las revisiones bibliográficas realizadas se escogido el cedrón como planta medicinal y el pepino respectivamente para realizar una mezcla entre ellas a diferente concentración y evaluar componentes nutricionales y físico químicos para el diseño posterior de una bebida funcional o nutraceutica.

**MATERIALES Y METODOS**

Se utilizó *Cucumis sativus L* y hojas *Aloysia triphylla* (cedrón) que no presentaron daños por factores climáticos. El pepino seleccionado se le realizó una extracción mecánica. Las hojas del cedrón pasaron por un proceso de extracción

alcohólica (etanol 96o) por maceración (5 días) y por filtración, como lo muestra la Figura 1. De los extractos obtenidos, se prepararon tres concentraciones de 20, 30 y 50 %, los cuales se homogenizaron con la ayuda de un Vortex Mixer VM 300.

*Aloysia triphylla* (cedrón)



**Figura 1.** Extracción de componentes bioactivos del cedrón por el método soxhlet

En las muestras obtenidas se analizaron los siguientes componentes:

Análisis físicoquímicos: Se determinó humedad, cenizas, sólidos solubles, índice de refracción, azúcares reductores (% glucosa, % fructosa), sólidos totales, pH, acidez total, densidad y color (método CIELab).

Análisis de componentes bioactivos:

Flavonoides y saponinas, se determinaron mediante el ensayo de Shinoda. Taninos y fenoles; mediante el ensayo del cloruro férrico. Finalmente la capacidad antioxidante, que se determinó mediante el método 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Los resultados de las propiedades antioxidantes fueron convertidos a porcentaje de inhibición y expresados como capacidad antioxidante en μmol de equivalentes Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico); TE)/g de EEP (TEAC). Los experimentos se llevaron a cabo usando un bloque

de diseño al azar. Dentro de cada bloque cada tratamiento se aplicó 3 veces. Se usó como control positivo ácido ascórbico.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se observó que el extracto etanólico de cedrón posee un porcentaje mayor de fructosa y glucosa (21,82 %) que el extracto de pepino (2,74 %). (Tabla 1).

**Tabla 1.** Porcentajes de glucosa y fructosa en pepino (*Cucumis sativus L.*), cedrón (*Aloysia triphylla*) y mezclas.

Muestra	Glucosa	Fructosa
Pepino	2,74 ± 0,02	2,71 ± 0,04
Cedrón	21,82 ± 0,02	21,8 ± 0,01
C1	8,44 ± 0,02	8,4 ± 0,02
C2	11,23 ± 0,02	11,22 ± 0,02
C3	15,78 ± 0,02	12,17 ± 0,02

Los resultados obtenidos del (%) de humedad del pepino (*Cucumis sativus L.*) fue de  $92,7 \pm 0,045$  y (%) de ceniza de  $2,027 \pm 0,030$ . Un porcentaje de humedad alto en el pepino resulta favorable ya que servirá como medio acuoso en caso de realizarse una bebida mientras que el porcentaje alto de cenizas demuestra que en el cedrón existe mayor cantidad de minerales y productos inorgánicos. El Cedrón presentó un porcentaje en humedad de  $47,24 \pm 0,045$  y cenizas  $11,77 \pm 0,02$ .

Los resultados de la Tabla 2. Indican diferencia entre los extractos puros de las muestras y las concentraciones, esto se debe a la concentración de sólidos solubles en el extracto del cedrón. Los valores de índice de refracción determinado en las distintas mezclas, fueron expresados en

nD (n veces más grande que el número de onda D). Según los resultados indicados, la muestra C1 tiene mayor cantidad de sólidos totales en comparación con las mezclas C2, C3.

El nivel de pH es mayor en el extracto de pepino en relación al extracto etanólico de cedrón y a medida que aumenta la concentración de cedrón y disminuye la concentración de pepino, el pH disminuye. Además se puede notar que el % de acidez de los extractos y las mezclas es indirectamente proporcional al pH.

La densidad es mayor en el extracto etanólico de cedrón y menor en el extracto de pepino; y a medida que aumenta la concentración de cedrón en las mezclas estas poseen mayor densidad.

**Tabla 2.** Determinación de las propiedades físicas de las muestras

Muestra	pH	Acidez (g/100g)	S. solubles °Brix	Índice de refracción (Nd)	Densidad (g/mL)
Pepino	$6,04 \pm 0,03$	$0,047 \pm 0,02$	$2,78 \pm 0,01$	1,34	1,014
Cedrón	$5,46 \pm 0,03$	$1,463 \pm 0,01$	$21,56 \pm 0,01$	1,37	1,098
C 1:2	$5,80 \pm 0,03$	$0,059 \pm 0,01$	$8,69 \pm 0,02$	1,35	1,038
C 1:5	$5,59 \pm 0,02$	$0,077 \pm 0,02$	$11,94 \pm 0,02$	1,35	1,048
C 1:8	$5,53 \pm 0,02$	$0,093 \pm 0,01$	$16,92 \pm 0,01$	1,36	1,059

En la Tabla 3. Los resultados demostraron que tanto el color en C1 como en C2 se asemejan debido que los dos tienden a los tonos verdes (-a) y amarillos

(+b) probablemente por el contenido de clorofila, a diferencia con la mezcla C3 que presentó una tendencia a los tonos rojo (+a) y amarillo (+b).

**Tabla 3.** Parámetros de evaluación de color CIELAB en pepino (*Cucumis sativus L.*), cedrón (*Aloysia triphylla*) y mezclas.

Parámetros de evaluación	MUESTRA				
	100% P	100% C	C1	C2	C3
L*	40,51	31,81	37,99	36,87	34,96
a*	-2,83	0,45	-1,02	-0,11	1,13
b*	3,73	3,31	6,36	6,59	6,37
$\Delta L^*$	-48,03	-56,73	-50,55	-51,67	-53,58
$\Delta a^*$	-3,22	+0,05	-1,41	-0,51	+0,74
$\Delta b^*$	-3,26	-3,68	-0,63	-0,40	-0,62
$\Delta E^*$	48,25	56,844	50,58	51,67	53,59

**Análisis de componentes bioactivos**

Los resultados del análisis fitoquímico de las muestras se presenta en la Tabla 4, con la presencia y ausencia de familias de metabolitos secundarios como; flavonoides, taninos, saponinas y compuestos cianogénicos en las mezclas analizadas. En la muestra C 1:8 el

contenido de flavonoides fue positivo pasando de un color amarillo a naranja intenso. Las saponinas presentaron espuma abundante y estable al realizar el ensayo de Grignard (12), En las muestras se observaron niveles muy bajos de glucósidos cianogénicos lo que indica que la muestra no presenta toxicidad (13).



Se observó que en la muestra 100% pepino, se notó un cambio de color verde a amarillo verdoso. En las mezclas (C1, C2 y C3) se notó un cambio de color de verde a verde oscuro.

En el análisis de taninos, se observó que en la

muestra 100% pepino se notó un cambio de color verde a amarillo. No hay presencia de saponinas en ninguna de las concentraciones debido a que no hubo formación de espuma en las muestras.

**Tabla 4.** Determinación cualitativa de flavonoides, fenoles, saponinas y compuestos cianogénicos de pepino (*Cucumis sativus L.*), cedrón (*Aloysia triphylla*) y mezclas.

Compuestos	Muestras				
	Pepino	Cedrón	C 1:2	C 1:5	C 1:8
flavonoides	+	+	+	+	+
taninos y Fenoles	+	-	-	-	-
saponinas	-	-	-	-	-
g. cianogénicos	-	-	-	-	-

### Capacidad antioxidante

Para determinar la capacidad antioxidante se empleó el método DPPH (2-difenil-1-picril hidrazilo) en el cual se analizó el efecto inhibidor del radical DPPH, en los resultados obtenidos que se presentaron en porcentajes (Tabla 5) se observó que las mezclas C1 y C2 poseen esta actividad, la cual va disminuyendo proporcionalmente a la concentración de pepino en la mezcla, es decir que mientras disminuye la concentración de pepino en la mezcla también disminuye la capacidad antioxidante.

**Tabla 5.** Capacidad antioxidante en mezcla de pepino (*Cucumis sativus L.*), cedrón (*Aloysia triphylla*)

Muestra	% Inhibición	Concentración mg a.a./g	IC50 µg/mL
Ácido ascórbico	44	116,43	123,689
C1	36,09	116,27	144,91
C2	27,38	116,58	143,05

a.a: ácido ascórbico

La presencia de flavonoides en las 3 mezclas (pepino/cedrón) es favorable para el trabajo de investigación debido a que los flavonoides ofrecen múltiples beneficios para la salud humana. El cambio de color en la muestra (100 % pepino) para análisis de taninos, indica presencia de este bio componente en bajas concentraciones (<0,4 %). El análisis para la presencia de saponinas y glicosídicos cianogénicos fue negativo en todas las muestras analizadas, lo cual indica que no existe riesgo de toxicidad. Los resultados para el análisis de la capacidad antioxidante de las mezclas analizadas (C1 y C2) demostraron que el porcentaje de inhibición del radical DPPH fue más alto en C1 en relación a C2, esto puede ser debido a la concentración de pepino en las mezclas, el cual fue mayor en C1. El tratamiento estadístico que se realizó en los resultados de los análisis para sólidos totales, pH, acidez, densidad, glucosa y fructosa indicó que todos cumplen homogeneidad de varianzas ( $p > 0,05$ ) excepto sólidos totales.

### CONCLUSIONES

Las mezclas que se encuentran con valores  $> 5$  oBx; fueron de 8,69 oBx para C1, 11,94 oBx para C2 y 16,92 oBx para C3, cumpliendo con el mínimo requerido por la norma INEM; mientras que los valores de pH obtenidos de las mezclas (pepino/cedrón) no logran ubicarse entre los límites establecidos en la Norma INEN 2337:2008, la cual especifica que el pH para jugos debe ser igual o menor a 4,5; por lo que al momento de diseñar una bebida se puede recurrir a la ayuda de aditivos autorizados que permitan disminuir los niveles de pH y cumplir con lo que exige la norma técnica.

### REFERENCIAS

- Bello, J. Alimentos con propiedades saludables especiales. En Alimentos composición y propiedades. Ed. Mc.Graw-Hill. Interamericana España, 1ª edición. Astiasarán I, Martínez A. 2000. Cap15: 343-355.
- Bello, J. Alimentos con propiedades saludables especiales. En Alimentos composición y propiedades. Ed. Mc.Graw-Hill. Interamericana España, 1ª edición. Astiasarán I, Martínez A. 2000. Cap15: 343-355.
- Alvírez-Morales A, González-Martínez B, Jiménez-Salas Z. tendencias en la producción

- de alimentos: alimentos funcionales Rev Salud Publica Nutr. 2002; 3 (3)0-8.
3. Fuentes L, Acevedo D, Gelwz-Ordoñez V, Functional foods; Impact and challenges for development and welfare society Colombian. Biotecnol. Sector agropecuario agroind. 2015; 13(2): 140 -14.
  4. Pérez L. Nutraceuticos: componente emergente para el beneficio de la salud. ICIDCA. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la caña de Azúcar. Sobre Los Derivados de la Caña de Azúcar. 2006; 50 (3): 20-28.
  5. Álvarez E, Orallo Cambeiroa E. Actividad biológica de los flavonoides (I). Acción frente al cáncer. Offarm 2000; 22(10):130-40.
  6. Oliva-Chávez O, Fragosó-Díaz S. Consumo de comida rápida y obesidad, el poder de la buena alimentación en la salud. Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo. Educativo (RIDE). 2013; 4 (7):176-187.
  7. Freire W, Ramírez-Luzuriaga M, Belmont P, Mendieta M, Silva-Jaramillo M, Romero N, Sáenz K, Piñeiros P, Gómez L, Monge R. Tomo I: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de la población ecuatoriana de cero a 59 años. ENSANUT-ECU 2012. Ministerio de Salud Pública/Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. Quito-Ecuador.
  8. FAO. FAO. [Online]; 2006 [cited 2014 Agosto 14. Available from: [http://www.fao.org/inpho\\_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/PEPINO.HTM](http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ae620s/pfrescos/PEPINO.HTM).
  9. Barrios Y, Díaz N, Meertens L, Naddaf G, Solano L, Fernández M. Relation between leptin serun with weight and body fat distribution in postmenopausal women. Nutr. Hosp. 2010; 25(1): 80-84.
  10. Rojas S, Marjorie C. Elaboración de una crema hidratante a base de papino" Cucumis sativus" y cola de caballo" Equisetum arvense" y el estudio de su eficacia. BS tesis. Machala: Universidad Técnica de Machala, 2014.

## Antibacterial screening and GC-MS profile of leave and stem fractions of *Calotropis procera* (Linn)

Oluwakemi-Sola Asoso<sup>1</sup>; Muftau-Kolawole Oladunmoye<sup>2</sup>; Ayodele Oluyemisi Ogundare<sup>2</sup>

(Recibido: Febrero 2018, Aceptado: Mayo - 2018)

<sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Afe Babalola University, Ado-Ekiti, Nigeria, E-mail address: oyesolakemi@gmail.com

<sup>2</sup> Department of Microbiology, School of Sciences, Federal University of Technology, Akure, Ondo State, Nigeria. E-mail: chourtar@yahoo.com.

### Abstract

Traditional medicine also known as Indigenous or folk medicine comprises of knowledge systems that developed over generations within various societies before the era of modern medicine. The column chromatography was used to collect the crude fractions; solvents like petroleum ether, chloroform and methanol were used. The antibacterial activities of the crude fractions of *Calotropis procera* (leaf and stem) were evaluated in this study using some selected microorganisms like *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* ATCC 24162, *Salmonella typhi* and *Klebsiella pneumoniae* ATCC 34089, whereby the plant was extracted using (acetone, methanol and aqueous). The paper disc method was used after which the zone of inhibition around the discs was estimated. The results showed that in the leaf of the plant; *E. coli* with aqueous-methanol fraction and *K. pneumoniae* ATCC 34089 with acetone-petroleum ether fraction had the highest yield of 30mm respectively while in stem; *K. pneumoniae* ATCC 34089 with methanol-methanol fraction had the highest yield of 25mm. The structural elucidation of the bioactive compounds in the extracts were evaluated using GC-MS which reveals the chemical compounds like phenol, methyl palmitate, phthalic acid, 9-octadecenoic acid and other compounds known for valuable antimicrobial, biological activities and antioxidant properties. The leaves and the stem are having good chemical compounds that can be responsible for the antimicrobial property observed.

**Keywords:** analysis leaves; *Calotropis procera*; crude fractions; gas chromatography; mass spectrometry; phytochemistry stem.

## Evaluación antibacteriana y perfil cromatográfico (CG-EM) de fracciones de hojas y tallo de *Calotropis procera* (Linn)

### Resumen

La medicina tradicional, también conocida como medicina ancestral o popular, comprende sistemas de conocimientos que se desarrollaron a lo largo de generaciones dentro de varias sociedades antes de la era de la medicina moderna. La cromatografía en columna fue utilizada para recolectar fracciones crudas; se utilizaron disolventes como éter de petróleo, cloroformo y metanol. Las actividades antibacterianas de las fracciones crudas de *Calotropis procera* (hojas y tallo) se evaluaron en este estudio, utilizando algunos microorganismos seleccionados como *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae* ATCC 24162, *Salmonella typhi* y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 34089; para tal fin, la planta fue extraída usando acetona y metanol acuoso. El método de difusión en disco de papel fue usado después de que la zona de inhibición alrededor de los discos fue estimada. Los resultados mostraron que en las hojas de la planta, *E. coli* con la fracción acuoso-metanol y *K. pneumoniae* ATCC 34089 con la fracción del éter de petróleo-acetona, tuvieron el rendimiento más alto de 30mm respectivamente; mientras que en el tallo, *K. pneumoniae* ATCC 34089 con la fracción del metanol-metanol tuvo el rendimiento más alto de 25mm. La elucidación estructural de los compuestos bioactivos en los extractos fue evaluada usando CG-EM, identificándose compuestos químicos como fenol, palmitato metílico, ácido ftálico, ácido 9-octadecenoico y otros compuestos conocidos como antimicrobianos valiosos, con actividades biológicas y propiedades antioxidantes. Las hojas y el tallo han presentado buenos compuestos químicos, que pueden ser responsables del efecto antimicrobiano observado.

**Palabras Clave:** análisis de hojas; *Calotropis procera*; fracciones brutas; cromatografía de gases; espectrometría de masas; fitoquímica

## INTRODUCTION

The World Health Organization (WHO) defines traditional medicine as the sum of total of the knowledge, skills, and practices based on the theories, beliefs and experiences indigenous to different cultures, whether explicable or not, used in the maintenance of health as well as in the prevention, diagnosis, improvement or treatment of physical and mental illness (1).

The use of herbal medicine as alternative therapy has prevalent throughout the world due to the growing resistance of pathogens to conventional antibiotics (2). The need for more potent, safe and affordable drugs has led to intensified research into herbal drugs, the result of which is the introduction of new herbal preparation for therapeutic uses (3). Medicinal plants are frequently used as remedies for many infectious diseases (4). The treatment and control of diseases by the use of the available medicinal plants in a locality have been helpful and of a priority to majority of urban and rural dwellers in healing various diseases because of the reliability and stability in plant products for healing (5).

*Calotropis procera* (Apple of Sodom) is a shrub or small tree, which has become a serious weed in pastures and overgrazed rangelands. It is a native to West Africa as far as south as Angola, North and East African, Madagascar, the Arabian Peninsula, Southern Asia, India and China to Malaysia. *Calotropis* was formerly placed in the family of Asclepiadaceae (the milkweed family), which is now considered a subfamily of the Apocynaceae (6).

## MATERIALS AND METHOD

### Collection of plant samples

Apparently healthy plant namely *Calotropis procera* were collected from Ado-Ekiti, Ekiti State Nigeria.

**The plants parts leave and stem were air-dried** for 5 weeks at room temperature (25 + 2 oC) and then ground to powder with a mechanical grinder (Thomas Wiley machine, model 5 USA). Powders (200gs) of each plant were extracted with 1litre of sterile aqueous water, ethanol, methanol and

acetone separately at room temperature (25 + 2 oC). They were labeled as crude extracts.

### Antibacterial Screening of the Crude Fractions

The evaluation of antimicrobial activity was performed for all fractions by the paper disc agar diffusion method following the standard rules of antimicrobial sensitivity tests by the Clinical and Laboratory Standards Institute (7). The antibacterial effect of the fractions was carried out whereby the discs were previously impregnated with the plant crude fractions and placed on the sterile prepared medium. The plates were incubated at 37 oC for 24 - 48 hours. The sensitivity of the test organisms to each of the extracts was indicated by clearing around each disc. The diameter as an index of the degree of sensitivity was measured with a transparent plastic ruler.

### Column chromatography and fraction extracts

Glass wool was placed at the outlet of a column after which, one gram of plant extract powder was weighed into it and subjected to column chromatography (30 x 8 cm column) using 60 g of silica gel 60 F254 (Merck, 0.020 mm thickness). The column was successively eluted first with petroleum ether (150 ml) and then with chloroform (80 ml): methanol (2 ml) (40:1) and finally with 100% methanol (150 ml). Each 100 ml eluent was collected into a round bottom flask (250 ml) capacity and distilled to obtain fractions. The fractions collected were numbered. GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry) analysis was carried out in GCMS-QP2010 PLUS Shamadzu.

### Antibacterial screening of crude fractions

The antibacterial screening of the crude fractions of *Calotropis procera* leaf was examined; some chemicals were used in the fractionalization of the crude sample, which are methanol, chloroform and petroleum ether. Methanol, aqueous and acetone leaf fractions showed the highest zone of inhibition were: 30, 20 and 20 mm respectively. The use of petroleum ether do not show any significant antibacterial effects against the isolates while aqueous crude fractions shows an effective antibacterial activity against *S. aureus* at zone of inhibition of 15 mm (Table 1).

**Table 1:** Antibacterial screening of crude fractions of *Calotropis procera* leaf (mm)

ORGS	A C M	A C C	A C P	M M	M C	M P	A Q M	A Q P	A Q C	E C	E P	E M
<i>E.coli</i>	-	-	-	4	20	2	30	-	20	-	-	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	10	5	-	-	-	15	-	-	-
<i>E.coli</i>												
ATCC 35218	-	-	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhi</i>	20	15	20	18	5	-	-	-	-	10	5	7
<i>S. dysenteriae</i>	20	-	-	14	-	-	-	-	-	4	14	-
<i>S. dysenteriae</i>												
ATCC 24162	2	-	-	22	14	2	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumonia</i>												
ATCC 34089	20	-	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K.pneumoniae</i>	24	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ACM- Acetone methanol, ACC- Acetone Chloroform, ACP-Acetone Pet. Ether, MM-methanol methanol, MC-Methanol Chloroform, MP-Methanol pet. Ether, AQC-Aqueous Chloroform, AQP Aqueous Pet.ether, AQM- Aqueous Methanol, EM-Ethanol Methanol, EC- Ethanol Chloroform, EP- Ethanol Pet. Ether. (-): did not show inhibition zone.

Table 2 shows the antibacterial screening of the stem crude fractions to indicate the effectiveness of various bioactive or metabolite fractions found in the crude stem extracts of the plant (*C. procera*). During

this research, also methanol was found to show a significant antibacterial effect on *K. pneumoniae* at zone of inhibition of 25 mm. Both methanol and aqueous crude fractions have shown good antibacterial activities.

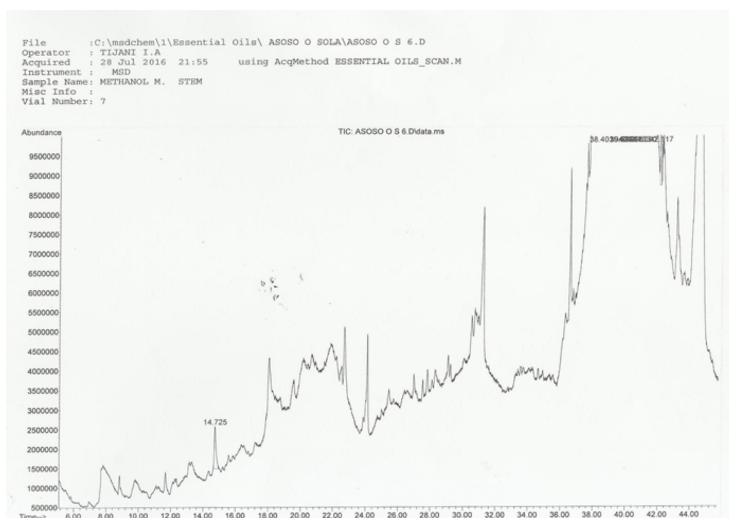
**Table 2.** Screening of antibacterial crude fractions of *Calotropis procera* stem (mm)

ORGS	A C M	A C C	A C P	M M	M C	M P	A Q C	A Q P	A Q M	E M	E C	E P
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-
<i>S. dysenteriae</i> ATCC 24162	-	-	-	-	-	-	10	3	3	6	-	-
<i>K. pneumonia</i> ATCC 34089	-	-	-	25	-	9	-	-	-	-	-	-
<i>S. typhi</i>	-	5	10	2	-	7	-	-	21	6	-	-

ACM- Acetone methanol, ACC- Acetone Chloroform, ACP-Acetone Pet. Ether, MM-methanol methanol, MC-Methanol Chloroform, MP-Methanol pet. Ether, AQC-Aqueous Chloroform, AQP-Aqueous Pet.ether, AQM- Aqueous Methanol, EM-Ethanol Methanol, EC- Ethanol Chloroform, EP- Ethanol Pet. Ether. (-): did not show inhibition zone.

Tables 3-8 and Figures 1 -2, indicate the results of GC-MS analysis with peaks of secondary metabolites of the crude fractions. Those shows diverse peaks which implies different chemical compounds that are been found in the fractions of *C. procera*. The chemical compounds of the crude

fractions were determined and listed out with their retention time and the concentration of the chemical compounds in percentage. The secondary metabolites identified were phenol, methyl palmitate, 9-octadecenoic acid, phthalic acid, dimethyl sulfoxide, phytol and among others.



**Figure 1:** GCMS ANALYSIS WITH PEAKS OF SECONDARY METABOLITES OF MMS (METHANOL METHANOL STEM FRACTION)

**Table 3.** Chemical compounds of methanol- methanol stem fraction of *C. procera*, identified by GC-MS analysis.

S/N	Chemical compounds	Retention Time (mins)	Concentration (%)
1	phenol	14.725	1.761
2	Methyl	38.401	7.053
3	9.12 octadecadienoic acid (z,z)- Methyl ester	39.625	2.814
4	9- octadecadienoic acid	39.666	4.602
5	octadecadienoic acid	40.184	34.65
6	Methyl 19,22- heptadeca dienoate	40.225	8.98
7	9 – octadecadienoic acid	40.7033	31.16
8	Tetradecanoic acid	41.080	4.21
9	Phthalic acid	42.117	4.76

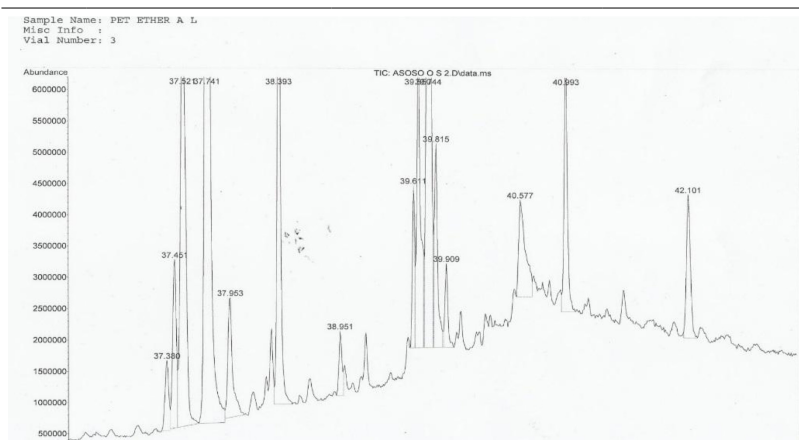
Identified by GC-MS analysis

**Table 4.** Chemical compounds of methanol- aqueous stem fraction of *C. procera*, identified by GC-MS analysis

S/N	CHEMICAL COMPOUNDS	RETENTION TIME (min)	CONCENTRATION(%)
1	Hydrazine	7.797	0.92
2	Thietane	7.876	0.86
3	Dimethyl Sulfoxide	9.282	13.23
4	2(5H)-Furanone	11.905	13.53
5	Triacetin	23.798	1.22
6	4-methyl-5-methoxy-1,2,4-triazole-3-thione	24.018	1.33
7	Methyl palmitate	38.386	4.40
8	9-octadecenoic acid	39.650	0.69
9	Methyl palmitate	39.807	2.08
10	Benzenemethanamine	41.512	11.17
11	Phthalic acid	42.109	18.97
12	1H-Indole	42.219	22.26
13	2-methyl-7-phenylindole	42.345	7.24
14	(2,3-Diphenylcyclopropyl) methylphenyl sulfoxide	43.060	2.09

**Table 5.** Chemical compounds of chloroform-aqueous leaf fraction of *C. procera*, identified by GC-MS analysis

S/N	CHEMICAL COMPOUNDS	RETENTION TIME(min)	CONCENTRATION (%)
1	Dodecane	15.802	1.67
2	Phenol	29.061	2.79
3	Cyclohexadecane	31.151	1.55
4	9-Octadecene	36.744	1.68
5	Dodecane	36.744	1.22
6	Phthalic acid	37.435	4.64
7	Phthalic acid	37.749	37.68
8	Methyl palmitate	38.401	12.72
9	9-octadecenoic acid	39.658	12.72
10	Methyl palmitate	39.823	8.60
11	Phthalic acid	42.109	6.94



**Figure 2:** GCMS analysis with peaks of secondary metabolites of pal (pet-ether acetone leaf fraction)

**Table 6.** Chemical compounds of pet-ether acetone leaf fraction of *C. procera*, identified by GC-MS analysis

S/N	CHEMICAL COMPOUNDS	RETENTION TIME (min)	CONCENTRATION (%)
1	2-Hexadecene	37.380	1.29
2	11-tetradecyn-1-ol acetate	37.451	2.94
3	2-pentadecanone	37.521	10.40
4	Phthalic acid	37.741	24.54
5	3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecenol-ol	37.953	2.70
6	Methyl palmitate	38.393	7.66
7	Hexadecanoic acid	38.951	0.97
8	9,12-octadecadienoic acid(z,z)-methyl ester	39.611	1.80
9	7,10,13-hexadecatrienoic acid	39.650	5.53
10	Phytol	39.744	28.64
11	Methyl palmitate	39.815	2.75
12	Cyclopentanone	39.909	1.11
13	Bromacetic acid	40.577	3.88
14	4,8,12,16 tetramethylheptadecan-4-olide	40.993	3.88
15	Phthalic acid	42.101	2.66

The table 6 shows the explanation of the Figure 1. metabolites of pal (pet-ether acetone leaf fraction) above, GCMS analysis with peaks of secondary

**Table 7.** Chemical compounds of methanol-methanol leaf fraction of *C. procera*, identified by GC-MS analysis.

S/N	CHEMICAL COMPOUNDS	RETENTION TIME(min)	CONCENTRATION(%)
1	Dimethyl sulfoxide	9.400	91.44
2	3-acetoxy-3-hydroxypropionic acid	16.878	5.05
3	Methyl palmitate	38.401	3.51

**Table 8.** Chemical compounds of methanol- aqueous leaf fraction of *C. procera*, identified by GC-MS analysis.

S/N	CHEMICAL COMPOUNDS	RETENTION TIME (min)	CONCENTRATION(%)
1	Butane	9.965	65.81
2	n- hexadecanoic acid	39.116	26.20
3	9-octadecenoic acid	40.074	2.20
4	Octadecanoic acid	40.208	5.79

## DISCUSSION

Antibacterial activities of the crude fractions showed that this plant can be used for curing many diseases such as pneumonia, dysentery among others. The results demonstrated that the crude extracts were more efficient than the fractions, this findings might suggest that Phytochemical constituents in combination may be having synergy in their efficacy, which is in agreement with many other report that have shown higher antibacterial potency of crude extracts as compared to the fraction (8).

The difference of various plant extracts in the antimicrobial activity is expected, as the activity is based not only on the different structures of microorganisms but also on their susceptibilities (9). This inhibitory action could be attributed to the phytochemical constituents, since these constituents are well established as antimicrobial agents (10). In the present study, in the agar diffusion assay the methanol and chloroform extracts showed the larger inhibition halo enabling to observe the extraction potential of the solvent employed.

Differences of biological activity between the fractions can be partly explained by quantitative and qualitative variations in the secondary

metabolites present in the fractions which are in support with (11) and could be due to the use of different parts of the plants and leading to the extraction of different compounds and with antimicrobial activity. GC-MS technique was used to effect complete separation and identification of the pure compounds in the combined fractions. The presence or absence of functional groups in an organic molecule determines the manner in which that organic molecule will fragment. The structure of the compounds can be deducing by interpretation of various mass peaks in each spectrum. The compounds identified are phthalic acid, butane, methyl palmitate, n-hexadecanoic acid, phytol among others.

## CONCLUSIONS

The present study has investigated the efficacy of *Calotropis procera* which can be considered in folklore or traditional medicine, edible vegetable and animal forage.

The overall results showed that the crude fractions of this plant has an appreciable antibacterial activity on the selected microorganisms.

The chemical compounds present in the plant simplifies that *C. procera* extracts could maximally serve as alternative to highly rated synthesized



drugs, whose costs are unaffordable by the common man.

#### REFERENCES

1. World Health Organization. General Guidelines for Methodologies on Research and Evaluation of Traditional Medicine. Manila; 2000.
2. De Smet P. Medicine in Europe-Relaxing regulatory standards. *N Engl J Med.* 2005;352(12):1176–8.
3. Griggs JK, Manandhar NP, Towers G., Tailor RS. The effects of activity of medicinal plants from Nepal. *J Ethnopharmacol.* 2001;77:247–52.
4. Ahmad I, Mehmood Z, Mohammad F. Screening of some Indian medicinal plants of their antimicrobial properties. *J Ethnopharmacol.* 1998;62:183–93.
5. Akharaiyi C-F, Boboye B. Antibacterial and Phytochemical Evaluation of Three Medicinal Plants. *J Nat Prod.* 2010;3:27–34.
6. Stevens PF. Angiosperm Phylogeny Website. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb>. 2017.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute C. M45-A2: Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria. *Clin Lab Stand Inst.* Wayne, PA: 2010;30(2):77.
8. Martins S, Amorim ELC, Peixoto Sobrinho T, Saraiva AM, Pisciotano MNC, Aguilar CN, et al. Antibacterial activity of crude methanolic extracts and fractions obtained from *Larrea tridentata* leaves. *Ind Crops Prod.* 2013;41:306–11.
9. Zhang L., Wang YM, Xu M. Preparation and antimicrobial activity of tannin polymers from *Platycarya strobilacea* infructescence. *Mater Res Innov.* 2014;18(2):1046–9.
10. Nenaah GE. Antimicrobial activity of *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) and isolation of four flavonoids glycosides as the active constituents. *World J Microbiol Biotechnol.* 2013;29(7):1255–62.
11. Ogundare AO, Adetuyi FC, Akinyosoye FA. Antimicrobial activities of *Vernonia tenoreana*. *African J Biotechnol.* 2006;5(18):1663–8.

## Release of sodium and potassium ions of *Calotropis procera* extract on selected pathogenic organisms

Oluwakemi-Sola, Asoso<sup>1</sup>; K.O., Oladunmoye M.K.<sup>2</sup> ; A.O., Ogundare<sup>2</sup>  
(Recibido: Febrero - 2018, Aceptado: Mayo - 2018)

<sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Afe Babalola University, Ado-Ekiti, Nigeria, E-mail address: oyesolakemi@gmail.com

<sup>2</sup> Department of Microbiology, School of Sciences, Federal University of Technology, Akure, Ondo State, Nigeria. E-mail: chourtar@yahoo.com.

### Abstract

The rate of release of sodium and potassium ions by aqueous, ethanol, methanol and acetone extract of leaves and stem of *Calotropis procera* were investigated on selected pathogenic microorganisms in the genera of *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Malazzesia furfur* ATCC 44349 and their typed isolates using flame photometer. The aqueous extract was found to be more effective in some organisms in the leakage of sodium and potassium ions whereas other solvent like acetone and methanol extract also were more effective in other type of organisms. For example; the amount of sodium released by stem extracts showed that *S. typhi* and *C. albicans* had the highest amount of 23 and 24mg/ml respectively while *E. coli* had the highest amount of sodium released by stem extracts of 20mg/ml. The comparison of the amount of sodium and potassium ions released by the plant extracts with two commercial antibiotics (Tetracycline and Amoxicillin) showed that the amount of sodium released by both amoxicillin and tetracycline of *Calotropis procera* using selected pathogenic organisms were higher than the amount of potassium ion released.

**Keywords:** bacteria; *Calotropis procera*; pathogenic organisms; sodium ions; potassium ions; plant extracts.

## Liberación de iones sodio y potasio en extracto de *Calotropis procera* Linn en determinados microorganismos patógenos

### Resumen

Se investigó la tasa de liberación de iones de sodio y potasio para los extractos acuoso, etanólico, metanólico y en acetona de hojas y tallo de *Calotropis procera procera* L en microorganismos patógenos seleccionados de los géneros de *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Malazzesia furfur* ATCC 44349 y sus tipos de aislantes, usando la técnica de fotometría de llama. Se encontró que el extracto acuoso era más efectivo para algunos organismos en la salida de sodio e iones del potasio; mientras que otros extractos con solventes como acetona y metanol, también eran eficaces para otro tipo de organismos. Por ejemplo, la cantidad de sodio liberado por los extractos de tallo, mostró que *S. typhi* y *C. albicans* presentaron la mayor cantidad de 23 y 24 mg/ml respectivamente. A diferencia de *E. coli*, que tuvo la mayor cantidad de sodio liberada de 20 mg/ml por extractos de tallo. La comparación de la cantidad de iones de sodio y potasio liberados por los extractos de la planta con dos antibióticos comerciales (tetraciclina y amoxicilina), mostró que la cantidad de sodio liberado por amoxicilina y tetraciclina de *Calotropis procera*, usando organismos patógenos seleccionados, fue mayor que la cantidad de iones de potasio liberados.

**Palabras Clave:** *Calotropis procera*; bacterias; extracto de plantas; iones de sodio; iones de potasio; organismos patógenos.

## INTRODUCTION

*Calotropis procera* holds a reputed position as a medicinal plant in different systems of medicine in India. All parts possess valuable medicinal properties. According to Ayurvedic medicine, the whole plant is alexipharmic and cures leprosy, ulcers, and spleen and liver diseases. The juice is laxative, anthelmintic and cures piles. Root bark is diaphoretic and cures asthma and syphilis. Flowers are analgesic, astringent and cure inflammations and tumors. Basu and Chaudhuri (1) found anti-inflammatory activity in rats of a chloroform-soluble fraction from the roots. Jain et al. (2) investigated antimicrobial activity of *C. procera*. The maximum inhibitory activity was observed in ethanol extracts of root bark against *Enterobacter cloacae* and of stem against *Fusarium moniliforme*. The latex of *C. procera* is used in traditional medicine as a purgative, antisyphilitic and antidontalgic agent and as a cure for verrucas.

Extracts from latex, leaves and flowers in Morocco had more effect on yeasts than on fungi. According to the Unani system of Medicine (3), this plant is useful against leprosy, scabies, and ringworm of the scalp, piles, asthma, liver and spleen enlargement and dropsy. *Calotropis procera* extracts can be used as a coagulant in cheese-making (4) (5). The uses of this plant from NIF (National Innovation Foundation) database for Asthma; the flower powder is used, Ear Ache; the latex of the plant is used, according to literature the plant extract is used as bronchodilator (6); flower buds of *Calotropis*, along with black pepper seeds and salt, are crushed to make pills the size of small peas.

The number of mechanisms exists for the antimicrobial activities of many antimicrobial agents including plant extracts (7). There has not been any information on the release of sodium and potassium ions by extract from *Calotropis procera*. The present study was aimed at determining the leakage of sodium ions by extracts of *Calotropis procera* on some selected pathogenic bacteria so as to determine whether the antimicrobial activities and medicinal properties of the plants is due to leakage of protoplasmic materials or not (8)(9).

## Materials and method

### Collection of plant samples

Apparently healthy plant namely *C. procera* were

collected from Ado-Ekiti, Ekiti State Nigeria.

### Preparations of Plant Extracts

The plants parts leave and stem were air-dried for 5 weeks at room temperature (25 + 2 °C) and then ground to powder with a mechanical grinder (Thomas Wiley machine, model 5 USA). Powders (200g) of each plant were extracted with 1 litre of sterile aqueous water, ethanol, methanol and acetone separately at room temperature (25 + 2 °C). They were labeled as crude extracts.

### Sources of test isolates

They include type cultures of bacteria and fungi from American type culture collection center (ATCC) at NIMR (Nigeria Institute of medical research) and the clinical isolates from the stock

### Bacteria

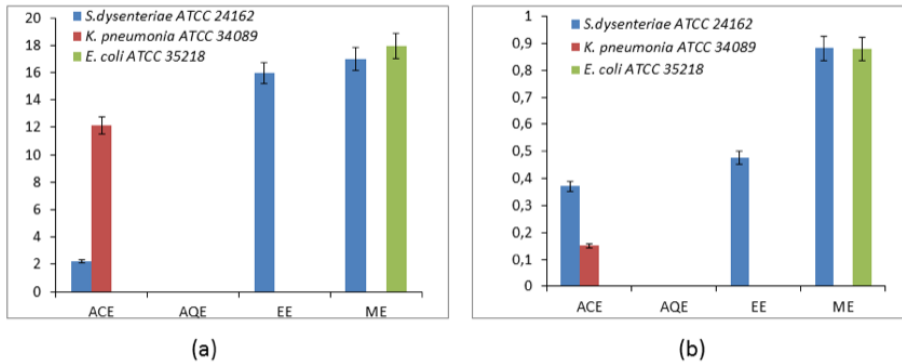
*Shigella dysenteriae*, *S. dysenteriae* ATCC 24162, *E. coli*, *E. coli* ATCC 35218, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhi*, *S. typhi* ATCC 22648, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae*, and *K. pneumoniae* ATCC 34089

### Determination of sodium and potassium ion leakage

Exactly 0.5 ml each of the standardized organism was added to 4.5 ml of the prepared concentration of the leaf extracts and then incubated for 18 hours. The solution was centrifuged at 7000 revolutions per minute (r. p. m.) and the supernatant analyzed using a flame photometer at 589 nm and 766 nm for sodium and potassium ion leakage respectively. The sodium and potassium ion leakage was determined using the method of Oladunmoye et al. (10).

## RESULTS

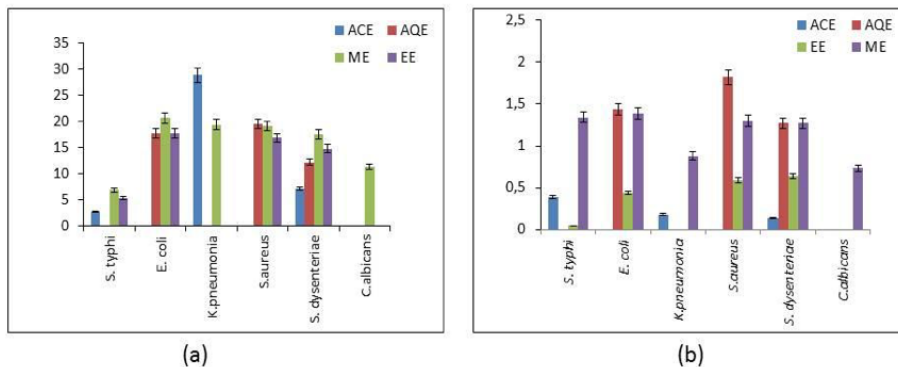
The amount of sodium released by leaf extract using some typed isolates namely *S. dysenteriae* ATCC 24162, *K. pneumoniae* ATCC 34089 and *E. coli* ATCC 35218; *E. coli* ATCC 35218 had the highest amount of sodium in methanol-leaf extract (Figure 1a). The content of potassium released by leaf extracts especially for methanol leaf extracts was higher for both *E. coli* ATCC 35218 and *S. dysenteriae* ATCC 24162 with value of 0.9 mg/ml (Figure 1b).



Plant extracts: Ace- acetone extract (ACE), Aqe- aqueous extract(AQE), E- ethanol extract (EE), Me- methanol extract (ME)  
**Figure 1.** Amount of ions (mg/ml) released by leaf extracts of *Calotropis procera* using some typed cultures: (a) sodium (b) potassium.

The aqueous leaf extract had the highest amount of sodium especially in *K. pneumoniae* followed by methanol leaf extract in almost all the organisms (Figure 2a). The amount of potassium leakage by

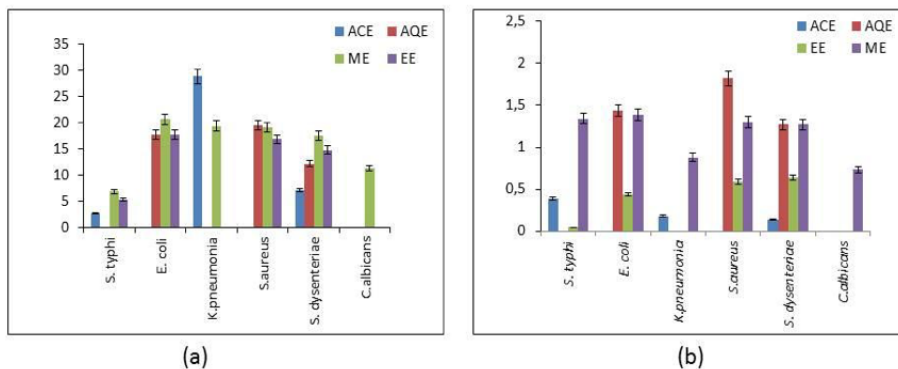
leaf extracts for clinical isolates was also carried out; whereby aqueous and methanol leaf extracts had highest amount of potassium compared to other leaf extracts (Figure 2b).



Ace- acetone extract (ACE), Aqe- aqueous extract(AQE), E- ethanol extract (EE), Me- methanol extract (ME)  
**Figure 2.** Amount of ions (mg/ml) released by leaf extracts of *Calotropis procera* by leaf extracts using some clinical isolates: (a) sodium (b) potassium.

*Candida albicans* ATCC 10231 and other isolates were tested on stem extracts of *Calotropis procera*; the amount of sodium in *C. albicans* ATCC 10231 was higher than other isolates in all the stem

extracts (Figure 3a). The amount of potassium released by the stem extracts especially aqueous and methanol had the highest amount of potassium of about 1.8mg/ml in *C. albicans* (Figure 3b).



Ace- acetone extract (ACE), aqe- aqueous extract(AQE), ee- ethanol extract (EE), me- methanol extract (ME)  
**Figure 3.** Amount (mg/ml) released by stem extracts of *Calotropis procera* using some typed isolates: (a) sodium (b) potassium.

Figure 4a shows that the amounts of sodium released by stem extracts of *C. procera* were higher in *S. typhi* compared to other isolates. The amount of potassium released by stem extracts using some clinical isolates

like *S. typhi*, *E. coli*, *S. dysenteriae* and *C. albicans* was also determined; it was observed that aqueous extract had highest amount of potassium in *S. typhi* isolates (Figure 4b).

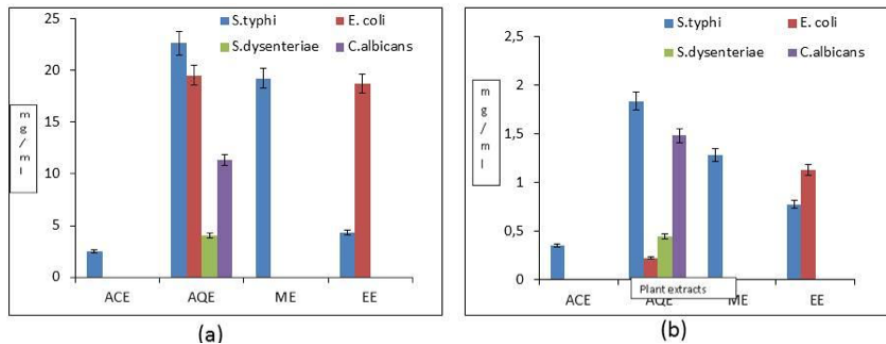


Figure 4. Amount of ions (mg/ml) release by stem extracts of *Calotropis procera* using some clinical isolates: (a) sodium (b) potassium.

Antibiotics (Tetracycline) was used as a control, the amount of sodium released was lower in all the

organisms compared to the extracts; whereby *S. typhi* had the highest amount of sodium (Figure 5a).

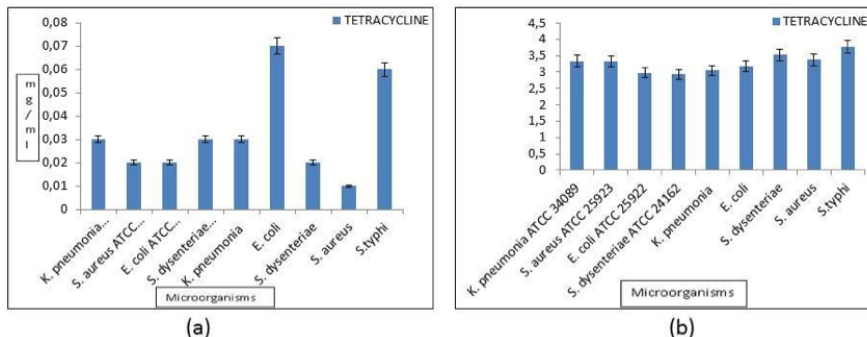


Figure 5. Amount of ions (mg/ml) released by antibiotics (tetracycline) of *Calotropis procera* using some typed and clinical isolates: (a) potassium (b) sodium.

The amount of sodium ion released by amoxicillin using some isolates was also determined and it was observed that all the isolates had almost the same amount of sodium (Figure 6a).

Potassium leakage released by antibiotics (amoxicillin) shows that *E. coli* ATCC 35218, *K. pneumoniae* ATCC 34089 and *S. dysenteriae* had the highest amount of potassium (Figure 6b).

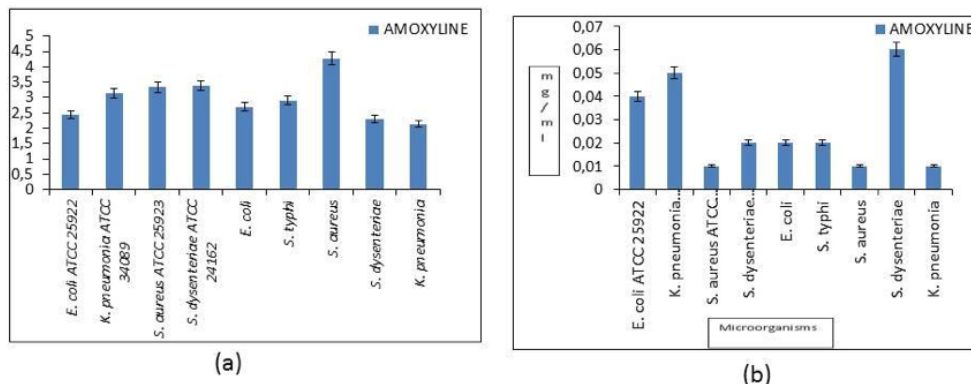


Figure 6. Amount of ions (mg/ml) released by antibiotics (amoxicillin) of *Calotropis procera* using some typed and clinical isolates: (a) sodium (b) potassium.

## DISCUSSION

Generally, the release of these ions might be responsible for the bacteriostatic and bactericidal activities of the extract. Na and K ions had been shown to activate enzyme which in turn mediate the biosynthetic processes in bacteria. The rate of leakages of these ions varies from one organism to other and the variation might be due to the difference in the nature of cell wall composition (Oladunmoye et al. (10). The amount of sodium ion released is different from amount of potassium which may be due to the difference in the molecular size of these ions. The leakage of these ions might be responsible for the inhibitory activities of the extracts. Mailard (7) has reported that one of the mechanisms of action of antimicrobial agents might be due to the release of these ions.

The amount of sodium is greater than the amount of potassium which may be due to the differences of the molecular size of the two ions. Generally, sodium ions are readily released into the medium than potassium ions and this might be due to the fact that sodium ions content (24g) is much smaller than that of potassium ions (34g) (11). The amount of ions released varies in different extracts which may be due to the capability of how each of the solvent and aqueous can extract.

Usually, the release of the ions may explain the antimicrobial activity of *Calotropis procera* and thus may justify its use for ethnomedicine (12).

## REFERENCES

1. Basu A, Chaudhuri AKN. Preliminary studies on the anti-inflammatory and analgesic activities of *Calotropis procera* root extract. *J Ethnopharmacol.* 1991;31(3):319–24.
2. Jain SC, Sharma R, Sharma RA. Antimicrobial activity of *Calotropis procera*. *Fitoterapia.* 1996;67(3):275–6.
3. Torres-Nuñez AR. Medicina Unani, un equilibrio entre el cuerpo y su naturaleza. *Ciudad Yoga* [Internet]. 2014; Available from: <http://revista.ciudadyoga.com/medicina-alternativa/132-medicina-unani-un-equilibrio-entre-el-cuerpo-y-su-naturaleza>
4. Adegoke GO, Nse EN, Akani AO. Effects of heat, processing time and pH on the microflora, aflatoxin content and storability of wara; a soft, white cheese. *Ahrung.* 1992;36(3):259–64.
5. Issa Ado R, Mahamadou EG, Garric G, Harel-Oger M, Jardin J, Briard-Bion V, et al. Physico-chemical characterization of milk coagulation with an extract of *Calotropis procera* - A comparison with chymosin. Vol. 1, hal-01523756. 2017.
6. Uses of *Calotropis procera* [Internet]. National Innovation Foundation-India. Available from: [http://nif.org.in/Calotropis procera](http://nif.org.in/Calotropis%20procera)
7. Maillard JY. Bacterial Target site of Biocide action. *J Appl Microbiol.* 2002;92:16–27.
8. Ahmad I, Beg A. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *J Ethnopharmacology.* 2001;74(2):113–23.
9. Salem WM, Sayed WF, Haridy M, Hassan NH. Antibacterial activity of *Calotropis procera* and *Ficus sycomorus* extracts on some pathogenic microorganisms. *African J Biotechnol.* 2014;13(32):3271–80.
10. Oladunmoye MK, Adetuyi FC, Akinyosoye FA. Release of sodium and potassium ions by aqueous and ethanolic extract of *Cassia occidentalis* on some selected bacteria. *Trends Appl Sci Res.* 2007;2:85–7.
11. Evans CW. Trease and Evans Pharmacognosy. 16th Edn. Elsevier, editor. Sands Edinburgh U.K.; 2009. 595 p.
12. Gomah E, Essam M. Antimicrobial Activity of Extracts and Latex of *Calotropis procera* (Ait.) and Synergistic Effect with Reference Antimicrobials. *Research Journal of Medicinal Plants.* 2011; 5: 706-716.

## Metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de las hojas de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil)

Ruth, Vélez<sup>1</sup>; Haydelba, D'Armas<sup>2,3\*</sup>; Carmita, Jaramillo-Jaramillo<sup>1</sup>; Elington, Vélez<sup>1</sup>

(Recibido: Diciembre - 2017, Aceptado: Abril - 2018)

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud, Universidad Técnica de Machala, UTMACH, Machala, Ecuador  
<sup>2</sup>Facultad de Ciencias de la Ingeniería, Universidad Estatal de Milagro, Milagro, Ecuador; <sup>3</sup>Laboratorio de Productos Naturales y Lípidos, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente, Cumana, Sucre, Venezuela.  
 E-mails: hdamasr@unemi.edu.ec; htrinidad86@hotmail.com

### Resumen

Los ejemplares de las especies vegetales *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil), se recolectaron al azar en la localidad de Machala, Ecuador. Las hojas fueron lavadas, secadas, molidas y extraídas por maceración con metanol; los filtrados concentrados por evaporación a presión reducida. A cada extracto, se le realizaron pruebas fitoquímicas y ensayos biológicos como: actividad antimicrobiana (antibiograma: difusión en agar) y letalidad con *Artemia salina*. Los extractos de *C. citratus* y *M. officinalis* revelaron la presencia de esteroides insaturados, triterpenos pentacíclicos, fenilpropanoides y catequinas. Mientras que en el de *M. officinalis* se detectaron, además, cumarinas y metilencetonas. Los extractos de ambas especies (soluciones de 20 y 40 mg/L) mostraron actividad antibacteriana contra las cepas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, a excepción de los extractos metanólicos de *M. officinalis* (20 mg/L) y *C. citratus* (40 mg/L) que no exhibieron actividad frente a *E. coli*. La especie *C. citratus* mostró el mayor efecto antibacteriano contra las bacterias *P. aeruginosa* y *S. aureus* (halos de inhibición > 15mm). Se observó una actividad antifúngica alta del extracto de *C. citratus*, y una actividad moderada del extracto de *M. officinalis*, contra la cepa del hongo *Candida albicans*. *C. citratus* y *M. officinalis* mostraron una actividad letal significativa (CL50 <1000 µg/ml) frente a nauplios de *A. salina* a las 24 h de exposición: 358,03 y 72,25 µg/ml respectivamente. La especie *M. officinalis* presentó la mayor letalidad, considerado altamente tóxico según CYTED. A partir de los resultados obtenidos, se puede inferir que las plantas *C. citratus* y *M. officinalis* cultivadas en Ecuador son una fuente promisoriosa de metabolitos secundarios bioactivos con actividad farmacológica (antimicrobianos y citotóxicos).

**Palabras Clave:** actividad tóxica; actividad antimicrobiana; fitoquímica; *Artemia salina*; *Cymbopogon citratus*; *Melissa officinalis*

## Secondary metabolites, antibacterial activity and lethality of *Cymbopogon citratus* (lemon verbena) and *Melissa officinalis* (lemon balm)

### Abstract

The specimens of the plant species *Cymbopogon citratus* (lemon-grass) and *Melissa officinalis* (lemon-balm), were collected at random in the town of Machala, Ecuador. The leaves were washed, dried, ground and extracted by maceration with methanol; the filtrates concentrated by evaporation at reduced pressure. Each extract was subjected to phytochemical tests and biological tests such as: antimicrobial activity (antibiogram: agar diffusion) and lethality with *Artemia salina*. Extracts of *C. citratus* and *M. officinalis* revealed the presence of unsaturated sterols, pentacyclic triterpenes, phenylpropanoids and catechins. While in *M. officinalis* were detected, in addition, coumarins and methylene ketones. The extracts of both species (solutions of 20 and 40 mg / L) showed antibacterial activity against the strains *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, with the exception of the methanolic extracts of *M. officinalis* (20 mg / L) and *C. citratus* (40 mg / L) that did not exhibit activity against *E. coli*. The species *C. citratus* showed the greatest antibacterial effect against the bacteria *P. aeruginosa* and *S. aureus* (halos of inhibition > 15mm). A high antifungal activity of the extract of *C. citratus* was observed, and a moderate activity of the extract of *M. officinalis*, against the strain of the fungus *Candida albicans*. *C. citratus* and *M. officinalis* showed significant lethal activity (LC50 <1000 µg / ml) against *A. salina* nauplii at 24 h exposure: 358.03 and 72.25 µg / ml respectively. The species *M. officinalis* had the highest lethality, considered highly toxic according to CYTED. From the results obtained, it can be inferred that the plants *C. citratus* and *M. officinalis* cultivated in Ecuador are a promising source of bioactive secondary metabolites with pharmacological activity (antimicrobial and cytotoxic).

**Keywords:** toxic activity; antimicrobial activity; *Artemia salina*; *Cymbopogon citratus*; phytochemistry; *Melissa officinalis*.

## INTRODUCCIÓN

Hasta el siglo XVIII se conocían las propiedades curativas de las plantas, su efecto sobre el organismo y su modo de aplicación, pero se desconocían sus principios activos. Con el desarrollo de las teorías de la evolución y herencia genética, el uso del microscopio y el nacimiento de ciencias como la fitoquímica y de técnicas como el análisis instrumental, fue posible el reconocimiento y el aislamiento de los principios activos de muchas plantas medicinales (1).

Se han utilizado diversas técnicas microbiológicas para demostrar la actividad antimicrobiana de plantas frente a microorganismos patógenos para el hombre. Entre ellas la utilización de extractos. El extracto de plantas es una mezcla compleja, con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos y/o químicos a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología; en general, los extractos son soluciones diluidas de metabolitos secundarios (2).

El aumento de la confianza en el uso de plantas medicinales y productos derivados se ve reflejado por su empleo mayoritario tanto en países en vías de desarrollo (80%), como en los países desarrollados (50-60%). Esta realidad se puede potenciar aún más en un país como Ecuador, poseedor de una enorme biodiversidad y de un importante bagaje de conocimientos ancestrales sobre el empleo de plantas como alternativa curativa (3).

Ecuador cuenta con centenares de plantas aromáticas y medicinales. Por lo tanto, en el país el uso de plantas medicinales está inmerso en la cotidianidad de sus habitantes. La medicina popular se practica principalmente por habitantes de zonas rurales, pero también por ciudadanos de toda clase social. Se pueden encontrar gran variedad de plantas con usos medicinales que se expenden en mercados de la Sierra, Costa y Amazonía (4).

En las comunidades rurales de Ecuador, se usa ampliamente un sin número de plantas medicinales, sin que todas estas tengan un estudio científico de sus propiedades, estas prácticas se basan solamente en el conocimiento empírico y en la experiencia de los pueblos. Tal es el caso de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y toronjil (*Melissa officinalis*), que son usadas por la población rural con la creencia de que posee grandes propiedades medicinales para aliviar diferentes afecciones, siendo utilizada

como calmante, antiinflamatorio, contra el dolor de estómago y afecciones cutáneas en general (5).

La mayoría de las especies del género *Cymbopogon* (Poaceae) han sido ampliamente usadas para el tratamiento de enfermedades, de los nervios y gastrointestinales; también se utilizan como antiespasmódicos, analgésicos, antiinflamatorios, antipiréticos, diuréticos y sedativos (6). A su vez, las plantas del género *Melissa* (Lamiaceae) son muy utilizadas en diversas preparaciones aromáticas por sus propiedades carminativas y sedantes, como estimulante digestivo y son indicadas en el tratamiento de espasmos gastrointestinales; sus hojas también presentan actividad antibacteriana y antiviral (7.)

Este trabajo de investigación se enfocó en un análisis de las hojas de hierba luisa (*Cymbopogon citratus*) y toronjil (*Melissa officinalis*), con el propósito de determinar las familias de compuestos químicos (metabolitos secundarios que brindan la acción terapéutica o toxica) y su acción farmacológica (actividad antimicrobiana y letalidad contra *A. salina*). Este estudio brinda un amplio conocimiento sobre la composición química y el porqué de las propiedades medicinales de dichas plantas a la población que emplea estas especies, de tal manera que se pueda emplear como principios activos en la elaboración de fitofármacos.

## DESARROLLO

### Metodología

#### Recolección de las muestras.

Los ejemplares de la especie vegetal *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil) fueron recolectados en la ciudad de Machala (Provincia del Oro: 65-85 % de humedad relativa y temperatura promedio de 26 °C), Ecuador. Según su calidad organoléptica, se seleccionaron las hojas sanas para realización de los análisis, siendo procesados en el laboratorio, sin almacenamiento previo. La identificación de la especie fue realizada por el Botánico Jesús Inca del Herbario de Quito, Ecuador.

#### Obtención de los extractos.

Las hojas de cada planta se lavaron con agua destilada y fueron secadas a temperatura ambiente por 24 horas y posteriormente en una estufa (Memmert SNB 400 con flujo de aire) a 40 °C por



24 horas. Luego, se pulverizaron con un molino (Lab. Mill serial No. 56969, Type AR 400 Erweka®, Germany) y se pesaron. Los extractos se obtuvieron por maceración del polvo de las hojas con metanol 100% puro por 72 horas. Los extractos fluidos se filtraron y el residuo se re-extrajo con metanol por 48h; los filtrados combinados fueron concentrados a presión reducida (aprox. 11 mbar) y 40 °C en un rotaevaporador marca Hidolph, obteniéndose el extracto metanólico crudo para cada especie. Se determinó la masa de cada uno de los extractos de ambas plantas.

#### **Análisis Fitoquímico.**

Para detectar las familias de compuestos presentes en los extractos de las esponjas se llevaron a cabo pruebas químicas específicas, las cuales permitieron apreciar la posible presencia o ausencia de cumarinas y fenilpropanoides (8); alcaloides, saponinas, glicósidos cardiotónicos, glicósidos cianogénicos, esteroleos insaturados y triterpenos pentacíclicos, taninos y polifenoles, antraquinonas y metilencetonas, siguiendo la metodología de (9).

#### **Actividad antibacteriana.**

Se utilizó la técnica de difusión en agar, según la metodología descrita por Bauer et al. (10), empleándose cepas de bacterias certificadas: una Gram positiva (*Staphylococcus aureus*) y dos Gram negativas (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*), pertenecientes a la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC). La misma consistió en impregnar discos estériles de papel de filtro Whatman N° 3 de 6 mm de diámetro con 10 µl de una solución preparada (20 y 40 mg/ml) del extracto a analizar. Estos discos se colocaron dentro de cajas de Petri que contenían agar Mueller-Hinton, inoculadas con una suspensión bacteriana de concentración conocida (1x10<sup>8</sup> bacterias/ml), preparada por comparación con un patrón comercial estándar N° 0,5 de McFarland. Posteriormente, las cajas se preincubaron a 5°C durante 12 horas, para permitir la difusión del extracto, y luego, se incubaron a 37°C durante 48 horas, para permitir el crecimiento bacteriano. Las zonas claras que se formaron alrededor de los discos, se consideraron halos de inhibición, los

cuales fueron medidos, registrando para cada caso el diámetro en milímetros de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano.

#### **Actividad antifúngica.**

Se siguió la técnica descrita por Madubunyi (11), utilizando cepas de un hongo patógeno (*Candida albicans*) de origen clínico. Dicha cepa se incubó por un periodo de 5 a 7 días a temperatura ambiente en un tubo con Agar Papa Dextrosa (PDA). Al cabo de este tiempo, se añadió 10 ml de agua destilada estéril al tubo, se agitó vigorosamente y se filtró a través de un embudo con gasa previamente estéril, para así obtener una suspensión de esporas. La cepa de *C. albicans* se trató siguiendo la metodología de la comparación con un estándar de turbidez 0,5 McFarland. La solución esponjorial obtenida se colocó sobre cápsulas de Petri, previamente preparadas con PDA, empleando hisopos estériles. Posteriormente, se colocaron los discos de papel Whatman N° 3 de 6 mm de diámetro impregnados previamente con el extracto, y luego, se incubaron por dos días a temperatura ambiente. La aparición de halos de inhibición alrededor del disco indicó la actividad fúngica del extracto, los cuales se verificaron tomando en cuenta el diámetro (mm) de los mismos.

#### **Actividad tóxica o letal contra *Artemia salina*.**

Se preparó una solución de 10 000 µg/ml del extracto, en una mezcla H<sub>2</sub>O/DMSO según la solubilidad de éste y, a partir de ésta, se prepararon soluciones de 1 000 - 0,01 µg/ml mediante diluciones sucesivas con agua de mar bifiltrada, en viales que contenían 10 nauplios de *A. salina*, eclosionados con 24 horas de anticipación. Por cada concentración, se realizaron tres réplicas y un control con igual número de réplicas. La cuantificación de la mortalidad de los nauplios se llevó a cabo pasadas las 24 y 48 horas de haber montado dicho ensayo. Los datos obtenidos se utilizaron para calcular la concentración letal media de los extractos y fracciones ensayadas, mediante la aplicación del software LC50 V2.5 diseñado para tal fin, que considera los análisis estadísticos computarizados (Probit, Binomial, Logit y Moving Average) con límites de confianza de 95 % (12, 13).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Obtención de extractos.

Obtenidos todos los extractos metanólicos de las hojas de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil), se determinó la masa de los diversos extractos, así como también, su porcentaje de rendimiento. Se pudo observar un rendimiento mayor para la especie *M. officinalis* (5,95%) y menor para *C. citratus* (3,92%), estos valores dependen de distintos factores como las condiciones agronómicas del suelo, las malezas presentes que compiten por nutrientes con la planta, el momento en el que se cosechan y las partes usadas para la extracción, de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (14).

### Análisis Fitoquímico.

Se realizaron las pruebas químicas para determinar la posible presencia de familias de

metabolitos secundarios en los extractos de las hojas de las especies en estudio. Como puede observarse en la Tabla 1, el extracto de *C. citratus* es más rico en metabolitos secundarios que el extracto de *M. officinalis*, contiene un 46,15 % de familias de compuestos, siendo éstos: cumarinas, metilencetonas, esteroides insaturados, triterpenos, fenilpropanoides y catequinas; a diferencia del extracto metanólico de *M. officinalis* que contiene un 30,77 % de metabolitos y mostró la presencias de los mismos compuestos químicos que *C. citratus*, excepto la ausencia de cumarinas y metilencetonas. En ambas especies no se observó la presencia de alcaloides, taninos, polifenoles, saponinas, glicósidos y flavonoides. Es de hacer notar que el metanol, al ser un solvente muy polar, tiene la capacidad de extraer en su gran mayoría los metabolitos secundarios presentes en las hojas.

**Tabla 1.** Familia de metabolitos secundarios presentes en el extracto metanólico de las hojas de las especies en estudio.

Familia de metabolitos	C. citratus	M. officinalis	% de metabolitos pertenecientes a la misma familia química
Saponinas	-	-	0
Taninos y polifenoles	-	-	0
Glicósidos cardiotónicos	-	-	0
Glicósidos cianogénicos	-	-	0
Alcaloides	-	-	0
Cumarinas	+	-	50
Metilencetonas	+	-	50
Flavonoides	-	-	0
Esteroides insaturados	+	+	100
Triterpenos	+	+	100
Fenilpropanoides	+	+	100
Antraquinonas	-	-	0
Catequinas	+	+	100
% de metabolitos presentes en cada extracto	46,15	30,77	

Mediante un estudio farmacológico y tamizaje químico realizado a un extracto hidroalcohólico de *C. citratus*, se corroboró la presencia de compuestos reductores, alcaloides, taninos, flavonoides y triterpenos (15). En otra investigación realizada a extractos alcohólicos y aceites esenciales de especies del género *Melissa*, se identificaron

algunos compuestos orgánicos como taninos, polifenoles, flavonoides, glicósidos, alcaloides y esteroides en los extractos, y terpenos en las esencias (16). Sin embargo, la mayoría de estos metabolitos no fueron detectados en los extractos orgánicos analizados tanto de *C. citratus* como de *M. officinalis*.

**Actividad letal o tóxica.**

Este bioensayo es un indicador de la actividad antitumoral de extractos vegetales y/o compuestos químicos presentes en los mismos. Inicialmente, se determinó que existe una correlación positiva entre la mortalidad de las larvas de *Artemia* y la citotoxicidad frente a las células cancerígenas. De este modo, es posible detectar y entonces monitorear el fraccionamiento de extractos con actividad citotóxica, utilizando el ensayo de mortalidad de larvas, más que otros ensayos antitumorales in vivo o in vitro que resultan más tediosos y costosos (17).

La Tabla 2 muestra el porcentaje de mortalidad del extracto en metanol de *C. citratus* frente a larvas de

*A. salina*, ensayada a distintas concentraciones del extracto, observándose que a mayor concentración, hubo un mayor porcentaje de larvas muertas, específicamente un 20% de los organismos murieron a una concentración de 100 µg/ml y no hubo mortalidad en los rangos de 1 a 10 µg/ml. Adicionalmente, la Tabla 3 presenta la concentración letal media del extracto de metanol de *C. citratus* (CL<sub>50</sub> = 358,03 µg/ml), resultado validado con el método estadístico Moving Average, dentro de los límites de confianza, determinándose por lo tanto que el extracto de las hojas de *C. citratus* es moderadamente tóxico según las Categorías de toxicidad del CYTED (18).

**Tabla 2.** Citotoxicidad del extracto de metanol de *C. citratus* frente a *A. salina*

Concentraciones ( µg/ml )	N° de nauplios		
	Expuestos	Muertos	Porcentaje (%) de mortalidad
1000	31	25	80,6
100	30	6	20,0
10	30	0	0,0
1	30	0	0,0
Control	30	2	6,7

Control: Solución de dimetilsulfóxido (500µl) en 3,6ml de agua de mar.

**Tabla 3.** Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) del extracto de metanol de *C. citratus*

Método Estadístico	CL <sub>50</sub> (µg/ml)	Límites de confianza del 95%	
		Mínimo	Máximo
Binomial	358,03	100,00	1000,00
Moving Average	<b>358,03</b>	236,14	558,99
Probit	366,31	231,78	589,14
Logit	336,89	0,00	∞

CL<sub>50</sub>: 358,03 µg/ml

La Tabla 4 revela el porcentaje de mortalidad del extracto metanólico de las hojas de *M. officinalis* frente a larvas de *A. salina*, con la variación de las concentraciones, observándose que a mayor concentración mayor porcentaje de larvas muertas; es evidente que a la concentración de 100 µg/ml hay un porcentaje de organismos muertos mayor a la media de organismos bioensayados (53,3%) y que a la más baja concentración, no hubo mortalidad.

La Tabla 5 muestra una CL<sub>50</sub> de 72,25 µg/ml para el mismo extracto de *M. officinalis*, usando método estadístico *Moving Average*, dentro de los límites de confianza. Por lo tanto, se podría decir que este extracto posee una letalidad muy significativa, más potente que el extracto de *C. citratus*, siendo considerado como altamente tóxico según las Categorías de toxicidad del CYTED (18).

**Tabla 4.** Citotoxicidad del extracto de metanol de *M. officinalis* frente a *Artemia salina*

Concentraciones ( $\mu\text{g/ml}$ )	N° de nauplios		
	Expuestos	Muertos	Porcentaje (%) de mortalidad
1000	30	30	100,0
100	30	16	53,3
10	30	4	13,3
1	30	0	0,0
Control	30	2	6,7

**Control:** Solución de dimetilsulfóxido (500 $\mu\text{l}$ ) en 3,6ml de agua de mar.

**Tabla 5.** Concentración letal media (CL50) del extracto de metanol de *M. officinalis*

Método Estadístico	Límites de confianza del 95%		
	CL <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	Mínimo	Máximo
Binomial	100,00	10,00	1000,00
Moving Average	72,25	45,19	122,11
Probit	82,04	51,04	132,07
Logit	90,31	52,46	180,70

CL<sub>50</sub>, 72,25  $\mu\text{g/ml}$

A pesar de que la CL<sub>50</sub> de *M. officinalis* es mucho menor y más letal que la de *C. citratus*, probablemente, ambos son considerados letales y podrían poseer compuestos bioactivos, ya que tienen un CL<sub>50</sub> < 1000  $\mu\text{g/ml}$  (13). Este efecto letal o tóxico observado para ambos extractos metanólicos frente a nauplios de *A. salina*, se debería posiblemente a la presencia de metabolitos secundarios pertenecientes a las familias de: cumarinas, metilcetonas, esteroides insaturados, triterpenos y fenilpropanoides detectados en los ensayos fitoquímicos realizados.

Un estudio reciente realizado sobre la composición química y actividad biológica de cuatro especies del género *Cymbopogon*, demostró la citotoxicidad y la actividad antitripanosomal/antiplasmodial in vitro de sus aceites esenciales (19), lo que está en concordancia con la actividad tóxica observada para *C. citratus* en esta investigación.

#### Actividad antibacteriana.

Los extractos metanólicos fueron probados frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, mostrando inactividad contra estas cepas bacterianas. Sin embargo, esto

no implica que frente a otros microorganismos no puedan presentar cierta actividad inhibitoria (20). En la Tabla 6 se muestran los valores de los halos de inhibición que se obtuvieron en los medios de cultivo sembrados con las cepas de bacterias mencionadas, luego de ser expuestos a una solución de una concentración de 20 mg/ml de cada uno de los extractos metanólicos. Se puede observar que el extracto de *C. citratus* presentó mayor actividad antibacteriana contra la cepa de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *S. aureus*, es decir contra todas las bacterias bioensayadas.

A diferencia de los halos de inhibición medidos, luego de que las bacterias fueron sembradas en los medios de cultivo y expuestas al efecto de una solución de 40 mg/ml de cada extracto (Tabla 7). Se puede observar que el extracto de *M. officinalis* mostró un mayor efecto antibacteriano que el de *C. citratus*, contra la cepa de *E. coli*. En término general, es evidente que la sensibilidad bacteriana de las cepas *P. aeruginosa* y *S. aureus* frente al extracto de *C. citratus* fue mayor a una concentración de 20mg/ml, en relación a lo observado para el extracto de *M. officinalis*.

**Tabla 6.** Actividad antibacteriana de una solución de 20 mg/ml de los extractos metanólicos de las hojas de ambas especies

Bacterias	Halos de inhibición (mm) promedios <sup>a</sup>		
	<i>C. citratus</i>	<i>M. officinalis</i>	Ciprofloxacino <sup>b</sup>
<i>E. coli</i>	14	6	36
<i>P. aeruginosa</i>	31	12	41
<i>S. aureus</i>	36	12	43

a: media de los valores de dos réplicas; b: antibiótico de referencia; disco de 6 mm de diámetro

**Tabla 7.** Actividad antibacteriana de una solución de 40 mg/ml de los extractos metanólicos de las hojas de ambas especies.

Bacterias	Halos de inhibición (mm) promedios <sup>a</sup>		
	<i>C. citratus</i>	<i>M. officinalis</i>	Ciprofloxacino <sup>b</sup>
<i>E. coli</i>	6	15	45
<i>P. aeruginosa</i>	9	13	44
<i>S. aureus</i>	11	13	48

a: media de los valores de dos réplicas; b: antibiótico de referencia; disco de 6 mm de diámetro

Los extractos de plantas tienen un gran potencial como compuestos antimicrobianos contra microorganismos. En estudio realizado en Brasil, se evaluó la actividad antimicrobiana de extractos de plantas y fitoquímicos con microorganismos susceptibles y resistentes a antibióticos, observándose que la asociación de antibióticos y extractos de plantas mostró una actividad antibacteriana sinérgica contra las bacterias resistentes a los antibióticos. Entre ellas la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* fue inhibida por *M. officinalis* y otros extractos ensayados (21). En otra investigación llevada a cabo en varias especies del género *Melissa*, se reportó que sus hojas también presentan actividad antibacteriana y antiviral, como se mencionó previamente (7).

#### Actividad antifúngica.

En el bioensayo de evaluación de la sensibilidad fúngica de una cepa específica de hongo, se

observó la formación de halos de inhibición en los medios de cultivo sembrados con *C. albicans*, luego de ser expuestos a diferentes concentraciones (20 y 40 mg/ml) de ambos extractos (*C. citratus* y *M. officinalis*), lo que confirma la acción inhibitoria del crecimiento de *C. albicans*.

El extracto que mostró un efecto antifúngico mayor (acción inhibitoria moderada) a ambas concentraciones, fue el de *C. citratus*; sin embargo, se puede decir que *C. albicans* exhibió una sensibilidad antifúngica moderada y similar frente a ambos extractos ensayados. Estos resultados obtenidos están en concordancia con un estudio realizado con extractos de hojas de *Rosmarinus officinalis* y *Melissa officinalis*, dichos extractos presentaron propiedades antifúngicas sobre especies de hongos aisladas del género *Candida*; aunque el de *Melissa officinalis* mostró halos de inhibición de mayor diámetro (22).

**Tabla 8.** Actividad antifúngica de los extractos metanólicos de las hojas de ambas especies

Hongo	Concentración (mg/ml)	Halos de inhibición (mm) promedios <sup>a</sup>		
		<i>C. citratus</i>	<i>M. officinalis</i>	Cloranfenicol <sup>b</sup>
<i>C. albicans</i>	20	12	11	42
<i>C. albicans</i>	40	19	17	45

a: media de los valores de dos réplicas; b: antifúngico de referencia; disco de 6 mm de diámetro

## CONCLUSIONES

La hojas de las plantas estudiadas exhibieron un efecto antibacteriano y antifúngico significativo contra las cepas de bacterias Gram (+) y Gram (-), y hongo ensayado (*C. albicans*).

Ambas especies vegetales analizadas constituyen una fuente promisorio de compuestos químicos antimicrobianos y antitumorales.

Algunos de los metabolitos secundarios detectados en los extractos de ambas plantas, podrían ser responsables de la antibiosis observada en las pruebas de actividad biológica, y se podría inferir que dichas plantas, usadas tradicionalmente en la medicina popular de Ecuador, constituyen una fuente promisorio de compuestos químicos de interés farmacológico.

## Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Proyecto Prometeo de la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología de la República de Ecuador (SENESCYT) por el financiamiento de esta investigación.

## REFERENCIAS

1. Fonnegra R, Jiménez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Colombia: Universidad de Antioquia; 2007. 343p.
2. Ortuño M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. España: AIYANA; 2006. p 223-224.
3. Oliveira M, Velázquez D, Bermúdez A. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales. *Revista de Ciencia y Tecnología de América*. 2005; 30 (8): 453-459.
4. De La Torre L, Alarcón D, Kvist L, Salazar J. Usos medicinales de las plantas. Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador. Ecuador: Herbario QCA & Herbario AAU; 2008. p 105-114.
5. Cabrera Y, Fadrugas A, Guerrero L. Antibióticos naturales. Mito o realidad. *Revista Cubana de Medicina General Integral*. 2005; 21 (3-4):1-2.
6. Santin M, Dos Santos A, Nakamura C, Dias B, Ferreira I, Ueda-Nakamura T. In vitro activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* and its major component (citral) on *Leishmania amazonensis*. *Parasitol Res*. 2009; 105(6): 1489-96.
7. Sánchez E, León M, Chávez D, Hechevarría I, Pino J. Caracterización farmacognóstica de *Melissa officinalis* (toronjil). *Rev Cubana Plant Med*. 2010; 15 (4): 198-208.
8. Murillo E, Méndez J. Guía metodológica para la detección rápida de algunos metabolitos secundarios y caracterización de una droga cruda. Colombia: Universidad de Tolima; 2011.
9. Marcano D, Hasegawa M. Fitoquímica Orgánica. Venezuela: Universidad Central de Venezuela-Torino; 2002. 128p.
10. Bauer A, Kirby A, Sherris J, Turk M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 1966; 45 (4): 493-496.
11. Madubunyi I. Antimicrobial activities of the constituents of *Garcinia kola* seeds. *Intern. J. Pharm*. 1995; 33(3): 232-237.
12. Stephan CE. Methods for calculating an LC50. In: Mayer FL, Hamelink J. Editors. Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation: ASTM STP 634. Philadelphia: American Society for Testing and Material; 1977. p 65-84.
13. Meyer B, Ferrigni N, Putnam J, Jacobsen L, Nicols D, McLaughlin J. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Médica*. 1982; 45(1): 31-34.
14. World Health Organization. WHO. Monographs on Selected Medicinal Plants; 1999. p 295. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2200e/s2200e.pdf>.
15. Betancourt E, González Y, Escobar R, Bermúdez D, Blanco F, Martínez C. Evaluación del potencial hipolipemiante de *Cymbopogon citratus* S. en un modelo de hiperlipidemia aguda. *Medicentro Electrónica*. 2015; 19 (1): 2-12.
16. Moradkhani H, Sargsyan E, Bibak H, Naseri B, Sadat-Hosseini M, Fayazi-Barjin A, Meftahzade H. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. *Journal of Medicinal Plant Research*. 2010; 4(25): 2753-2759.
17. Pino O, Lazo J. Ensayo de *Artemia*: útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. *Revista de Protección Vegetal*. 2010; 22 (1): 35-36.
18. CYTED. (Ciencia y Tecnología para el Desarrollo). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación. España: Editor Pinzón; 1995, p 45-49.

19. Kpoviessi B, Accrombessia G, Frédérique M, Moudachirouc M, Quetin-Leclercq J. Chemical composition, cytotoxicity and *in vitro* antitrypanosomal and antiplasmodial activity of the essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin. *J Ethnopharmacol.* 2014; 151(1): 652-9.
20. Mora J, Newmark F, Santos M, Sánchez J. Evaluación de extractos de esponjas marinas como nuevas fuentes de sustancias antimicrobianas. *Rev. Esp. Quimioter.* 2008; 21 (3): 174-179.
21. Gislene G, Nascimento F, Locatelli J, Freitas P, Silva G. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2000; 31: 247-256.
22. Márquez G. Actividad antifúngica de *Rosmarinus officinalis* (romero) y *Melissa officinalis* (toronjil) contra especies del género *Candida*, aisladas de pacientes con vulvovaginitis. Trabajo de grado. Venezuela: Universidad de Oriente; 2012. 45p.

## Bioethanol production from cassava (*Manihot esculenta*) peels

\*Chinwe-Christy, Isitua<sup>1</sup>; Scholastica-Onyebuchi, Anadozie<sup>2</sup>; Isaiah-Nnanna, Ibeh<sup>3</sup>  
(Recibido: Febrero 2018, Aceptado: Mayo 2018)

<sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Microbiology Program, College of Sciences, Afe Babalola University Ado-Ekiti, P.M.B. 5454 Ekiti State, Nigeria. Email: christykings@yahoo.com, isituacc@abuad.edu.ng

<sup>2</sup> Department Chemical Sciences, Biochemistry Program, College of Sciences, Afe Babalola University Ado-Ekiti, P.M.B. 5454 Ekiti State, Nigeria.

<sup>3</sup>Department of Medical Laboratory Sciences, School of Basic Medical Sciences, University of Benin, P.M.B. 1154, Benin City, Edo State, Nigeria.

### Abstract

In recent years, the production of ethanol from plentiful, low cost cellulosic biomass or agricultural wastes has grown in importance due to the hope that it could reduce the cost of ethanol production and benefit the global environment. The application of using cassava residues for ethanol production could be of great advantage to a country's economy; hence, this study was carried out to determine the possibility of bioethanol production from cassava peels as a cheaper bioethanol source. Cassava peels were collected, cleaned, chopped and fermented for 14 days by *Saccharomyces cerevisiae* isolated from palm wine. In this study, parameters including biomass, ethanol yield, pH, titratable acidity and reducing sugar were analyzed at two day intervals using standard methods. There was a drop in pH from 5.0 to 3.8 in the yeast ameliorated batch of fermentation with ethanol yield of 7.5 mL and about 8.1% alcohol content produced. There was a progressive increase in titratable acidity and cell biomass; and a decrease in reducing sugar during the course of fermentation of both the test and control batches. The results from this study showed that ethanol production from cassava peels could provide solution to the problems of their disposal into the environment and also serve as an alternative option to ethanol production from cheaper available raw materials.

**Keywords:** cassava peels; bioethanol; fermentation; *Saccharomyces cerevisiae*.

## Producción de bioetanol a partir de cáscaras de yuca (*Manihot esculenta*)

### Resumen

En los últimos años, la producción de etanol a partir de la abundancia de biomasa de celulosa de bajo costo o de residuos agrícolas ha crecido en importancia, debido a la esperanza de reducir el costo de la producción de etanol y beneficiar el medio ambiente global. La aplicación del uso de residuos de yuca para la producción de etanol podría ser de gran ventaja para la economía de un país; por lo tanto, este estudio se llevó a cabo para determinar la posibilidad de la producción de bioetanol a partir de cáscaras de yuca como una fuente más barata de bioetanol. Las cáscaras de yuca fueron recolectadas, limpiadas, picadas y fermentadas durante 14 días por *Saccharomyces cerevisiae* aislado del vino de Palma. En este estudio se analizaron parámetros que incluyeron biomasa, rendimiento de etanol, pH, acidez titulable y azúcar reductora. Se observó que hubo una disminución en el pH de 5,0 a 3,8 en el lote de fermentación mejorado con levaduras con rendimiento de etanol de 7,5 ml, y aproximadamente 8,1% de contenido de alcohol. Presentó un aumento progresivo de la acidez valorable y de la biomasa celular; y una disminución en la reducción del azúcar durante el curso de la fermentación de los lotes de ensayo y control. Los resultados de esta investigación, demostraron que la producción de etanol a partir de cáscaras de yuca, podría dar solución a los problemas de su eliminación en el medio ambiente y también servir como una opción alternativa a la producción de etanol, a partir de materias primas disponibles más baratas.

**Palabras Clave:** cáscaras de yuca; bioetanol; fermentación; *Saccharomyces cerevisiae*.



## INTRODUCTION

Bioethanol is a principal fuel that can be used as petrol substitute for vehicle. It is a renewable energy source produced mainly by sugar fermentation process, although it can also be manufactured by the chemical process of reacting ethylene with steam. The main sources of sugar required to produce ethanol come from fuel or energy crops like cassava and cassava products, waste straw, sawdust, etc. (1).

Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), have been known to humans for thousands of years as they have been used in fermentation processes like in the production of alcoholic beverages (2) and bread leavening (3). Yeasts metabolize sugar to produce ethanol and carbon dioxide. The basic carbon and energy source for yeast culture are sugars (2) (3). Cassava (*Manihot esculenta*), also known as manioc, tapioca or yucca, is one of the most important food crops in the humid tropics, being particularly suited to conditions of low nutrients availability and is able to survive drought (4). It is the third largest source of carbohydrates for human consumption in the world, with an estimated annual world production of 208 million tonnes (5). The major harvested organ is the tuber, which is actually swollen root. The nutrient reserve of cassava is made up of starch. Cassava peels is gotten during the processing of the cassava tuber and it is an agricultural waste. Cassava peels contain starch which when treated with a varying level of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> undergoes an abrupt change in the physical structure of the glycosidic bond linking  $\alpha$  amylase and amylopectin. Glycosidic bond are broken to produce glucose and oligosaccharide residues (4). In Africa, especially Nigeria, which is one of the largest centre of cassava production, it is grown on 7.5 million hectares of land and produces about 60 million tonnes per year. Thus, wastes (especially cassava peels) generated from the processing of cassava into various products are littered or dumped in the environment causing pollution. There is therefore the need for revalorization of cassava peels waste into useful products. The application of using cassava peels for ethanol production could be of great advantage to a country's economy.

This study therefore determines the possibility of bioethanol production from cassava peels which

could provide a cheaper bioethanol source; also, exploit the fermentative ability of *Saccharomyces cerevisiae* isolated from palm wine in the production of the desired bioethanol.

## MATERIALS AND METHODS

### Collection and processing of cassava peels

Cassava peels were obtained from a cassava milling factory in Uselu market, Benin City, Edo State, Nigeria. The peels were washed in clean water (to remove sand and cyanide content) and weighed on a laboratory scale. Thereafter, the peels was allowed to dry naturally (de-watering) for 4 hours on a clean tray, after which they were chopped into bits and transferred into a mortar where they were mashed using a pestle to attain sufficient size reduction. This was to ensure the creation of sufficient surface area of the material to aid the process of fermentation.

### Isolation and identification of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) from palm wine

Yeast used for this experiment was isolated from fermented palm wine. One mL of the serially diluted palm wine sample was plated on sabouraud dextrose agar supplemented with streptomycin (0.05 mg/L) using pour plate method and incubated at 28°C for 48 hours. The yeast colonies that developed were isolated and purified by spread plate method on fresh sabouraud dextrose agar plates. Identification of the yeasts was by the use of standard morphological and physiological tests and identification keys described by Barnett et al. (6) (14).

### Preparation of sample for fermentation

100g of the mashed cassava peel was transferred into two different 1L fermentation flasks and 1000mL of distilled water was added to each of them. The flasks were autoclaved at 121°C for 15 minutes and allowed to cool. The contents of the flasks were then filtered using a muslin cloth to obtain the desired cassava medium and again autoclaved and allowed to cool. For hydrolysis to form sugars, 5mL of 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and 5mL of 5% NaOH were added to each jar and heated to about 50°C. Thereafter, 20mL suspension of the inoculum (yeast) was introduced aseptically into one of the fermentation flasks which served as the test experiment, while

the other fermentation flask had no inoculum and served as the control. The flasks were corked with a rubber stopper and left to ferment for 14 days. Certain parameters of the samples were analysed at 2 day intervals for the period of fermentation.

**Biochemical parameters determined during fermentation**

Samples obtained from the fermentation flasks were centrifuged and the supernatants were examined for various parameters including; pH, temperature, total reducing sugars, ethanol yield, cell biomass and titratable acidity.

**Measurement of pH value**

The pH values of each fermented medium was determined with the aid of a pH meter after standardization with buffer at pH 5. This was done by dipping the electrode into the different samples in the flask and readings taken before and after fermentation.

**Measurement of temperature**

Temperature values of each fermented medium was determined by the use of a thermometer before and after fermentation.

**Titratable acidity determination**

Fermented media were analysed for titratable acidity using phenolphthalein as indicator. This was carried out using the methods of Isitua and Ibeh (2); Association of Analytical Communities, AOAC (7) by titrating 10mL of sample against 0.1M NaOH using the first permanent colour change.

**Assay for reducing sugar content**

The total reducing sugar content in the samples were determined using 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) reagent. Briefly, 3 mL of DNS reagent was added to 3 mL of each of the samples and then, test tubes were tightly capped to avoid loss of liquid due to evaporation. Test tubes contents were heated at 90oC for 5-15 minutes to develop a red/brown colour. 1 mL of a 40% potassium sodium tartrate (Rochelle salt) was added to stabilize the colour. After cooling to room temperature in cold water bath, absorbance was read in a spectrophotometer at 600 nm wavelength against reagent blank (7).

**Cell biomass determination**

Cell biomass of the fermented media was determined by measuring the optical density of each fermentation media at 600 nm. The aliquots

(about 2.5 mL) of the different fermentation media were transferred into a 3 mL cuvette and absorbance were read against a reagent blank. The reagent blank was prepared with the uninoculated cassava medium (control) in place of the inoculated cassava medium. This analysis was to determine the turbidity in each fermentation medium during the fermentation process (7).

**Determination of the amount of alcohol produced**

The amount of alcohol (% v/v) produced in each of the fermentation medium after the period of fermentation was determined according to the method described by Isitua and Ibeh (2) from values of their respective specific gravities obtained by using a hydrometer and calculated as follows:

$$\text{Alcohol content (\% v/v)} = (D1 - D2) \times 105 \times 1.25$$

Where D1 = 1.06

D2 = Mean of hydrometer readings for each fermentation sample.

To obtain the ethanol yield, the fermented cassava medium was filtered using cheese cloth to obtain liquid for distillation. Distillation involved separating ethanol from water and other residual solids after fermentation. Ethanol was boiled off from the rest of the solution in a distillation column. The condensed ethanol and water were allowed to travel through a rectifier column where the water remaining in the ethanol was finally removed. This was carried out at a temperature of about 78.5oC. Ethanol yields after distillation were measured after 10 minutes for the cassava medium containing *S. cerevisiae* as well as the control experiment (8).

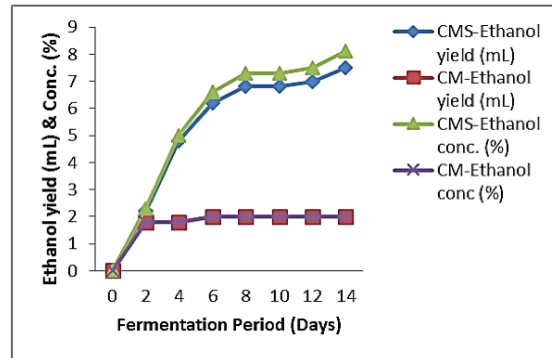
**Statistical analysis**

The assays were carried out in triplicate; the results were mean values ± standard deviation and expressed as mg / mL of sample. The amount of alcohol produced was expressed in % v/v of the fermented medium.

**RESULTS**

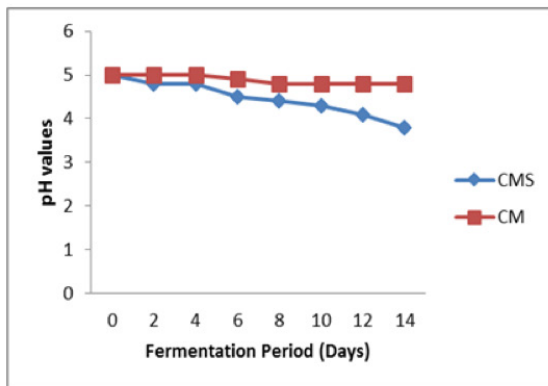
During the fermentation, the amount of ethanol yield, ethanol concentration, cell biomass ( Figure 1), pH, temperature, reducing sugar and titratable acidity were determined and the results are shown in Figure 2 (a, b, c, d). The ethanol yield and concentration after distillation of fermented cassava peels medium ranged from 2.2 mL to 7.5 mL and

2.3% v/v to 8.1% v/v respectively for the cassava medium containing *S. cerevisiae* (test sample); while it was from 1.8 mL to 2.0 mL and 1.8% v/v to 2.0% v/v respectively for the control (Figure 1). There was a decrease in pH (from 5.0 to 3.8) during the fermentation period, though within acidic range (Figure 2a), while the temperature varied throughout the fermentation period; ranging from 28.0oC to 33.0oC for test sample (Figure 2b). Titratable acidity increased all through the fermentation period (Figure 2c) with a decrease in reducing sugar (Figure 2d), as well as an increase in cell biomass (Figure 3).

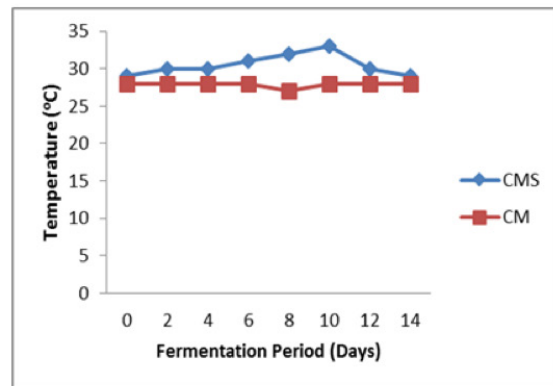


CMS= Cassava medium with *S. cerevisiae*. CM= Cassava medium without *S. cerevisiae*

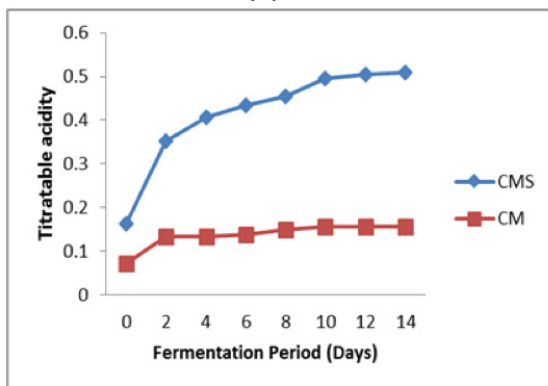
**Figure 1.** Ethanol yield and concentration during fermentation period of cassava peels



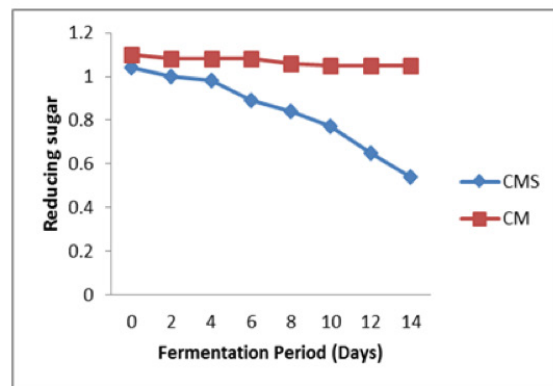
(a)



(b)

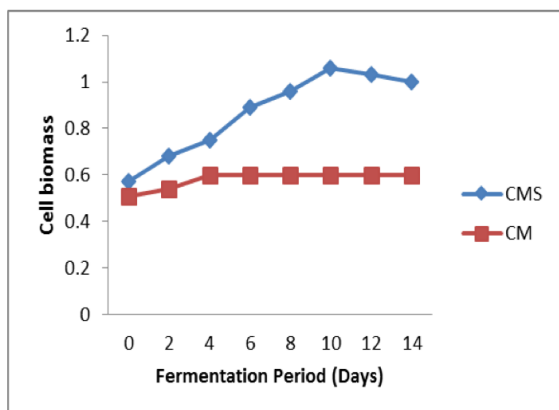


(c)



(d)

CMS= Cassava medium with *S. cerevisiae*. CM= Cassava medium without *S. cerevisiae*  
**Figure 2.** (a) pH values; (b) temperature (oC); (c) titratable acidity; (d) reducing sugar during fermentation period of cassava peels.



**Figure 3.** Cell biomass values (O.D.<sub>600nm</sub>) during fermentation period of cassava peels  
CMS= Cassava medium with *S. cerevisiae*. CM= Cassava medium without *S. cerevisiae*

## DISCUSSION

Over the years, the peels obtained from the processing of cassava are disposed off as agricultural wastes constituting nuisance and eyesore in the environment. Consequently, a large amount of cassava peels waste is generated annually (9), (10), (11). In developed countries, substrates such as corn, sugarcane and beets have been used in the production of ethanol. In this study, we have explored the utilization of readily available wastes as cassava peels in the production of ethanol.

Ethanol yield after distillation of fermented cassava medium containing yeast isolates during the fermentation period was higher than the ethanol yield from the control experiment (Figura 1). This high ethanol yield from the test sample could be attributed to the presence and fermentative activity of the yeast *S. cerevisiae*; and this findings is similar to result obtained by Srinorakutara et al. (8) who reported a range of 3.5ml to 12.0ml for ethanol yield from cassava wastes. The successful production of ethanol from cassava peels (wastes) have shown that these waste contain fermentable material which was evident from the increase in ethanol yield throughout the fermentation period (2). The ethanol produced was recorded for all experimental days except day 0, and the values recorded show that ethanol production from cassava medium with yeast had the highest value of 7.5ml as at day 14 and the least value of ethanol yield was recorded on day 2 as 2.2ml.

There was a decrease in pH during the fermentation period, though within acidic range, suggesting that the fermenting microorganism (*S. cerevisiae*) must have the inherent capacity to tolerate acidic condition. The pH values ranged from 5.0 to 3.8 in the test medium and 5.0 to 4.8 in the control medium. This decrease in pH values could be attributed to the formation of organic acids during fermentation (12). The variability in temperature throughout the fermentation period indicate that heat is released during fermentation; while the increase in titratable acidity may be due to increase in acid production in the fermentation media. The reducing sugar of the test sample declined gradually throughout the fermentation period, and this may be due to the bioconversion of the fermentable sugar present to ethanol by *S. cerevisiae* (2), (13), (14). For the test sample, the cell biomass increased till day 10 and started declining slightly until the end of the fermentation period.

## CONCLUSION

The various important uses of ethanol and the importance of ridding the environment of the harmful effects due to piling up of agricultural waste products, such as cassava peels, underscore the significance of this study. The results obtained from this experiment revealed that fermentable material is present in a reasonable amount in cassava peels waste. If these peels waste are fermented under stipulated experimental conditions using *S. cerevisiae*, a substantial amount of ethanol which can be used as chemical feedstock will be produced. Thus, the importation of ethanol can be reduced if substantial resources are devoted to the production of ethanol from cassava wastes.

## CONFLICT OF INTEREST

Authors have declared no conflict of interest.

## REFERENCES

- Legras J, Merdinoglu J, Cornuet D, Karst F. Bread, beer and wine: *Saccharomyces cerevisiae* diversity reflects human history. *Mol Ecol.* 2007; 16(10):2091–102.
- Isitua C-C, Ibeh I-N. Novel method of wine production from banana (*Musa acuminata*) and

- pineapple (*Ananas comosus*) wastes. *African J Biotechnol.* 2010; 9(44):7521–4.
3. Khurana V, Lindquist S. Modelling neurodegeneration in *Saccharomyces cerevisiae*: why cook with baker's yeast? *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2010; 11(6):1–14. Available from: [www.nature.com/reviews/neur](http://www.nature.com/reviews/neur)
  4. Osumah L-I, Tonukari N-J. Production of yeast using acid-hydrolyzed cassava and poultry manure extract. *African J Biochem Res.* 2010; 4(5):119–25.
  5. Commission NP (NPC). Nigeria's Crop Production: The Fifth National Development Plan. XIV. Federal Republic of Nigeria: Abuja; 2008. 460 p.
  6. Barnette J, Payne R, Yarrow D. *Yeasts: Characteristics and Identification.* Cambridge Univ Press. 1990; 2nd ed.
  7. Chemists A of OA. *Official Methods of Analysis of AOAC International.* 18th ed. Horwitz W, Latimer G, editors. Washington DC; 2010. 43 p.
  8. Srinorakutara T, Suesat C, Pitiyont B, Kitpreechavanit W, Cattithammanit S. Utilization of Waste from Cassava Starch Plant for Ethanol Production. In: The Joint International Conference on "Sustainable Energy and Environment (SEE)" [Internet]. Hua Hin, Thailand; 2004. p. 344–9. Available from: <http://www.thaiscience.info/Article/Article/1/10005968.pdf>
  9. Burrell M-M. Starch: the need for improved quality or quantity-an overview. *J Exp Bot* [Internet]. 2003; 54(382):451–6. Available from: <https://academic.oup.com/jxb/article-abstract/54/382/451/425846>
  10. Tonukari N-J. Cassava and the future of starch. *Electron J Biotechnol.* 2004; 7(1):1–8.
  11. Ariza-Niet M, Sánchez M-T, Heller L-I, Ying H, Welch R-M, Glahn R-P. Cassava (*Manihot esculenta*) has high potential for iron biofortification. *FASEB J.* 2006; 20(4):20–34.
  12. CATIE. Informe Anual 1985. Aspect of the fermentation of cassava starch III: Determination of organic acids. Turrialba; 1985. 127 p.
  13. Oboh G, Akindahunsi A-A. Biochemical changes in cassava products (flour & gari) subjected to *Saccharomyces cerevisiae* solid media fermentation. *Food Chem.* 2003; 82(4):599–602.
  14. Hahn-Hägerdal B, Karhumaa K, Fonseca C, Spencer-Martins I, Gorwa-Grauslund MF. Towards industrial pentose-fermenting yeast strains. *Applied microbiology and biotechnology.* 2007 Apr 1; 74(5):937-53.

## Consecuencias clínicas del uso de biopolímeros como prácticas de auto-atención en el proceso de transformación corporal en personas transexuales

Angie, Ripalda<sup>1</sup>; Adrián, Loja<sup>1</sup>; Lilian, Víctor<sup>1</sup>; Pedro, Herrera<sup>1</sup>; Pedro J. Freitas<sup>2</sup>.

(Recibido: Enero - 2018, Aceptado: Abril 2018)

<sup>1</sup> Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Estatal de Milagro, UNEMI, Ecuador.  
Email: phmoya@hotmail.com@gmail.com

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Programa de Enfermería, Universidad Nacional Experimental Rómulo Gallegos, UNERG, Venezuela.

### Resumen

El presente estudio surgió de la necesidad de analizar las consecuencias clínicas de la aplicación ilegal de los biopolímeros. La mayoría de las investigaciones referentes a la salud de la población trans están relacionadas a enfermedades de transmisión sexual; sin embargo, las consecuencias clínicas del uso de rellenos para las transformaciones corporales de las mujeres transexuales han sido poco estudiadas. Siendo esta población la más afectada ya que por su orientación sexual buscan mejorar su apariencia o aceptación ante la sociedad. Debido a que estas sustancias son vendidas de forma libre, inducen a la auto-atención, siendo una práctica estructural (presente en toda sociedad) que al inyectar el biopolímero en el cuerpo, lo hace más peligroso que un implante, produciendo diversos tipos de reacciones al momento de su administración o con el pasar del tiempo. Su sintomatología corresponde a la patología llamada Alogénesis latrogénica que a menudo constituye el primer nivel de atención médica y en otros casos provoca la muerte. El objetivo de este trabajo de investigación fue identificar el nivel de conocimiento de 22 mujeres transexuales de una comunidad ecuatoriana sobre el uso de los biopolímeros. Además, se identificaron las principales consecuencias de esta práctica, basadas en revisiones de la literatura y estudio de casos. Los resultados evidenciaron el poco conocimiento de los biopolímeros y las potenciales consecuencias en el organismo.

**Palabras Clave:** Alogenosis latrogénica; biopolímeros; mujeres transgénero; rellenos estéticos; transexuales.

### Clinical consequences of the use of biopolymers as self-attention practices in the process of body transformation in transsexual persons

### Abstract

This study arose from the need to analyze the clinical consequences of the illegal application of biopolymers. Most of the research concerning the health of the trans population is related to sexually transmitted diseases; however, the clinical consequences of the use of fillings for body transforms of transsexual women have been little studied. Being this population the most affected because their sexual orientation they seek to improve their appearance or acceptance before the society. Since these substances are sold freely, they induce self-attention being a structural practice (present in every society) that when injecting the biopolymer into the body, it makes it more dangerous than an implant, producing different types of reactions at the time of its administration or with the passage of time. Its symptomatology corresponds to the pathology called latrogenic Alogenesis that often constitutes to the first level of medical attention and in other cases causing death. The objective of this research was to identify the level of knowledge of 22 transsexual women of an Ecuadorian community about the use of biopolymers. In addition, the main consequences of this practice were identified, based on literature reviews and case studies. The result showed little knowledge of biopolymers and the potential consequences on the body.

**Keywords:** latrogenic Alogenesis; biopolymers; cosmetic fillers; transgender women; transsexuals.

## INTRODUCCIÓN

Una persona transexual es aquella que comienza una construcción de identidad diferente a la determinada en el momento de su nacimiento por su sexo biológico. Parte de la construcción de la identidad se refleja a través del cuerpo y sus expresiones, lo cual es fundamental para el libre desarrollo de la personalidad (1). También, se usa este término transexual para designar a las personas que intercambian la correspondencia impuesta entre el sexo biológico y el género cultural, y la estricta segmentación de lo masculino y lo femenino (2).

Las mujeres transexuales realizan diversos cambios en su cuerpo con el fin de lograr la transición de hombre a mujer, para ello se someten a procesos quirúrgicos de reasignación de sexo junto con terapia de sustitución hormonal con estrógeno y bloqueadores de testosterona, utilizan implantes mamarios y se infiltran sustancias modelantes denominadas biopolímeros. Los biopolímeros son sustancias, en su mayoría sintéticas, que han sido utilizados como material de relleno tisular para fines estéticos (3); las principales zonas inyectadas son: la cara, los pómulos, entre las cejas, los labios, los senos, las pantorrillas, los pectorales y la mayoría de las veces en los glúteos (4).

Los cinco biopolímeros más usados son: el colágeno, que se puede obtener del mismo paciente, cultivarlo, o también puede ser extraído de un ser bovino. La hidroxiapatita sintética, es un material aloplástico biocompatible, en su composición tiene una similitud hidroxiapatita del hueso humano y se utiliza como su reemplazo. El politetrafluoroetileno, es un polímero similar al polietileno, se usa con frecuencia y es biocompatible. El ácido hialurónico, este tipo de biopolímeros se localiza en los animales, específicamente en el tejido conectivo de los mamíferos y en el espacio extracelular, de origen no animal y éstos son utilizados como relleno. El metacrilato, también es conocido como polivinil metacrilato polimetilsiloxano, en suspensión con dimetipolisiloxano, es lo que se conoce comercialmente como silicona líquida. Muchas de estas sustancias son inertes, y se pueden preparar en diferentes volúmenes o grados de dureza; es decir, desde sólido hasta líquidos (5) (6). Los únicos biopolímeros usados actualmente en el campo de la Medicina son los biodegradables.

En la última década, hombres y mujeres que desean transformar su cuerpo mediante procedimientos de aplicación de biopolímeros recurren a personas negligentes, por desconocimiento, falta de recursos, e incluso por estado de impaciencia por obtener el cambio, exponiendo su salud integral y sufriendo consecuencias físicas y/o emocionales que en la mayoría de las veces son de carácter irreversible (4). Debido a las consecuencias negativas ocasionadas por su uso en tratamientos estéticos perjudiciales (7), en años recientes, ha crecido en la sociedad una concepción sesgada de los mismos, no obstante, estudios plantean la importancia del uso de los biopolímeros biodegradables en otras áreas de la salud, tales como en solución de enfermedades neurodegenerativas (8).

### Efectos del uso de biopolímeros en la salud

El uso de falsos biopolímeros y sus peligrosas consecuencias en la salud, se ha extendido por Latinoamérica en la última década. Los pacientes se someten a procedimientos médicos sin conocer que la sustancia que les será aplicada no está regulada, y sin estar al tanto de los riesgos y consecuencias (8). En Bolivia, en los últimos diez años se produjeron alrededor de 358 casos de Alogenosis latrogénica por cada mil usuarios, el 97% de los casos correspondiente a mujeres (5). En Venezuela, sólo para el año 2013 se registraron más de 50 mil afectados por biopolímeros y 15 fallecimientos (9). La principal causa de muerte tras inyecciones de biopolímeros es la Embolia Pulmonar. El estado de coma es un cuadro clínico grave conocido (10). Según Slobodianik (11), las consecuencias más comunes en la aplicación de biopolímeros son: la reacción defensiva del cuerpo produciendo una inflamación del organismo, granulomas, aparición de nódulos, endurecimiento de extensas áreas, enrojecimiento de la zona, alergias, fibrosis, lesiones y cambios en la textura de la piel. Al ser inyectados en zonas pequeñas e irrigadas del cuerpo, como labios o mentón, se filtran en los vasos sanguíneos, produciendo complicaciones a la salud y hasta la embolia (5).

Estudios recientes señalan al uso de los biopolímeros que no tienen control sanitario, como el factor de riesgo de complicaciones y efectos secundarios a la salud (12). Existe una mayor tendencia entre los médicos latinoamericanos a usar materiales

no aprobados o con pocas evidencias científicas como implantes, de acuerdo con los resultados de las encuestas realizadas a 103 médicos estéticos de Europa y 97 de Latinoamérica. Por otra parte, investigaciones muestran que los implantes son colocados mayormente por cosmetólogos (70%) y en menor proporción (30%) por médicos, especialmente cirujanos, dermatólogos, odontólogos y otorrinolaringólogos (13).

Las complicaciones o efectos adversos de un material de relleno están relacionadas con el tipo de material y la técnica de aplicación (14) (15). En los protocolos establecidos por la Sociedad Española de Medicina Estética (SEME) se definen los parámetros del uso correcto de biopolímeros para evitar equimosis y hematomas, un adecuado tratamiento, explicar el procedimiento y firma del consentimiento informado al paciente. No obstante, no existe un material de relleno que sea totalmente seguro y que no pueda generar reacciones de cuerpo extraño en el paciente (16).

#### **Alogenosis latrogénica**

Una de las patologías más importantes a consecuencia del uso ilegal de los biopolímeros es la denominada Alogénesis latrogénica. El término "Alogenosis" se refiere a sustancias alógenas, es decir, ajenas al organismo, e "latrogénica" significa que la producen los médicos o las personas que inyectan estas sustancias (13). El factor de mayor riesgo del uso de biopolímeros, es la capacidad migratoria de la sustancia dentro del cuerpo humano (17), por lo que las consecuencias en la salud pueden evidenciarse en diversas partes del cuerpo, meses o años después de ser inyectados. La enfermedad por biopolímeros trae consigo múltiples problemas a corto y a largo plazo.

Entre las consecuencias a corto plazo, están las infecciones de piel y tejidos blandos, la formación de abscesos, la formación de reacciones a cuerpo extraño; mientras que, las secuelas a largo plazo comprenden desde deformidad física en el cuerpo o el rostro, y las perturbaciones funcionales de los órganos-sistemas linfo inmunohematopoyético, tegumentario y (potencialmente) nervioso periférico (18). La Alogénesis latrogénica puede no ocasionar el fallecimiento del paciente; sin embargo, sí destruye su psiquismo, su autoestima y su calidad de vida (19). La población de mayor afectación son las

mujeres transexuales y mujeres por naturaleza, y el número de afectados va en aumento, por ello, la SEME considera a la Alogenosis latrogénica "como una epidemia" (16).

#### **Tratamiento**

El tratamiento para pacientes diagnosticados con Alogénesis latrogénica, consiste fundamentalmente en controlar los síntomas, como la inflamación, por medio del uso de analgésicos, antihistamínicos no corticoides y antiinflamatorios no esteroideos, que acortan los períodos de exacerbación (20). Estos períodos de exacerbación se repiten, en promedio, cada tres meses.

Las infecciones son raras, y por ello los antibióticos no modifican la evolución. Se han propuesto como tratamientos: antiinflamatorios, antibióticos, inmunomoduladores, citotóxicos y la extracción, dentro de lo posible, del material aplicado por medio de lipoaspiración con cánula fenestrada, la aplicación multipuntura-succión, así como resecciones y reconstrucciones (21) (22). Además, se recomienda extraer la sustancia inyectada para evitar de forma rápida que se formen úlceras. Según Bravo (19), el tratamiento con láser interno es adecuado ya que licúa la grasa con mínimo trauma y la convierte en una emulsión fácil de extraer, principio fundamental de la láser-lipólisis. Un estudio realizado por Coiffman (13), refiere que uno de los errores de aplicar corticoides, es que éstos no disuelven la masa muscular y en cambio adelgazan la piel, lo que hace que el abultamiento se haga más ostensible. Los masajes no disuelven las masas, y al igual que los corticoides, adelgazan la piel que recubren.

El paciente con Alogénesis latrogénica debe recibir valoración y ayuda psicológica, y psiquiátrica que le permita entender su enfermedad, saber vivir con ella, entender su evolución, y finalmente comprender las limitaciones actuales de la medicina en cuanto a su patología (23).

#### **Roles de enfermería ante la situación**

Docente: educar a la comunidad de mujeres transexuales sobre las consecuencias de la aplicación negligente de biopolímeros, y el cuidado que deben tener después de su aplicación. Asistencial: evaluar el área céfalo-caudal de las mujeres transexuales, para identificar si presenta alguna anomalía en su cuerpo o una exacerbación de acuerdo a los signos y síntomas que presente,



así de esa forma poder ayudarlas en su tratamiento y mejorar un poco su salud. Administrativo: conocer los compuestos químicos de los biopolímeros y verificar su fecha de caducidad, verificar la legalidad del producto. Investigativo: investigar estudios sobre las consecuencias del uso de los biopolímeros en la comunidad de mujeres transexuales a nivel nacional e internacional.

### Marco legal

La Constitución de la República del Ecuador contempla la protección y amparo de todos los ciudadanos ecuatorianos en cualquier ámbito, incluyendo a la comunidad transexual objeto de estudio de este trabajo de investigación, tal como lo refieren los artículos 11 y 83 de la referida Constitución (24).

Según el Artículo 11 de la Constitución del Ecuador: Todas las personas son iguales y gozaran de los mismos derechos, deberes y oportunidades. Nadie podrá ser discriminado por razones de etnia, lugar de nacimiento, edad, sexo, identidad de género, identidad cultural, estado civil, idioma, religión, ideología, filiación política, pasado judicial, condición socio-económica, condición migratoria, orientación sexual, estado de salud, portar VIH, discapacidad, diferencia física; ni por cualquier otra distinción, personal o colectiva, temporal o permanente, que tenga por objeto o resultado menoscabar o anular el reconocimiento, goce o ejercicio de los derechos.

Según el Artículo 83 de la Constitución del Ecuador que trata sobre los deberes y responsabilidades de los ecuatorianos; en el ítems 14 habla sobre: "Respetar y reconocer las diferencias étnicas, nacionales, sociales, generacionales, de género, y la orientación e identidad sexual". Se debe tener respeto a las decisiones que tomen aquellas personas del grupo GLTBI (Gays Lesbianas Transexuales Bisexual Intersexuales) (25), que son seres humanos al igual que todos.

Otro avance en materia de protección a la violación de derechos humanos de las personas GLTBI, lo contempla el actual Código Penal, que da paso a la sanción de las personas que promuevan el odio de palabra y de hecho a una persona por su orientación sexual.

### MÉTODOLÓGÍA

Esta investigación es de tipo no experimental

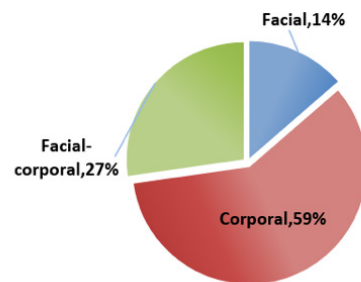
de corte transversal, a su vez es de carácter descriptivo, ya que mediante encuestas se busca conocer el nivel de conocimiento sobre las consecuencias del uso de biopolímeros en mujeres transexuales. La población de este estudio corresponde a 22 transexuales femeninos de una localidad ecuatoriana, las cuales cumplen con todos los criterios de inclusión para aplicárseles dichas encuestas.

### RESULTADOS

Los resultados indican que el 91% de los transexuales desconocen o conocen muy poco sobre el tema de los biopolímeros. Los encuestados afirmaron no haber realizado una búsqueda de información con sustentación médica previa a la aplicación del biopolímero, por tanto, la principal fuente de información que manejan proviene de comentarios de terceros.

Sobre el conocimiento de los métodos de aplicación de los biopolímeros el 50% manifestó conocerlos 50%, mientras que el 32% conoce poco sobre el tema y 18% desconoce sobre el tema.

En la Figura 1, se muestra que el 59% de los transexuales prefiere aplicar los biopolímeros en la zona corporal que involucra los glúteos y las mamas, el 14% en la zona facial (nariz, cejas, pómulos y mentón) y un 27% en la zona corporal-facial.



**Figura 1.** Zonas del cuerpo donde se han aplicado biopolímeros.

En la Tabla 1 se muestran los lugares donde acuden las mujeres transexuales para aplicarse los biopolímeros, y los resultados indican que al 77% de estas mujeres le realizaron la intervención en sus casas, seguido de un 14% en gabinete y solo el 9% acudió a un consultorio médico.

**Tabla 1.** Lugar donde acudió para aplicarse biopolímeros.

Lugar de Intervención	N° de personas	Porcentaje
Casa	17	77%
Gabinete (garaje)	3	14%
Consultorio médico	2	9%
Total	22	100%

Según los resultados de la encuesta realizada, el 50% de las mujeres transexuales se ha aplicado estas sustancias por feminidad, un 45% por belleza, y el 5% por sexo. (Ver Tabla 2). En la Tabla 3 se muestra que el 64% de las mujeres transexuales expresa que se ha aplicado de 1 a 2 veces los biopolímeros, mientras que un 36% se ha aplicado de 3 a 4 veces.

**Tabla 2.** Motivo para aplicarse biopolímeros.

Motivo de Intervención	N° de personas	Porcentaje
Feminidad	11	50%
Estética-Belleza	10	45%
Sexo	1	5%
Total	22	100%

**Tabla 3.** Frecuencia de aplicación de biopolímeros

Frecuencia de aplicación	N° de personas	Porcentaje
1-2	14	64%
3-4	8	36%
Total	22	100%

El 55% de las mujeres transexuales piensan que la aplicación de biopolímeros tiene consecuencias a la salud, seguido de un 41% que no están seguras, mientras que el 4% dice que no tiene consecuencias para la salud. La consulta sobre las consecuencias de la aplicación de biopolímeros, arrojó que un 50% corresponde al fallecimiento, seguido de un 19% de mujeres transexuales que expresan que su uso causa dolor y enrojecimiento, mientras que un 6% puede deteriorar la piel, y ocasionar cáncer con el pasar de los años.

Un efecto posterior a la aplicación de estas sustancias quedó evidenciado en el estudio realizado, debido a que el 64% de las mujeres transexuales manifestaron que han tenido síntomas luego de aplicárselas, seguido de un 27% que dice no haber tenido ningún síntoma, mientras que un 9% no recuerda. Además, se

observaron consecuencias sintomáticas diversas después de la aplicación, tales como: dolor intenso (corresponden al 38% de las personas encuestadas), picazón (21%) y ardor (10%). Todas las mujeres transexuales manifestaron haber tenido complicaciones los primeros días de su aplicación.

El fomento de estudios de investigación en Ecuador, como el emprendido por González et al. (26) para evaluar los efectos de la aplicación, absorción y depósito de biopolímeros en animales de experimentación (roedores), permitiría tomar medidas que garanticen la salud pública, y generalicen el cuidado y prevención de la Alogenosis Iatrogénica en todos los estratos de la sociedad.

## CONCLUSIONES

La mayoría de las mujeres transexuales se han aplicado biopolímeros en su casa, aumentando el riesgo a su salud; debido al desconocimiento sobre el uso de los mismos y las potenciales consecuencias en el organismo (muerte y síntomas como dolor, hinchazón, enrojecimiento).

Las mujeres transexuales en las zonas del cuerpo donde más se aplican biopolímeros, son los glúteos y las mamas; teniendo similar preferencia e importancia por el feminismo y la apariencia física.

La mayor parte de las transexuales femeninas desconocen la patología denominada Alógenosis Iatrogénica, razón por la cual los profesionales de la salud encargados deben motivarlas a capacitarse y adquirir conocimiento sobre temas que estén relacionados con su salud y autoestima. Deficiencia informativa y falta de divulgación sobre el uso de indiscriminado de biopolímeros, hacia la población GLTBI (Gays Lesbianas Transexuales Bisexual Intersexuales), por parte de las instituciones del estado para garantizar la salud física, mental de gran parte de la sociedad.

## REFERENCIAS

1. Peralta-Cruz K, Espitia- Pachón N. Uso de los modelantes estéticos, como proceso de transformación corporal de mujeres transgeneristas. *Tabula Rasa*. 2013;19:281–300.

2. García A. Tacónes, siliconas, hormonas y otras críticas al sistema sexo-género. *Rev Colomb Antropol e Hist [Internet]*. 2009;45(1):119–46. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10501239800>
3. Duarte Y Sánchez A, Abdul Hamid, Hedo-Toledo Pradel-Radel J, Gómez-Recilla V. Complicación tardía tras infiltración de biopolímeros en glúteos. *Cirujía Plástica Ibero-latinoamericana*. 2016;42(4):385–9.
4. Fernández C, Mendoza J. Uso y aplicación de sustancias de relleno (Biopolímeros): Consecuencias Clínicas y Legales en Venezuela. Available from: [https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/46555863/biopolimeros.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1525741632&Signature=yRdHQ8B6uWZJhPj1Y1x1oaboNHw%3D&response-content-disposition=inline%3Bfilename%3DUSO\\_Y\\_APLICACION\\_DE\\_SUSTANCIAS\\_DE\\_RELLEN.pdf](https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/46555863/biopolimeros.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1525741632&Signature=yRdHQ8B6uWZJhPj1Y1x1oaboNHw%3D&response-content-disposition=inline%3Bfilename%3DUSO_Y_APLICACION_DE_SUSTANCIAS_DE_RELLEN.pdf)
5. Sanz-barriga HA, Eróstegui Revilla CP. Alogenosis Iatrogénica, el Gran Peligro de los Biopolímeros. *Rev Cient Cienc Méd*. 2010;13(1):31–4.
6. Aguilar A, García P, Rebollo N, Segura G, Ruíz J. Revisión de materiales de relleno. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*. 2015;13(23):54–64.
7. García L, Novoa A, Franco A, Higueta L. Estudio de la síntesis de biopolímeros de origen microbiano. *QUID*. 2015;25:69–78.
8. Fuentes C, Plessing C Von, Fernández M. Desarrollo y evaluación de microesferas biodegradables para la liberación prolongada de pramipexol. *Rev Fram Chile*. 2014;7(2):25–32.
9. Servet MR. La apariencia a costa de la salud: la bestia de los biopolímeros ataca de nuevo en Venezuela. *Noticia al Día*. 2018 Mar 22;1.
10. García M, García F, Lujan P, Herrera S. Embolia pulmonar por inyección de polipropileno. Reporte de caso. *Med Interna México*. 2009;25(4):326–9.
11. Slobodianik D. El uso de los biopolímeros como sustancias de relleno para aumentos corporales. Efectos adversos y consecuencias [Internet]. 2018. Available from: <http://cirutips.com/biopolimeros/>
12. Serrano C. Alogenosis iatrogénica : reporte de un caso. *Salud Humana*. 2017;1(1):69–79.
13. Coiffman F. Alogenosis iatrogénica. Una nueva enfermedad. *Cirujía Plástica Ibero-latinoamericana*. 2008;34(1):1–10.
14. García V. Mala Praxis en Medicina Estética. *Acta Bioclínica*. 2012;2(4):6–10.
15. Domínguez A, Tame H, Torres-Baltazar J., Jiménez-Muñoz G, Ortiz-Satré N, Espinos-Maceda S. Enfermedad por modelantes : problemática actual en México y presentación de casos. *Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana*. 2013;39(4):399–405.
16. Consalud.es. Crece el intrusismo en la Medicina Estética [Internet]. Sociedad Española de Medicina. 2018. p. (Citado el 8 de abril del 2018). Available from: [http://www.seme.org/area\\_seme/actualidad\\_articulo.php?id=4620](http://www.seme.org/area_seme/actualidad_articulo.php?id=4620)
17. Allais M, Abreu A, Maurette P. Reacción a un cuerpo extraño por un polímero inyectado presentación de un caso clínico. *Rev Española Cirugía Oral y Maxilofac*. 2015;37(1):23–6.
18. Ricaurte AI, Castaño DA, Castro JA, De Paz DA, Echeverry DA. Alogenosis iatrogénica vs. aloagenosis secundaria en Cali, Colombia. A propósito de 12 casos. *Colomb Forense [Internet]*. 2016;3(2):61–72. Available from:
19. Bravo Elizabeth. Alogenosis Iatrogenica [Internet]. [Cuenca]; 2012. Available from: <http://dSPACE.UCACUE.EDU.EC/bitstream/reducacue/5289/4/AlogenosisIatrogenica.pdf>
20. Martínez V, Rodríguez-Acar M, Ramos A, Decamps A, Rivera-Ramírez M, Gonell R. Enfermedad por modelantes. Presentación de un caso. *Rev del Cent Dermatológico Pascua*. 2013;22(3):106–9.
21. Murillo-Godínez G. Uso ilícito de modelantes y efectos adversos. *Med Interna México*. 2010;26(4):346–9.
22. Doctor News. Técnica quirúrgica de multipuntura-succión. Instituto de Ciencias de la Salud ISCIS. 2014 Aug 22;2.
23. Gordillo-Hernández J, Alegre-Tamez E, Torres-Baltazar I, Mendieta-Espinosa M, Sastré-Ortiz N. Abordaje multidisciplinario de la enfermedad humana por infiltración de sustancias modelantes. *Cir Plástica Ibero Latinoam*.

- 2013;39(3):269–77.
24. Constitución de la República del Ecuador 2008. Asamblea Constituyente del Ecuador. Registro Oficial N° 449, 21 junio 2015, Artículo 11, ítem 2, pág. 27. Artículo 8, ítem 14, pág. 62.
25. Gómez M, Barmettler D, Cadena MR, Puente D, Padilla S, Santamaría L, et al. Estudio de caso sobre condiciones de vida, inclusión social y cumplimiento de derechos humanos de la población LGBTI en el Ecuador [Internet]. Instituto Nacional de Estadísticas y Censo. 2013. p. 43. Available from: [http://www.ecuadorencifras.gob.ec//documentos/web-inec/Estadisticas\\_Sociales/LGBTI/Analisis\\_situacion\\_LGBTI.pdf](http://www.ecuadorencifras.gob.ec//documentos/web-inec/Estadisticas_Sociales/LGBTI/Analisis_situacion_LGBTI.pdf)
26. Gonzalez LF, Alivar J, Cano H. Análisis infrarrojo del hialucorp , metacorp y silicona líquida en el marco de la alojenosis iatrogénica. Rev Colomb Cir Plástica y Reconstr. 2017;23(1):37–45.

## Malformación Adenomatosa del pulmón. Reporte de casos y revisión de la literatura

**Amaralis, Trull<sup>1</sup>; Katuska, Mederos-Mollineda<sup>2</sup>; Liliam, Escariz-Borrego<sup>3</sup>; Jorge-Alberto, Díaz-Rodríguez<sup>2</sup>; Víctor, Chávez-Guerra<sup>5</sup>**  
(Recibido: Febrero - 2018, Aceptado: Abril - 2018)

<sup>1</sup> Centro Provincial de Genética Médica. Camagüey. Cuba.

<sup>2</sup> Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Estatal de Milagro, Ecuador.

Email: kmederosm@unemi.edu.ec

<sup>3</sup> Facultad Ciencias Médicas, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Ecuador.

<sup>5</sup> Sociedad de lucha contra el cáncer, SOLCA, Portoviejo, Ecuador.

### Resumen

Las malformaciones congénitas pulmonares son una entidad rara en pediatría. Entre ellas, la malformación adenomatosa quística pulmonar es la entidad más frecuente, seguida del secuestro pulmonar y del quiste broncogénico. Con la ecografía de alta definición y la resonancia magnética fetal, se pueden diagnosticar estas entidades de forma precoz en la etapa prenatal. Para conocer la clínica, el diagnóstico y la evolución se ha realizado un estudio retrospectivo de esta malformación. Se presentaron cinco casos clínicos de malformación adenomatosa pulmonar, tres de ellos de diagnóstico precoz: el primero con evolución a tumor maligno, el segundo con un secuestro pulmonar accesorio extralobar y el tercero con diagnóstico erróneo de malformación adenomatosa quística. Los otros dos casos asociados a la malformación adenomatosa quística, mostraron un secuestro pulmonar basado en la importancia del diagnóstico precoz de las anomalías congénitas en la etapa prenatal. Esta malformación es una enfermedad congénita pulmonar, cuya valoración prenatal se realiza eficazmente por medio de la técnica ultrasonográfica y resonancia magnética fetal. Se presenta cuadro clínico con variables y características específicas radiológicas facilitando un diagnóstico precoz para evitar complicaciones.

**Palabras Clave:** diagnóstico prenatal; ecografías de alta dimensión; malformación adenomatosa; resonancia magnética.

## Adenomatoid malformation of de lung. Cases report and review of literature

### Abstract

Congenital pulmonary malformations are a rare entity in pediatrics. Among them, cystic adenomatoid malformation of the lung is the most frequent entity, followed by pulmonary sequestration and bronchogenic cyst. These entities can be diagnosed early in the prenatal stage using high-definition ultrasound and fetal magnetic resonance. A retrospective study of this malformation has been carried out to know the clinical signs, diagnosis and evolution. Five clinical cases of pulmonary adenomatoid malformation were presented, three of them with early diagnosis: the first one with evolution to malignant tumor, the second with extralobar accessory pulmonary sequestration and the third with erroneous diagnosis of cystic adenomatoid malformation. Five clinical cases of cystic adenomatoid malformation were presented, three of them with early diagnosis: the first one with evolution to malignant tumor, the second with extralobar accessory pulmonary sequestration and the third with erroneous diagnosis of cystic adenomatoid malformation. The other two cases associated to the cystic adenomatoid malformation showed a pulmonary sequestration based on the importance of early diagnosis of congenital anomalies in the prenatal stage. This malformation is a congenital pulmonary disease, whose prenatal assessment is carried out effectively by means of the ultrasound technique and fetal magnetic resonance. It presents clinical picture with variable and specific radiological characteristics, facilitating an early diagnosis to avoid complications.

**Keywords:** adenomatoid malformation; high-dimensional ultrasound; magnetic resonance; prenatal diagnosis.

**INTRODUCCIÓN**

Las malformaciones pulmonares congénitas constituyen una alteración en el desarrollo de las diferentes estructuras pulmonares durante la etapa fetal (1). Esta alteración del desarrollo pulmonar fue descrita inicialmente por Bartholinuis en 1687 y luego por Chin y Tang en 1949, quienes observaron ciertas masas pulmonares de apariencia sólida pseudoglandular en mortinatos y recién nacidos prematuros con hidrops fetal (2). La malformación adenomatoidea quística del pulmón, es una anomalía poco frecuente del desarrollo pulmonar de tipo hamartomatoso, caracterizada por proliferación y dilatación anormal de las estructuras respiratorias terminales, que dan origen a quistes de variados tamaños y

localización (3)(4). La misma constituye el 25 % del total de malformaciones congénitas del pulmón y el 95% de las enfermedades quísticas pulmonares (5). Estos trastornos son consecuencia de alteraciones durante el proceso de maduración del pulmón y las vías respiratorias, y el tipo de lesión y su medicina se relacionan directamente con el momento de la gestación y el nivel del árbol traqueobronquial en que se producen (6). En la Tabla 1 se muestran las malformaciones durante el desarrollo embrionario normal. Dentro de estas anomalías congénitas, la malformación adenomatoidea quística (MAQ) afecta al desarrollo alveolar, determinando la formación de quistes que pueden ser diagnosticados ecográficamente en el período fetal (7).

**Tabla 1.** Malformaciones pulmonares por alteraciones en las etapas del desarrollo embrionario normal.

Etapa	Periodo	Proceso	Malformación
Embrionaria	Primeras 5 semanas de gestación	A partir del intestino primitivo se desarrolla un divertículo ventral (respiratorio), desde donde inicia el desarrollo del tejido epitelial de todo el árbol respiratorio y de las vías aéreas mayores (destinada a convertirse en los 5 bronquios lobares).	Agenesia pulmonar, laríngea o traqueal. Estenosis laríngea. Traqueo broncomalacia. Malformaciones bronquiales. Quistes pulmonares (como el quiste broncogénico). Fístula traqueoesofágica.
Pseudoglandular	Entre semana 5 y 16 de gestación	En este período se produce la ramificación dicotómica de los bronquios que culmina con la formación de los bronquiolos terminales (preacinar). El tejido mesenquimático acompaña en su desarrollo a las vías aéreas y a partir de él desarrollará las estructuras cartilaginosas, musculares, linfáticas y sanguíneas.	Malformación congénita de la vía aérea pulmonar. Linfangectasia pulmonar congénita. Hipoplasia pulmonar. Quistes pulmonar. Secuestro pulmonar. Hernia diafragmática congénita.
Canalicular	Entre semana 16 y 27 de gestación	Formación de acinos y desarrollo de la irrigación sanguínea que se acerca a la vía aérea. Hacia el final de esta etapa aparece el surfactante y se hace posible la respiración con el aplanamiento progresivo del epitelio respiratorio	Hipoplasia pulmonar. Displasia acinar.
Sacular	Entre semana 28 a 36 de gestación	Bronquiolos terminales se transforman en bronquiolos respiratorios y se forman racimos terminales llamados sáculos que permiten el intercambio gaseoso.	Hipoplasia pulmonar. Displasia acinar. Displasia alvéolo-capilar.
Alveolar	Semana 36 hasta los 2-3 años	Aparecen septos secundarios y formación de estructuras alveolares que seguirán su desarrollo posteriormente	Hipoplasia pulmonar. Displasia acinar. Displasia alvéolo-capilar.

Fuente: (6)

Mediante la técnica ultrasonográfica (USG) se realiza el diagnóstico prenatal para determinar múltiples malformaciones en diferentes esferas del organismo, permitiendo tomar medidas inmediatas en cuanto al tratamiento quirúrgico (8), para disminuir de ese modo la mortalidad y morbilidad del neonato, así como mejorar la calidad de vida del neonato al nacer, debido a la versatilidad de este método simple y no invasivo para evaluar la anatomía diafragmática.

Existen diferentes tipos de clasificación de las MAQ, en la clasificación de Stocker (9) se describe como Tipo 0 (traqueobronquial), Tipo 1 (bronquial/bronquiolar), Tipo 2 (bronquiolar), Tipo 3 (bronquiolar/alveolar) y Tipo 4 (acinar distal); y de acuerdo con los rasgos más comunes: quistes recubiertos de epitelio columnar cuboideo tipo bronquial, comunicación con el árbol traqueobronquial, paredes constituidas por fibras elásticas y músculo liso, ausencia de glándulas mucosas y de cartílago (10). Otros colaboradores como Adzick et al (11) la describen basada en la apariencia anatómica y los hallazgos ecográficos: en macroquística, microquística e híbridas que representan lesiones que tienen componente histológico de MAQ y secuestro pulmonar. Dependiendo del tamaño de la lesión se pueden encontrar otros hallazgos en el estudio de ultrasonido como son: polihidramnios, derrame pleural, efecto de masa en el tórax con desplazamiento del mediastino e hidrops fetal (7). Estas clasificaciones pueden estar agrupadas como se muestra en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Clasificación ecográfica de la malformación adenomatoide quística pulmonar (MAQ).

TIPO	Clasificación	Stocker
I	Macroquística: Lesión ecogénicas pulmonar con quistes mayores a 5 mm que pueden ser únicos o múltiples con bordes mal definidos.	1,2,4
II	Mixta o Híbrida: Lesiones ecogénicas pulmonares con quistes menores a 5 mm y mayores a 5 mm o con suplencia vascular sistémica (secuestro pulmonar).	0
III	Microquística: Lesión ecogénicas pulmonar con aspecto sólido, uniforme y bien definida con quistes menores a 5 mm.	3

**Fuente:** Adaptación de (7) y (9)

A pesar de que la MAQ es de escasa incidencia, su diagnóstico debe tenerse en cuenta en el período neonatal ante la existencia de una dificultad respiratoria inmediata o una lesión radiográfica compatible en un paciente asintomático. Por otro lado, aunque la mayoría de estas lesiones tienen buen pronóstico, su presencia requiere un seguimiento posterior del recién nacido afecto, para confirmar el diagnóstico prenatal y realizar tratamiento quirúrgico en el caso de que existan complicaciones asociadas u otras malformaciones, tales como hidrops fetal, distrés respiratorio neonatal, durante largo tiempo (12)(13).

Existen países donde la mortalidad infantil ha disminuido; sin embargo, la mayoría se mantiene con tasas muy elevadas (14); en América Latina y el Caribe, el indicador es de 18 por cada 1000 nacidos vivos, y en Ecuador se ha reducido el indicador de 57 en el 1990, a 22 en el 2015 (15). En Cuba, se ha logrado reducir este indicador, realizando al paciente un diagnóstico prenatal con un correcto asesoramiento genético, abriendo nuevos horizontes para las familias con riesgo genético (16).

En el presente artículo, se presenta la experiencia de casos con diagnóstico prenatal de Enfermedad Adenomatoidea del Pulmón (EAP), manejo y seguimiento posterior de esta patología, con especial énfasis en los hallazgos clínicos, ecosonográficos y radiológicos existentes en el período neonatal. Adicionalmente, se realizó una revisión bibliográfica comparándose los resultados obtenidos de los pacientes en estudio, con los existentes en la literatura médica.

## PRESENTACIÓN DE CASOS

La presentación de los resultados de las pruebas diagnósticas prenatales y confirmación por anatomía patológica de estos casos, se realizó con la autorización de las parejas mediante el consentimiento informado.

**Caso 1.** Paciente 1: 32 años de edad, cubana, de piel blanca, con antecedentes patológicos personales de: **gesta 2**, parto 1, aborto 0, no refiere enfermedades alérgicas ni otra patología. Sin antecedentes de malformación fetal, ni enfermedad materna diagnosticada, con embarazo controlado y normal.

A las 22 semanas de gestación, el feto comienza con cuadro clínico de aleteo nasal, tiraje intercostal

intenso, taquipnea, cianosis y desplazamiento del latido cardíaco, por lo que se realiza ecografía urgente, diagnosticándose Enfermedad Adenomatosa Pulmonar de tipo quística. Se confirma el diagnóstico desde el punto de vista anatomopatológico,

observándose quistes de tamaño variable revestido de epitelio alveolar temprano.

En la Figura 1 se observan múltiples imágenes ecolúcidas agrupadas en ambos hemitorax, acompañadas de refuerzo acústico posterior, de aspecto quístico.



**Figura 1.** Imágenes ecográficas de malformación adenomatoide quística pulmonar (Caso 1).

**Caso 2.** Paciente 2 de 26 años, cubana, de piel mestiza, con antecedentes patológicos personales de: gesta 3, parto 1, aborto 1. Sin antecedentes de malformación fetal, Antecedente Patológico Personal (APP) de asma bronquial.

A las 22 semanas de gestación, se diagnostica enfermedad adenomatoidea del pulmón (EAP) de tipo

quística y por anatomía patológica al feto mediante la técnica ultrasonografía (USG), y se confirma diagnóstico con observación de quiste pequeño revestido de epitelio bronquial. En la Figura 2 se observan imágenes ecolúcidas única en hemitórax derecho, bordes bien definidos y refuerzo posterior, de aspecto quístico.



**Figura 2.** Imágenes ecográficas de malformación adenomatoide quística pulmonar (Caso 2).

**Caso 3.** Paciente 3 de 25 años, cubana, mestiza, con antecedentes patológicos personales de: gesta 1, parto 0, aborto 0. Sin antecedentes de malformación fetal, ni enfermedad materna diagnosticada.

En estudio USG prenatal de 22 semanas de gestación, se hace diagnóstico de EAP de tipo

microquística, y por anatomía patológica se confirma diagnóstico, observándose quiste muy pequeño regular revestido de epitelio alveolar temprano. En la Figura 3 se observa aumento de la ecogenicidad pulmonar y pequeñas imágenes microquísticas en ambos hemitórax.



**Figura 3.** Imágenes del USG: ecogenicidad pulmonar y microquistes en ambos hemitórax (Caso 3).



**Caso 4.** Paciente 4 de 30 años, cubana, blanca, con antecedentes patológicos personales de: gesta 3, parto 0, aborto 2 (interrupciones). Sin antecedentes de malformación fetal, ni patología materna diagnosticada. En estudio USG prenatal de 22 semanas de gestación, se realiza diagnóstico de EAP de tipo multiquística,

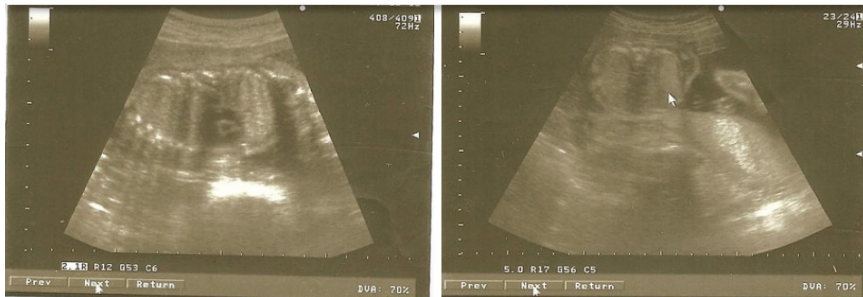
confirmándose diagnóstico por anatomía patológica, y visualizándose quistes muy pequeños irregulares y revestidos de epitelio alveolar. En la Figura 4 se observan múltiples imágenes ecolúcidas de bordes regulares y refuerzo posterior en ambos campos pulmonares.



**Figura 4.** Imágenes del USG: ecolúcidas de bordes regulares y refuerzo posterior en ambos campos pulmonares (Caso 4).

**Caso 5.** Paciente 5 de 22 años, cubana, blanca, con antecedentes patológicos personales de: gesta 2, parto 1, aborto 0. Sin antecedentes de malformación fetal ni enfermedad materna diagnosticada. A través de un análisis USG prenatal de 22 semanas de gestación, se hace diagnóstico de EAP de tipo sólida

y se confirma diagnóstico por anatomía patológica, observándose hipoplasia quística y quistes pequeños revestidos de epitelio alveolar. La Figura 5 muestra un aumento de ecogenicidad pulmonar bilateral, sin apreciarse imágenes ecolúcidas.

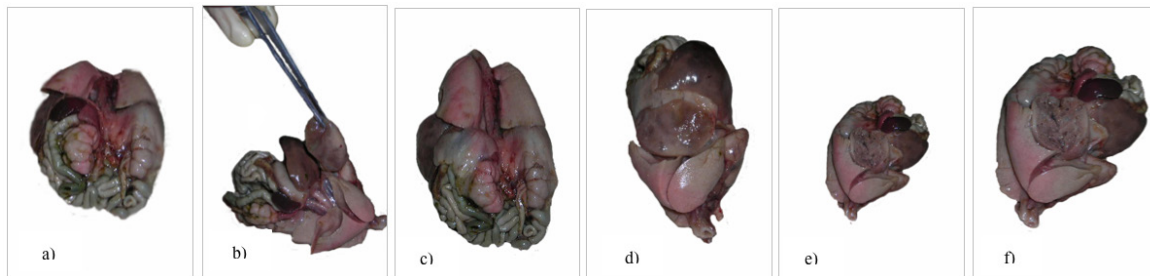


**Figura 5.** Imágenes del USG: aumento de ecogenicidad pulmonar bilateral sin demostrarse imágenes ecolúcidas (Caso 5).

**Anatomía patológica**

En la Figura 6 (a-f) se exhibe la anatomía patológica de casos clínicos, donde se observa una malformación heterogénea constituida por la malformación de

hendiduras quísticas, llenas de un material hemático coagulado y otras compactas redondeadas de mayor consistencia, con pequeña hendidura en el espesor.



**Figura 6 (a-f).** Hendiduras quísticas llenas de material hemático coagulado y otras compactas redondeadas de mayor consistencia con pequeña hendidura en el espesor.

## DISCUSIÓN

La MAQ es la causa más frecuente de masa intratorácica fetal diagnosticada por USG. Las lesiones más grandes pueden manifestarse durante el embarazo como hidrops fetal, preeclampsia y polihidramnios. Esta malformación podría involucionar hasta desaparecer espontáneamente durante el período intrauterino (17).

Las lesiones pueden ser sólidas y quísticas, según su aspecto ultrasonográfico. Cuando por su tamaño pueden ser visualizadas, generalmente ya existe compresión pulmonar y desviación del mediastino y corazón fetal. Frecuentemente, esta deformidad se detecta durante el periodo prenatal (18).

A su vez, las malformaciones adenomatoidea sólidas constituyen una masa sólida de microquistes y pueden ser: Enfermedad adenomatoide de tipo sólido (tipo III), Secuestro pulmonar, Teratoma y Rabdomioma (13).

Las malformaciones adenomatoidea quísticas pueden ser: Enfermedad adenomatoide de tipo quístico (tipo I y II), Quiste branquial, Quiste neuroentérico, Hernia diafragmática, Enfisema lobar congénito, Derrame pericárdico, Atresia laríngea y Atresia traqueal (11). El pronóstico depende de la presencia de hidrops fetal, de malformaciones asociadas, extensión, y el tipo anatomopatológico de la lesión; siendo las de tipo II y III, las de peor pronóstico.

La MAQ es una enfermedad no hereditaria esporádica, asociada a síndromes genéticos como trisomía 18 y displasia renal hereditaria; su patogenia aún es desconocida, debido a que no se han determinado los acontecimientos que desencadenan la enfermedad, a partir de la acción de un factor etiológico. Algunas hipótesis refieren que la misma se debe a una falla en la interacción del endodermo con el mesodermo, a una falla en la irrigación o que podría deberse a un desequilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis durante el desarrollo pulmonar (17).

Una vez descubierta la malformación, se describe como una anomalía hamartomatosa del desarrollo pulmonar, con proliferación adenomatoidea de quistes que se asemejan a bronquiolos y masa multiquística de tejido pulmonar, debido a una proliferación anormal de bronquiolos terminales, con supresión del desarrollo alveolar. El mismo ocurre entre la séptima y la quinta semana de gestación, debido a la detención del desarrollo del árbol bronquial fetal; esta

malformación pasa a denominarse malformación congénita pulmonar y de la vía aérea (Congenital Pulmonary Airway Malformation, CPAM) (19).

La malformación adenomatoidea quística pulmonar (MAQP) representa aproximadamente el 25% de todas las lesiones congénitas del pulmón, tiene igual frecuencia en el pulmón derecho que en el izquierdo y ligero predominio en varones. La enfermedad unilobar es mucho más común (85–95%) que la multilobar, con una incidencia: 1/25 000 a 1/35 000 nacidos vivos (20).

Un estudio reciente realizado indicó que existe correlación entre la malformación adenomatoidea congénita y algunas variables como la edad materna, la alimentación, falta de control prenatal, entre otras (21).

La alteración de diversos factores, endógenos y exógenos como la presencia de movimientos respiratorios fetales (MRF), un apropiado espacio intratorácico, fluido intra y extrapulmonar en volumen suficiente, una adecuada irrigación y salud materna, pueden alterar el delicado equilibrio durante el desarrollo pulmonar que garantiza el crecimiento, maduración o función de los tejidos en formación desde la etapa embrionaria hasta la alveolar en su vida adulta (22)(23).

La presentación clínica de EAP es variable y depende directamente del tamaño de la masa pulmonar; en la vida prenatal el peor pronóstico y alta mortalidad se asocia al desarrollo de hidrops fetal; en la vida post natal el cuadro clínico es variable y está igualmente relacionado con el tamaño de la lesión pulmonar (7).

El diagnóstico de las malformaciones congénitas de la vía aérea pulmonar puede resultar difícil en ciertas oportunidades, puede imitar clínica y/o radiológicamente otras enfermedades, consecuentemente, es conveniente que se encuentre presente en el pensamiento médico para facilitar su diagnóstico precoz (24).

## CONCLUSIONES

El desarrollo pulmonar anómalo relacionado con una malformación adenomatoidea quística, hipoplasia pulmonar, quistes pulmonares, linfangectasia pulmonar congénita, hernia diafragmática congénita y secuestro pulmonar, se genera en la etapa pseudoglandular de maduración del embrión.

Los resultados mostrados sobre los cinco casos

analizados en esta investigación, confirman que la malformación adenomatoidea quística (MAQ), es la causa más frecuente de masa intratorácica fetal diagnosticada por ultrasonografía (USG), donde las lesiones más grandes pueden manifestarse durante el embarazo como hidrops fetal, preeclampsia y polihidroamnios.

Los estudios ultrasonidos especializados (USG) utilizados durante el control prenatal para evaluar el crecimiento fetal, el hallazgo clínico y el diagnóstico de las anomalías como la Enfermedad Adenomatoidea del Pulmón (EAP) de manera temprana y oportuna, permiten tomar acciones, según el caso, que brinden mejor calidad de vida al recién nacido.

#### REFERENCIAS

1. Saavedra DM, Guelfand M. Enfoque actual de las Malformaciones Pulmonares. *Rev Clínica Las Condes* [Internet]. 2017;28(1):29–36. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmclc.2017.01.003>
2. Peña A, Pardo M, Quesada E, Arguelles T. Malformación adenomatoidea quística pulmonar Pulmonary cystic adenomatoid malformation. *Rev Cuba Obstet y Ginecol.* 2012;38(3):438–45.
3. Guzmán-Valderrábano C, Torres-Ontiveros A, Hernández-Saldaña R, Soto-Ramos M, Hinojos-Gallardo L, Hernández-Vargas O. Malformación congénita de la vía aérea pulmonar de tipo II: presentación de un caso clínico y revisión de la literatura w w . m. *Neumol Cir Torax.* 2016;75(2):155–60.
4. Colmenero M, García-Delgado M, Vavarrete I, López G. Utilidad de la ecografía pulmonar en la unidad de medicina intensiva. *Med Intensiva.* 2010;34(9):620–8.
5. El Nimer L, Aboultaif L, Jauregui Y, Colmenares T, Godoy Y, Conti T, et al. Estudio y manejo de la malformación congénita de la vía aérea pulmonar presentación de cinco casos y revisión de la literatura. *Avan Biomed.* 2013;2(1):16–22.
6. Salinas JA. Patología Pulmonar Congenita : Evaluación y Manejo Perinatal. *Rev Médica Clínica Condes.* 2016;27(4):485–98.
7. Chaparro A \_María. Resultado postnatal de fetos con malformación adenomatoide quística pulmonar en la unidad maternofoetal clínica colombiana. [Colombia]: Universidad del Rosario; 2013.
8. Ben-ishay O, Nicksa GA, Wilson JM, Buchmiller TL. Management of Giant Congenital Pulmonary Airway Malformations Requiring Pneumonectomy. *ATS* [Internet]. 2012;94(4):1073–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.athoracsur.2012.05.110>
9. Sfakianaki A, Copel J. Congenital Cystic Lesions of the Malformation and Bronchopulmonary Sequestration. *Rev Obs Gynecol.* 2012;5(2):85–93.
10. Gracia Remiro R, Santana Rodriguez, C, Herrera Martín M, Urbón Artero A, Ayala Curiel J, Jiménez Moya A, et al. Malformación adenomatoidea quística : Dos formas clínicas de presentación. *Bol Pediatrico.* 2000;40:176–80.
11. Adzick N, Harrison M, Flake A, Howell L, Golbus M, Filly L. Fetal surgery for cystic adenomatoid malformation of the lung. *J Pediatr Surg.* 1993;28(6):806–12.
12. Borobio V, Goncé A. Hidrops fetal no inmune. Barcelona - España: Fundación Medicina Fetal Barcelona; 2013.
13. Yanes-Calderón M, Rojas R-M, Castillo M, González R, De la Vega T. Diagnóstico prenatal de la malformación adenomatoidea quística pulmonar Prenatal. *scielo.* 2011;27(3):403–7.
14. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico. *Panorama de la salud 2015.* Paris; 2016.
15. UNICEF. Una oportunidad para cada niño. New york; 2016.
16. González-García R, Maza-Blanes M, Oliva-López Y, Menéndez- García R. Comportamiento del Programa de Diagnóstico Prenatal Citogenético mediante la amniocentesis en Minas de Matahambre. *Rev Ciencias Médicas.* 2013;17(3):69–79.
17. Escobar F, Fuentes F, Urzúa, F C, Capetillo, F M. Malformación Adenomatoidea Quística - pulmonar de presentación tardía: Revisión del tema y presentación de un caso. *scielo.* 2010;16(4):190–4.
18. Villamonte W, Guisse C, Escalante D, Acurio D, Jerí M, Ojeda E. Diagnóstico prenatal y manejo de malformación pulmonar fetal. *Ginecol Obstet (Lima).* 2001;47(1):66–70.
19. Guzmán- Vélez J, Ossa-Galvis M. Malformación

- congénita de la vía aérea pulmonar. *Redalyc*. 2014;28(2):283–92.
20. Fajardo-Escolar AP, Díaz-Bohada L. Case report Anesthetic management in two infants with cystic adenomatoid malformation – Case report. *Colomb J Anesthesiol* [Internet]. 2017;45(S1):76–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rcae.2016.11.014>
21. Méndez-González A. Malformaciones fetales diagnosticadas por ultrasonido especializado y su correlación al nacimiento. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2016.
22. *Am J Respir Crit Care Med* 2004. Mechanisms and Limits of Induced Postnatal Lung Growth. *Am Thorac Soc Doc*. 2004;170:319–43.
23. Iñiguez F, Sánchez I. Desarrollo pulmonar. *Neumonol Pediátrica*. 2008;3(2):148–55.
24. Gonzalez Y, Ortiz J, Silva A, Romero A. Enfermedad Adenomatosa Quística. Presentación de caso. *Fac Tecnol la salud*. 2018;9(1):173–8.

## Proceso de atención de enfermería en un paciente post-operado de corrección total de Tetralogía de Fallot. Reporte de Caso y Revisión de la Literatura

**Katty, Almache; Elicia, Agurto; Carol, Moreta; Johanna, Riccardi; Katherine, Vera; Alicia, Cercado**

(Recibido: Noviembre - 2017, Aceptado: Marzo - 2018)

Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Estatal de Milagro, UNEMI, Ecuador.  
Email: acercadom@unemi.edu.ec

### Resumen

La Tetralogía de Fallot es una cardiopatía congénita cianógena frecuente en la infancia, cuyo tratamiento quirúrgico presenta alta tasa de éxito a corto y largo plazos. Las complicaciones del tratamiento quirúrgico pueden y deben ser corregidas oportunamente, siendo crucial la intervención de enfermería en la evolución del paciente: valoración de signos de disfunción ventricular derecha, ejecución de intervenciones para minimizar los efectos de dicha disfunción, colaboración en el tratamiento de la entidad y la evaluación constante del paciente. Se presenta un caso de un paciente de 1 año y 5 meses, donde después de una valoración cardiológica y un electrocardiograma se le diagnostica Tetralogía de Fallot, y posteriormente fue intervenido quirúrgicamente sin reportarse ninguna complicación durante la cirugía. Se manejaron diagnósticos de enfermería, con objetivos a seguir e intervenciones específicas que se realizaron de acuerdo con la presentación de las manifestaciones del paciente en estudio.

**Palabras Clave:** cardiopatías congénitas; proceso enfermero; Tetralogía de Fallot.

### Process of nursing care in a post-operative patient of complete correction of Tetralogy of Fallot. Case study and literature review

### Abstract

Tetralogy of Fallot is a congenital heart disease cyanotic common in childhood, whose surgical treatment has a high rate of success in the short and long term. Complications of surgical treatment may and should be corrected promptly, being crucial the nursing intervention in the evolution of the patient: sign valuations of right ventricular dysfunction, implementation of interventions for minimize the effects of this dysfunction, collaboration in the treatment of the entity and the constant evaluation of the patient. A case of a patient of 1 year and 5 months, is presented where after a cardiac valuation and an electrocardiogram is diagnosed with Tetralogy of Fallot, and you are subsequently underwent surgery without reporting no complications during the surgery. They were handled several diagnoses nursing, with objectives to be followed and specific interventions carried out according to the presentation of the manifestations of the patient in the study.

**Keywords:** congenital heart disease; process nurse; Tetralogy of Fallot.

## INTRODUCCIÓN

El corazón funciona a manera de una bomba natural, al impulsar la sangre a todo el organismo, es responsable de la circulación de la sangre por medio de los latidos. El corazón puede estar sujeto a diversas enfermedades como la del presente caso clínico que se denomina Tetralogía de Fallot (1). Siendo la Tetralogía de Fallot (TF) una cardiopatía congénita que se caracteriza por presentar estenosis infundibular de la arteria pulmonar, cabalgamiento aórtico, comunicación interventricular e hipertrofia del ventrículo derecho. Es la cardiopatía congénita cianógena más prevalente, representando entre el 3,5 a 8% de los defectos cardíacos congénitos (2). La ciencia todavía no ha determinado la causa específica de la tetralogía de Fallot (TF) en todos los casos, pero se cree que la genética desempeña un papel importante. Una persona que nace con tetralogía de Fallot tiene más probabilidades de tener un hijo con la misma afección (3).

Cada año, 4 de cada 10.000 bebés que nacen en los Estados Unidos sufren de esta afección, que debe su nombre al médico francés, Étienne Fallot, quien primero describió la enfermedad en las últimas décadas del 1800. Aproximadamente el 10% de los bebés con un problema de corazón padecen de tetralogía de Fallot (4).

La Tetralogía de Fallot es una combinación de cuatro defectos congénitos que afectan la estructura del corazón y la manera en la que la sangre fluye a través de éste (4).

*La comunicación interventricular (CIV)*, consiste en un orificio en el tabique, o la pared, que divide al corazón en dos cámaras inferiores, o ventrículos. El tabique actúa como barrera, impidiendo que la sangre proveniente de ambos lados del corazón se mezcle (5).

*La Estenosis pulmonar*, es un estrechamiento o un aumento del grosor de la válvula que conecta el ventrículo derecho con la arteria pulmonar, un vaso sanguíneo que transporta sangre rica en oxígeno del corazón a los pulmones, donde la sangre recibe más oxígeno y luego regresa al corazón. Cuando existe una estenosis pulmonar, el corazón tiene que funcionar con más intensidad para bombear sangre hacia los pulmones. Por lo general, la cantidad de sangre que llega a los pulmones es por debajo de lo normal (6).

Otro de los defectos de la TF es la *Hipertrofia ventricular derecha*, que es cuando la pared muscular del ventrículo derecho aumenta su grosor (7).

Y por último, una aorta desplazada, cuando la arteria que transporta sangre rica en oxígeno al cuerpo no está en el lugar que le corresponde y se ubica sobre ambos ventrículos, en vez de estar sobre el ventrículo izquierdo (posición en un corazón sano). Esto hace que la sangre que tiene poco oxígeno se traslade hacia la aorta y desde allí hacia el resto del cuerpo, en vez de hacia la arteria pulmonar, quien normalmente la llevaría a los pulmones a llenarse de oxígeno (5).

El efecto combinado de estos defectos es un escaso suministro de sangre hacia los pulmones, lo cual hace que en el resto del cuerpo circule sangre con poco oxígeno. Un nivel bajo de oxígeno causa cianosis, que se manifiesta con una coloración azulada o púrpura de la piel, los labios y las uñas (8). Y se produzca la cianosis (coloración azulada o púrpura de la piel, los labios y las uñas del bebé). Es posible que el niño sufra de episodios repentinos de cianosis, cuando llora o se alimenta (8).

Los niños que sufren de tetralogía de Fallot (FT), suelen marearse, desvanecerse o tener convulsiones. Al igual que tienen un riesgo mayor de contraer infecciones del revestimiento interno del corazón denominado endocarditis (9). También pueden presentar un ritmo cardíaco irregular, denominado arritmia (10), que al combinarse con la tetralogía de Fallot en algunos casos causan una presión elevada en el lado derecho del corazón.

Los factores que incrementan el riesgo de sufrir esta afección durante el embarazo incluyen: alcoholismo materno, diabetes, madre mayor de los 40 años de edad, desnutrición durante el embarazo, rubéola y otras enfermedades virales durante el embarazo (11).

Otros síntomas incluyen: soplo en el corazón, irritabilidad, dificultad para respirar, cansancio, ritmo cardíaco acelerado (palpitaciones), desmayos, agrandamiento o ensanchamiento de la piel y los huesos alrededor de los extremos de los dedos (4).

Los niños con Tetralogía de Fallot son más propensos a tener trastornos cromosómicos, como el síndrome de Down y el síndrome de Di George (una afección que provoca defectos cardíacos, niveles bajos de

calcio e inmunodeficiencia(12).

**Tratamiento**

Se recomienda en recién nacidos sintomáticos, infusión de prostaglandina: Prostaglandinas (0,01 a 0,1 mcg/kg por min IV) para reabrir el conducto arterioso puede ser una medida paliativa en recién nacidos con cianosis grave.

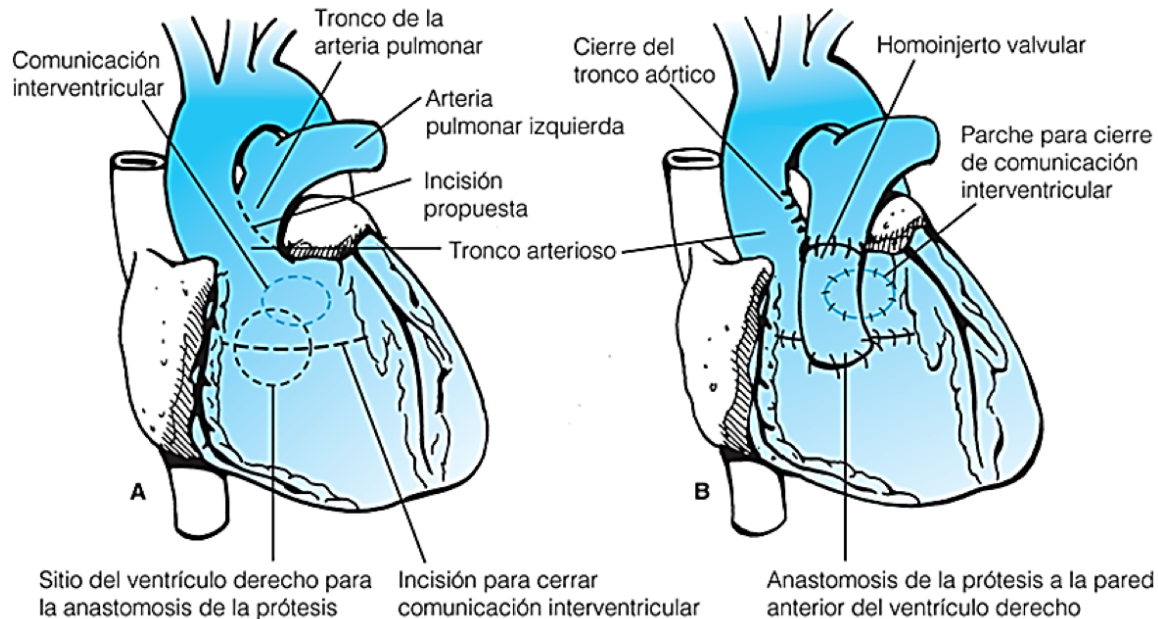
En las crisis de hipercianosis (posición, calmar al paciente, O<sub>2</sub> y, a veces fármacos.

Intervención quirúrgica, donde el cirujano procede a la *Reparación intercardíaca completa*.

Al ensanchar o sustituir la válvula pulmonar y agrandar el conducto entre el ventrículo derecho y la arteria pulmonar con el fin de mejorar el

flujo de sangre hacia los pulmones. Después, la comunicación interventricular se emparcha para detener la mezcla de la sangre rica en oxígeno con la sangre pobre en oxígeno entre los ventrículos (13) (14).

Estas reparaciones también solucionan otros dos defectos (la aorta desplazada y la hipertrofia ventricular derecha). Dado que el ventrículo derecho no se tiene que esforzar para bombear sangre hacia los pulmones, el grosor de la pared del ventrículo disminuirá. Y el emparche de la comunicación interventricular (CIV) evita que la sangre con poco oxígeno entre en la aorta (7). Como se observa en la Figura 1.



**Figura 1.** Diagnóstico y tratamiento quirúrgico de la tetralogía de Fallot  
Fuente: (15)

La corrección quirúrgica tiene como objetivo restituir la anatomía y fisiología normal del corazón, está indicada en aquellos pacientes en los que se presenta la TF, está contraindicada en pacientes con arterias pulmonares hipoplásicas, en cuyos casos se realizará corrección quirúrgica paliativa mediante una fístula sistémico-pulmonar (11).

**Cirugía temporal o paliativa:** sólo se llevan a cabo reparaciones menores para mejorar el flujo de sangre hacia los pulmones. Esto sólo ocurre cuando el bebé está demasiado débil o pequeño como para soportar una cirugía completa. En

una cirugía temporal, el cirujano crea una ruta secundaria de manera que la sangre fluya hacia los pulmones para obtener oxígeno. Esto se logra mediante la colocación de un tubo pequeño, denominado "derivación", entre una arteria principal que se ramifica de la aorta y la arteria pulmonar. Cuando el bebé se fortalece, se podrá llevar a cabo la reparación total.

**CASO CLINICO**

**Proceso de Atención de Enfermería**

Se utilizó el método descriptivo para relatar el caso

de una paciente con Tetralogía de Fallot corregida quirúrgicamente: corrección de Fallot con cierre de canal interventricular de la infundibulotomía derecha con parche de pericardio y parche transanular del tronco de la arteria pulmonar; sin reportarse ninguna complicación durante la cirugía.

Paciente sexo masculino, 1 año, 5 meses de edad, que fue llevado a sala de urgencias por su madre, **quien refirió que presentó** problemas cardiacos, después de una valoración cardiológica y un electrocardiograma se le diagnostica Tetralogía de Fallot, razón por la cual, es ingresado al área de hematología y se lo prepara para su posterior cirugía correctiva. Su historia clínica refiere datos de hipoxia neonatal al momento del parto, razón por la cual estuvo 3 días en termo cuna con soporte de oxígeno, con su posterior alta. Su madre refiere vacunas completas para la edad.

*Enfermedad actual o motivo de la consulta*

Paciente de 1 año 5 meses que ingresa desde Consulta Externa con Diagnóstico de Tetralogía de Fallot para programar cirugía cardiológica, al momento activo, reactiva afebril sin datos de dificultad respiratoria.

*Diagnóstico definitivo*

Corrección de Fallot con Cierre de Canal Interventricular en la Infundibulotomía derecha con Parche de pericardio y Parche transanular en el tronco de la arteria pulmonar.

*Evolución*

Paciente de 1 año 5 meses de sexo masculino, en condiciones clínicas graves con Dx: Tetralogía de Fallot corregida mediante cirugía de: Cierre de CIV, Infundibulotomía derecha, parche de pericardio transanular, tronco de arteria pulmonar, colocación de dren mediastínico, aspiración de secreciones del tubo traqueal donde se aspira tapón mucoso, además no realiza deposiciones desde el día anterior.

**Antecedentes patológicos personales**

A los 6 meses detectan problemas cardiacos, por lo que le hacen referencia a la presente casa de Salud y es valorado y le realizan una revisión cardiológica y un ecocardiograma donde reporta Tetralogía de Fallot, posteriormente fue ingresado y programado para cirugía cardiológica.

**Tratamiento del paciente**

*Tratamiento farmacológico*

Cirugía correctiva intracardiaca completa. Por medio de la intervención quirúrgica a la que se sometió el paciente se realizaron las siguientes correcciones:

- Cierre de CIV (comunicación interventricular): que consiste en cerrar la comunicación interventricular con un parche, generalmente de pericardio bovino.
- Infundibulotomía derecha: ampliación del tracto de salida del ventrículo derecho con resección muscular y valvuloplastia pulmonar.
- Parche de pericardio transanular en tronco de la arteria pulmonar: parche limitado a través del anillo pulmonar o el tronco pulmonar.

**Exámenes de Laboratorio**

*Examen General de Orina, Biometría Hemática*

*Proceso de atención de enfermería*

El paciente pediátrico post-operado de cirugía cardiovascular requiere de una atención adecuada y encaminada a optimizar el gasto cardíaco, corregir la hipotermia, mantener la permeabilidad de los tubos torácicos, facilitar una extubación precoz, proporcionar comodidad, apoyo emocional y controlar las complicaciones (16) (17).

Se realizó valoración cefalocaudal iniciando por la cabeza y cuero cabelludo, cara, oídos, nariz, boca, cuello, tórax, abdomen, región genitourinaria, piel y terminando con las extremidades superiores e inferiores y columna vertebral.

Examen físico: realizando una inspección general tomando los valores de signos vitales temperatura, pulso, respiración, presión arterial. Así como las medidas antropométricas peso y estatura. Además, se realiza palpación, percusión y auscultación.

Valoración por patrones funcionales de salud: realizando una valoración de los patrones percepción-manejo de salud, nutricional metabólico, de eliminación, de actividad, de sueño y descanso, cognitivo-perceptual, autopercepción-autoconcepto, afrontamiento-tolerancia al estrés-adaptación. Ver Tabla 1.

En la Tabla 2 se presenta la ficha de cuidados de enfermería basado en la taxonomía enfermera NANDA, utilizando para ello el Proceso de Atención de Enfermería que permite establecer un plan de cuidados científico, profesional, individualizado e integral.



**Tabla 1.** Valoración por patrones funcionales de salud

Patrón	Valoración	PAES por patrones alterados DX: enfermero
<b>Percepción – manejo de salud</b>	El paciente presenta una apariencia parcialmente adecuada debido a que tiene pérdida de tejido adiposo y baja estatura, su vestimenta es limpia.	Gestión ineficaz del régimen terapéutico familiar
<b>Nutricional metabólico</b>	Madre del niño refiere antes de hospitalización no tener muy buenos hábitos alimenticios. Al momento en el hospital mantiene una dieta balanceada además de realizar varias tomas al día de la Fórmula alimenticia. No presenta náuseas ni ganas de vomitar antes ni después de la alimentación.	Desequilibrio nutricional: ingesta inferior a las necesidades
<b>Eliminación</b>	Presenta un patrón de eliminación diario normal de diuresis espontánea y defecación adecuada	
<b>Actividad – ejercicio</b>	Se observa hipoactivo con debilidad y fatiga al realizar los pocos movimientos, mantiene reposo relativo pero por lo general, es un paciente que permanece encamado.	Deterioro de la movilidad física. Fatiga. Patrón respiratorio ineficaz
<b>Sueño y descanso</b>	Presenta dificultad para dormir a causa del ambiente hospitalario y la presencia de las luces encendidas, el cual es motivo de que el paciente presente irritable y fatigado.	Trastorno del patrón del sueño
<b>Cognitivo – perceptual</b>	Se encuentra consciente, activo, reactivo.	
<b>Auto percepción – autoconcepto</b>	Se le observa fatigado con la necesidad de terapia afectiva por parte del personal de enfermería, el cual contribuya a mantenerlo calmado durante su estancia en el hospital.	
<b>Sexualidad y reproducción</b>	Es un niño de sexo masculino.	
<b>Rol – relaciones</b>	Está al cuidado y observación de su madre durante la permanencia en el hospital	
<b>Afrontamiento – tolerancia al estrés – adaptación</b>	Madre refiere que manifiesta tranquilidad durante la realización de ciertos procedimientos por parte del personal de enfermería o médicos. Se observa pasivo durante la valoración cefalocaudal realizada y examen físico	Ansiedad

**Tabla 2.** Ficha del Plan de cuidados de enfermería

<u>PLAN DE CUIDADOS DE ENFERMERÍA</u>		DIAGNÓSTICO: Corrección del fallot + cierre del CIV + infundibulotomía derecha + parche pericardio+ parche trananular + tronco de la arteria pulmonar.			
Nombre: XXXXX	Edad: 1 año, cinco meses	Fecha:	Historia Clínica:		
Área: Sala General	Cama: x				
DIAGNOSTICO DE ENFERMERÍA (NANDA)		RESULTADOS ESPERADOS (NOC)			
NIVEL:	ESPECIALIDAD: Cardiología	RESULTADO	INDICADOR	ESCALA DE MEDICION	PUNTUACION DIANA
DOMINIO	4- Actividad reposo	0415 - Estado respiratorio	Frecuencia respiratoria	1 Grave	
CLASE	4-Repuestas cardiovasculares/pulmonares		Saturación de oxígeno	2 Sustancial	3-5
CÓDIGO	0032- Patrón respiratorio ineficaz		Acumulación de secreciones	3 Moderado	3-5
		DOMINIO	Diaforesis	4 Leve	2-5
	Patrón respiratorio ineficaz r/c, malformación congénita, cirugía cardiaca m/p aumento de la frecuencia respiratoria, secreciones espesas blanquecinas, dificultad respiratoria.	II Salud fisiológica	Ruidos respiratorios accesorios	5 Ninguno	
		CLASE		1 Grave	
		E-Cardiopulmonar		2 Sustancial	
				3 Moderado	2-5
				4 Leve	3-5
				5 Ninguno	
INTERVENCIONES DE ENFERMERÍA (NIC)					
Dominio 2- Fisiológico: Complejo		CLASE K- Control respiratorio		Código 3140- Manejo de las vías aéreas	
INTERVENCIONES					
ACTIVIDADES	FUNDAMENTO CIENTIFICO	EVALUACIÓN			
<ul style="list-style-type: none"> <li>Colocar al paciente en posición semi Fowler.</li> <li>Realizar nebulizaciones cada 6 horas</li> <li>Aspiración de secreciones cada 6 horas.</li> <li>Ascultar sonidos respiratorios.</li> <li>Administrar Oxígeno por cánula nasal por razones necesarias.</li> <li>Regular la ingesta de líquidos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Permite que exista un potencial de ventilación posible</li> <li>Contribuye a fluidificar las secreciones</li> <li>Eliminar la obstrucción respiratoria</li> <li>Mantener una saturación de Oxígeno adecuado en el organismo.</li> <li>Contribuye a optimizar el equilibrio de los líquidos.</li> </ul>	Paciente presenta al momento una frecuencia respiratoria elevada de 40 x' con una saturación de oxígeno de 98%, sin cánula de oxígeno, mantiene obstrucción respiratoria por acumulación de secreciones.			

## DISCUSIÓN

La Organización Panamericana de la Salud (OPS), revela que las malformaciones congénitas son la segunda causa de muerte en pacientes menores de 28 días y menores de 5 años de edad en toda América. A nivel mundial, estos trastornos congénitos afectan a uno de cada 33 bebés y son la causa de 3,2 millones de discapacidades cada año. Entre las malformaciones congénitas se encontramos que las cardíacas (del corazón, grandes arterias, cámaras y tabiques cardíacos) son las más frecuentes, seguidas de las anomalías del tubo neural (del cerebro y medula espinal) y el Síndrome de Down (asociado a cardiopatías graves).

Según González y López (18) a pesar de no existir un registro nacional de malformaciones congénitas, se pudo obtener ciertos datos mediante los registros de ingresos, egresos y defunciones hospitalarias, provista por el INEC. Estos datos demostraron que durante un periodo de siete años los casos de malformaciones congénitas ascendieron a 51.375. De ellas, las que afectaron a niños menores de un año de edad fueron 16.679. Los defectos congénitos más frecuentes en orden de prevalencia fueron labio leporino, malformaciones cardíacas, hidrocefalia y Síndrome de Down.

## CONCLUSIONES

En la mayoría de los casos estudiados de Fallot, el árbol pulmonar es normal, lo que verdaderamente marca en gran medida el grado de complicación y severidad del caso es el tamaño del anillo y de la válvula pulmonar. Si el anillo es pequeño, lo que ocurre en unos dos tercios de los pacientes, es necesario el parche transanular en la corrección quirúrgica, lo que conlleva posibles reoperaciones en el futuro. Si es de tamaño normal (un tercio de los pacientes), la cirugía respeta la válvula pulmonar, y no se contempla ninguna reoperación futura (14).

Si la tetralogía de Fallot no se repara, el niño tendrá que limitar su participación en deportes competitivos y en otras actividades físicas. Muchos niños que se someten a la cirugía para corregir el defecto no tienen problemas, participan en las actividades normales de los niños y llegan a ser adultos sanos.

La disfunción del ventrículo derecho es una entidad que se presenta con frecuencia en el postoperatorio de cirugía cardiovascular pediátrica, su presentación

y causa es variable, requiere de una intervención médico- enfermera eficiente, eficaz y rápida que conlleve a la detección y tratamiento oportuno. La intervención de enfermería debe ser altamente especializada pues implica todo un universo de conocimientos teórico-prácticos. De esta intervención depende la rapidez con la que se diagnostique y la eficacia del tratamiento de dicha entidad y sus complicaciones.

## REFERENCIAS

1. González J, Cadavid AM, Aguilera D, Cazzaniga M. Artículo de actualización para formación continuada Tetralogía de Fallot. *Rev Colomb Cardiol.* 2008;15(3):139–47.
2. Telich E, López-Cordero O. Tetralogía de Fallot : reporte de un caso y revisión de la literatura. *Rev Fac Med Univ Nac Auton Mex.* 2012;55(6):21–5.
3. Añorve A, Corona M de los A, Suchilt ML, Martínez A, Jimenez M del C. Corrección total de la Tetralogía de Fallot. *Rev Mex Enfermería Cardioógica.* 2006;14(1):29–32.
4. KidsHealth. KidsHealth from Nemours [Internet]. Tetralogía de Fallot. 2012. Available from: <http://fugazi.kidshealth.org/es/parents/tetralogy-of-fallot-esp.html?WT.ac=pairedLink>
5. Medline Plus. Medline Plus. Información de salud para usted [Internet]. Cirugía correctiva para defectos cardíacos congénitos. 2018. Available from: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002948.htm>
6. CDC. Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades [Internet]. Información sobre la comunicación interventricular. 2016. Available from: <https://www.cdc.gov/ncbddd/spanish/birthdefects/ventricularseptaldefect.html>
7. De Micheli A, Aranda A, Medrano G. Aspectos electrocardiográficos de la hipertrofia ventricular derecha en el cor pulmonale crónico. *Arch Cardiol México.* 2006;76(1):69–74.
8. Baffa G. Rady Childrens. Hospital San Diego [Internet]. Tetralogía de Fallot. 2012. Available from: <https://www.rchsd.org/health-articles/tetraloga-de-fallot/>
9. Gorrín Román F, Cruz Avilés L, Valladares Carvajal F, Viera Valdés B, Rodríguez Díaz P. Guía de práctica clínica para el tratamiento de la endocarditis infecciosa. *MediSur.* 2009;7(1):43–54.

10. Cano-García M, Cuenca-Peiró V, Moreno-Samos JC, Castillo-Martín R, Ruiz-Alonso E, Picazo-Angelín B, et al. Resultados y complicaciones postoperatorias en la corrección completa de la tetralogía de Fallot. *Cardiocre*. 2016;51(2):66–70.
11. Avila Larreal A, Gómez M, Rangel L, Guerra M, Benítez B, Márquez LE, et al. Evaluación de exámenes de laboratorio clínico durante el control prenatal según el trimestre del embarazo. *Saber*. 2018;30:59–66.
12. Flores-Arizmendi K, Corcuera-Delgado C, Reyes-Macedo M. Neonato masculino con síndrome Down , tetralogía de Fallot y enterocolitis necrosante. *Acta Pediátrica México*. 2017;38(3):175–81.
13. Telich-Tarriba JE, Ocampo A, López-Cordero S, Rodríguez JJ, Juárez-Orozco, Alexánder E. Tetralogía de Fallot: reporte de un caso y revisión de la literatura. *Rev la Fac Med la UNAM [Internet]*. 2012;55(6):21–5. Available from: <http://www.scielo.org.mx/pdf/facmed/v55n6/v55n6a4.pdf>
14. Gil-Jaurena JM, Ferreiros M, Castillo R, Conejo L, Cuenca V, Zabala JI. Neoválvula pulmonar en la corrección del Fallot con parche transanular. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63(12):1438–43.
15. Doherty M G. *CURRENT: Diagnóstico e Tratamiento*. 14th ed. Brazil: McGraw-Hill Education; 2017.
16. Sánchez Cisneros N. Proceso enfermero en disfunción ventricular derecha en un adolescente postoperado de corrección total de tetralogía de Fallot. *Rev Mex Enfermería Cardiológica*. 2004;12(2):61–8.
17. Bojórquez-Ramos JC. Infundibulectomía mínima adversus ventriculotomía clásica en tetralogía de Fallot. *Rev Médica Inst Mexicano del Seguro Soc*. 2013;51(4):438–53.
18. González-Andrade F, López-Pulles R. Congenital malformations in Ecuadorian children : urgent need to create a National Registry of Birth Defects. *Appl Clin Genet*. 2010;(3):29–39.

## NORMAS DE PUBLICACIÓN

La Revista electrónica FACSalud UNEMI, es una publicación de la Unidad Académica de Ciencias de la Salud (FACS), de la Universidad Estatal de Milagro (UNEMI), Ecuador, que se gestó desde la inquietud por la adquisición de nuevas vías de información, acceso a la investigación y posibilidad de intercambio de experiencias y conocimientos de una manera actualizada y rápida en el área de la Salud Humana. Es una revista científica arbitrada, de publicación semestral dirigida a la población universitaria, que publica principalmente trabajos originales de investigación científica, estudios de casos, ensayos y comunicaciones breves en las áreas prioritarias de la revista. En su edición se cuidan todos los detalles que la hagan una publicación atractiva y de fácil manejo para todos los usuarios. Siendo el documento digital un recurso que ofrece infinidad de ventajas y prestaciones, la revista electrónica FACSalud UNEMI tiene un rigor científico, credibilidad, actualidad y autenticidad en sus contenidos presentados a texto completo y de libre acceso.

### PROCESO DE EVALUACIÓN POR PARES

El proceso de revisión consta de dos etapas, la evaluación interna y evaluación externa (llamada también revisión por pares).

Evaluación interna: Es una primera revisión en la que se procura hacer todas las observaciones posibles al artículo, de tal manera que cuando llegue a manos del revisor externo aumente la probabilidad de que el artículo sea aprobado. Esta etapa consiste en:

- Revisión del formato del artículo que debe ajustarse a la Normativa de la Revista.
- Revisión de la originalidad, es decir que el artículo no haya sido publicado anteriormente, o que en su contenido aparezcan debidamente referenciados los aportes de otros, o que el contenido tomado de otros autores no supere el 20% del total del artículo (se usa programa URKUND para medir el nivel de plagio en caso que exista).
- Acompañado a la originalidad está el compromiso legal de que el autor no ha presentado su artículo a otro medio de difusión y que tampoco lo va a retirar de la revista mientras dure el proceso de revisión.
- Revisión del Abstract (que las traducciones hechas por los autores corresponden al texto del resumen).
- Revisión de la redacción y ortografía, donde se verifique que las ideas presentadas en cada párrafo son claras, entendibles y sin errores de redacción u

ortografía.

- Clasificación del artículo en divulgativo (en este caso se rechaza), artículo científico, comunicación breve, estudio de caso y revisión bibliográfica

Evaluación externa: una vez que el artículo ha superado la revisión interna, se envía a dos evaluadores externos, los cuales son tomados en consideración de acuerdo con el perfil profesional afín al área o temática. En este proceso de revisión se maneja el “doble ciego”; es decir, el evaluador no sabe a quién pertenece el artículo, y el autor no sabe quién lo está evaluando. De esta manera se garantiza imparcialidad. Para la valoración, se envía a los evaluadores externos el artículo y el formato de evaluación (artículo científico, comunicación breve, estudio de caso y revisión bibliográfica) que contiene los parámetros con los cuales se evalúa el manuscrito. Revisión final: consiste en la revisión por parte del Comité Editorial. Puede darse el caso que los nuevos párrafos incorporados estén con errores ortográficos o de redacción; de ahí que se procura realizar una segunda revisión en cuanto a la redacción del artículo definitivo.

### FRECUENCIA DE PUBLICACIÓN

La revista FACSalud UNEMI se inicia en el año 2017 con una frecuencia semestral, cubriendo los lapsos diciembre-mayo y junio-noviembre.

### TEMÁTICA Y ALCANCE

El objetivo de la revista es divulgar las realizaciones científicas y tecnológicas de la Unidad Académica de Ciencias de la Salud de la Universidad Estatal de Milagro, así como las que se realicen en otras universidades y centros de investigación nacionales e internacionales, en las áreas relacionadas con la Salud Humana: Biotecnología, Enfermería, Medicina Ancestral, Microbiología, Nutrición, Salud Pública, Tecnología de Alimentos, Terapia Respiratoria, y áreas afines a la salud.

### CONDICIONES GENERALES

Las contribuciones que se publiquen en la revista deben estar enmarcadas en los requisitos fijados en la presente Norma y aceptadas por el Comité Editorial. Todos los trabajos deben ser originales e inéditos, en idioma español o inglés, y no estar en proceso de arbitraje por otras revistas. Los derechos de publicación de los trabajos son propiedad de FACSalud UNEMI, se autoriza la reproducción total o parcial de los artículos,

siempre y cuando se cumplan las condiciones siguientes: sin fines comerciales, no se realicen alteraciones de sus contenidos y se cite su información completa (nombre y apellido del autor, número de volumen, número de ejemplar y URL exacto del documento citado). Todos los artículos publicados aquí son de entera responsabilidad de sus autores, la revista no se solidariza con doctrinas, ideas o pensamientos expresados en ellos.

### CONTRIBUCIONES

El Comité Editorial considerará contribuciones en las secciones de las diferentes áreas de la revista como:

**Artículos originales:** son el resultado de trabajos de investigación, bien sea bibliográfico o experimental, en el que se han obtenido resultados, se discutieron y se llegaron a conclusiones que signifiquen un aporte innovador a la salud humana.

**Comunicaciones breves:** consisten en reportes resumidos o avances de investigaciones originales. Se aplican las mismas indicaciones que para los artículos originales. La extensión máxima será de 2.200 palabras (sin incluir título, autores y resúmenes). Debe tener hasta 20 referencias.

**Estudios de caso:** los manuscritos estarán enfocados a casos clínicos o anatomopatológicos de actualidad que sean útiles en la formación de los estudiantes de salud. El reporte del caso deberá seguir las indicaciones descritas en artículos de revisión, tener un resumen clínico, introducción, datos de laboratorio, seguidos por análisis del caso, discusión y conclusiones.

**Revisiones bibliográficas:** se consideran revisiones sólo aquellos artículos que presentan el resultado de un análisis de información reciente, siguiendo alguna de las metodologías aceptadas para tal propósito. Así mismo, es indispensable describir brevemente el método utilizado: fuentes de información, bases de datos, sistemas de búsqueda, descriptores, etc. La extensión máxima será de 3.000 palabras (sin incluir título, autores y resúmenes). Debe tener no menos de 30 referencias.

### PRESENTACIÓN DE LOS ARTÍCULOS

Todas las contribuciones deben ser enviadas en formato electrónico. La redacción del manuscrito debe realizarse en español o inglés. Éste debe ser redactado en tercera persona y tiempo verbal presente. Los artículos deben seguir las Normas de Vancouver ([http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)) para la

presentación de los mismos. Las contribuciones deben tener una extensión mínima de 4 páginas y 20 como máximo. Las Revisiones bibliográficas deben tener mínimo 30 referencias bibliográficas, en Word Microsoft Office Word®, tamaño carta, interlineado sencillo, sin espacios adicionales entre párrafos y títulos. Tipo de letra: Times New Román; tamaño: 12; justificado, sin sangría y con márgenes superior e inferior: 3 cm y márgenes derecho e izquierdo: 2,5 cm.

### ORGANIZACIÓN DE LOS ARTÍCULOS

Se recomienda tener en consideración las siguientes pautas para el envío del manuscrito:

1. Título en Español e Inglés. Debe ser breve, preciso y codificable, sin abreviaturas, paréntesis, fórmulas, ni caracteres desconocidos. Debe contener la menor cantidad de palabras (extensión máxima de 15 palabras) que expresen el contenido del manuscrito y pueda ser registrado en índices internacionales.
2. Datos de los autores. Debe indicar nombre y apellido. Se recomienda para una correcta indización del artículo en las bases internacionales, la adopción de un nombre y un solo apellido o bien el nombre y los dos apellidos unidos por un guion. En la parte inferior del artículo se debe indicar la información completa de cada autor: nombre y apellido, lugar de trabajo, país, cargo que desempeña y dirección completa, título académico y correo electrónico.
3. Resumen en Español e Inglés y Palabras Clave en Español e Inglés (Keywords). Debe señalar el objetivo o finalidad de la investigación y una síntesis de la metodología o procedimiento, de los resultados y conclusiones más relevantes. Tendrá una extensión máxima de 250 palabras en un solo párrafo con interlineado sencillo. No debe contener referencias bibliográficas, tablas, figuras o ecuaciones. Al final del resumen incluir de 3 a 6 palabras clave o descriptores significativos, con la finalidad de su inclusión en los índices internacionales.
4. Introducción. Se presenta en forma concisa una descripción del problema, el objetivo del trabajo, una síntesis de su fundamento teórico y la metodología empleada. Se debe hacer mención además del contenido del desarrollo del manuscrito, sin especificar los resultados y las conclusiones del trabajo.
5. Cuerpo del trabajo: los artículos de investigación

deben seguir el formato IMRAD: introducción, materiales y métodos, resultados, discusión y conclusión.

6. **Materiales y Métodos (Metodología):** se describe el diseño de la investigación y se explica cómo se realizó el trabajo, se describen los métodos y materiales desarrollados y/o utilizados.
7. **Resultados:** se presenta la información y/o producto pertinente a los objetivos del estudio y los hallazgos en secuencia lógica.
8. **Ilustraciones:** se pueden incluir máximo diez entre tablas y figuras (gráficos, dibujos o fotografías). Las fotografías deben ser de alta resolución, nítidas y bien contrastadas, sin zonas demasiado oscuras o extremadamente claras, los cuales deben presentarse en forma comprensible y servirán para agregar información. Sus títulos deben ser cortos, precisos y citar la fuente y autorización de donde fueron tomados, o aclarar si es una elaboración propia. Las tablas y las figuras (gráficos) se deben enviar en archivo Word. Los archivos originales de las fotografías e imágenes se deben enviar en formato JPG de 250 - 300 Dpi. Todas las ecuaciones y fórmulas deben ser generadas por editores de ecuaciones actualizados y enumeradas consecutivamente con números arábigos, colocados entre paréntesis en el lado derecho. Los símbolos matemáticos deben ser muy claros y legibles. Las unidades deben ser colocadas en el sistema métrico decimal y sistema Internacional de medida. Si se emplean siglas y abreviaturas poco conocidas, se indicará su significado la primera vez que se mencionen en el texto y en las demás menciones bastará con la sigla o la abreviatura.
9. **Discusión de resultados:** se presentan los argumentos que sustentan los resultados de la investigación. Se examinan e interpretan los resultados y se sacan las conclusiones derivadas de esos resultados con los respectivos argumentos que las sustentan. Se contrastan los resultados con los referentes teóricos, justificando la creación de conocimiento como resultado del trabajo.
10. **Conclusiones:** se presenta un resumen, sin argumentos, de los resultados obtenidos.
11. **Agradecimientos:** A personas o instituciones que, sin cumplir los requisitos de autoría, hayan colaborado en la realización del trabajo, prestado ayuda material, técnica o económica, indicando el

tipo de contribución.

12. **Referencias:** indican las fuentes primarias consultadas para el desarrollo del artículo, se citan siguiendo las Normas Vancouver. Las referencias deben incluir artículos publicados sobre el tema en los últimos cinco años.

#### **NORMAS DE CITACIÓN**

Las Referencias consisten en una lista numerada de referencias bibliográficas que, siguiendo el orden con el que aparecen por primera vez en el texto, se incluirán al final del documento.

#### **Artículo de revistas científicas**

##### **• Artículo estándar**

Cameron C, Moss P. La atención a personas dependientes en Europa: conceptos actuales y perspectivas futuras. *Interv. Psicosoc.* 2007; 16(1):7-22.  
Sanz Peñón C, Sánchez Linares A. Protocolizar las actividades de enfermería. *Enfermería fundamental. Rev ROL Enfermería.* 2001; 24(1):67-76.

##### **• Más de seis autores**

En la referencia que aparece en la bibliografía del final del trabajo, se mencionan todos los autores, salvo si son más de seis, en cuyo caso, se pondrán los seis primeros autores seguidos de la fórmula "et al.":

Gaviño LM, Wittel MB, Tello MA, Gómez MR, Colombo PB, Garza MC, et al. Sobrecarga sentida por la figura del cuidador principal en una cohorte de pacientes pluripatológicos. *Atención Primaria.* 2008; 40(4):193-8.

##### **• No se menciona el autor**

IMSERO. Atención a las personas en situación de dependencia en España: Libro Blanco. Madrid: Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales; 2005.

Establishing an African Association for Health Professions Education and Research. Washington (DC): National Academies of Sciences; 2016.

##### **• Suplemento de un volumen**

Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. *Headache.* 2002; 42 (Suppl 2): S93-9.

##### **• Parte de un volumen**

Abend SM, Kulish N. The psychoanalytic method from an epistemological viewpoint. *Int J Psychoanal.* 2002; 83(Pt 2):491-5.

##### **• Parte de un número**

Ahrar K, Madoff DC, Gupta S, Wallace MJ, Price RE,

Wright KC. Development of a large animal model for lung tumors. *J Vasc Interv Radiol*. 2002; 13(9 Pt 1):923-8.

• **Número sin volumen**

Banit DM, Kaufer H, Hartford JM. Intraoperative frozen section analysis in revision total joint arthroplasty. *Clin Orthop*. 2002; (401):230-8.

• **Sin volumen ni número**

Outreach: bringing HIVpositive individuals into care. *HRSA Careaction*. 2002 Jun: 1-6.

• **Páginas en números romanos**

Chadwick R, Schuklenk U. The politics of ethical consensus finding. *Bioethics*. 2002; 16(2): iii-v.

• **Indicación del tipo de artículo cuando sea necesario**

Tor M, Turker H. International approaches to the prescription of long-term oxygen therapy [letter]. *Eur Respir J*. 2002; 20(1):242.

Libros y otras monografías

• **Autores individuales**

Porta J. Manual de control de síntomas en pacientes con cáncer avanzado y terminal.

<sup>a</sup> ed. Barcelona: Editorial Arán; 2008; p. 25-8.

• **Editor(es). Compilador(es)**

Díaz C, Añorga J, compiladoras. La producción intelectual: proceso organizativo y pedagógico. La Habana, Cuba: Editorial Universitaria; 2002.

• **Capítulo de libro**

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. In: Vogelstein B, Kinzler KW. Editors. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

Cuando hay hasta seis autores en un libro, se incluyen todos los nombres:

Krug LM, Pietanza C, Kris MG, Rosenzweig K, Travis WD, Smith H. Tumores de célula pequeña y neuroendocrinos del pulmón. En: Pine JW (ed.). *Cáncer, principios y prácticas de oncología*. 9.<sup>a</sup> ed. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008; p. 849-50.

• **Organización (es) como autor**

Royal Adelaide Hospital; University of Adelaide, Department of Clinical Nursing. *Compendium of nursing research and practice development, 1999-2000*. Adelaide (Australia): Adelaide University; 2001.

• **Memorias de conferencias**

Kim H, Wechsler B. Amantadine for arousal in pediatric

TBI. In: Peek WJ, Lankhorst GJ, editors. 1st World Congress of the International Society of Physical and Rehabilitation Medicine (ISPRM I); 2001 Jul 7-13; Amsterdam, The Netherlands. Bologna (Italy): Monduzzi Editore, International Proceedings Division; c2001. p. 629-34.

• **Actas de congreso en Internet**

Bashook PG, Miller SH, Parboosingh J, Horowitz SD, editors. *Credentialing physician specialists: a world perspective* [Internet]. Proceedings; 2000 Jun 8-10; Chicago. Evanston (IL): American Board of Medical Specialties, Research and Education Foundation; [cited 2006 Nov 3]. 221 p. Available from: <http://www.abms.org/publications.asp>

• **Sitios Web**

International Union of Biochemistry and Molecular Biology. *Recommendations on Biochemical & Organic Nomenclature, Symbols & Terminology etc.* [Internet]. London: University of London, Queen Mary, Department of Chemistry; [updated 2006 Jul 24; cited 2007 Feb 22]. Available from: <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/>

• **Tesis**

Jones DL. The role of physical activity on the need for revision total knee arthroplasty in individuals with osteoarthritis of the knee [dissertation]. [Pittsburgh (PA)]: University of Pittsburgh; 2001. 436 p.

**ORIENTACIONES GENERALES SOBRE LAS CITAS EN EL TEXTO**

La cita en el texto consiste en un número arábigo correlativo entre paréntesis.

Gramaticalmente se trata como si fuera una nota a pie de página, un sustantivo o la referencia completa. Ejemplo:

- Si el nombre del autor forma parte del texto porque consideramos que es importante para la comprensión de la frase o porque deseamos hacer énfasis en él, simplemente se pone a continuación el número correlativo entre paréntesis. Ejemplos:

En su estudio, Lamote (15) sugiere un tratamiento basado en siete pilares fundamentales para restablecer el sistema inmunológico,

Lo que conduce a Clausius a una nueva formulación: "No se puede efectuar, sin compensación, el paso del calor de un cuerpo frío a otro caliente" (18 p58).

- Si hay más de un autor y quisiéramos mencionar el nombre de los autores en el texto, se usa la fórmula "et al." ("y otros" en latín) después del primer autor. Ejemplo:

En ese mismo sentido Burt et al. (5) plantean que en adultos jóvenes, el género masculino suele presentar hipertensión arterial con mayor frecuencia que el género femenino;

- Si citamos en el texto más de una referencia, se ponen los números, separados por coma entre paréntesis. Si los números son más de dos y correlativos, se separan con un guión. Ejemplo: and its security analysis based on a hard problem under standard security model have been presented (3, 5, 16-19) afterwards.
- Si necesitamos citar en el texto algo que conocemos por una referencia en otro trabajo, podemos hacerlo de la siguiente manera:

Brown (5), citado por Smith (6 p27), descubrió que...

- Si una referencia se ha citado anteriormente en el texto, se le adjudica el mismo número correlativo que a la primera cita, y ese número es el que aparecerá una sola vez en la lista de referencias de la bibliografía.

#### PROCESO EDITORIAL

1. Recepción de artículos. El Comité Editorial efectuará una primera valoración editorial consistente en comprobar la adecuación del artículo a los objetivos de la revista, así como el cumplimiento de los requisitos establecidos en las normas de publicación. El Comité Editorial hará las correcciones pertinentes, sin alterar el contenido del mismo. Si encontrara fallas que pudieran afectarlo, las correcciones se harán de mutuo acuerdo con su autor. La recepción del artículo no supone su aceptación.
2. Sistema de revisión por pares (peer review). Los artículos preseleccionados serán sometidos a un proceso de arbitraje. Se asignarán dos o más revisores especializados en la materia, que evaluarán el artículo de forma confidencial y anónima (doble ciego), en cuanto a su contenido, aspectos formales, pertinencia y calidad científica. La aceptación definitiva del manuscrito está condicionada a que los autores incorporen en el mismo todas las correcciones y sugerencias de mejora propuestas por los árbitros.
3. Decisión editorial. Los criterios para la aceptación o rechazo de los trabajos son los siguientes: a) Originalidad; b) Precisión en el tema; c) Solidez teórica; d) Fiabilidad y validez científica; e) Justificación de los resultados; f) Impacto; g) Perspectivas/aportes futuros; h) Calidad de la

escritura; i) Presentación de las tablas, figuras; y e) Referencias. Finalizado el proceso de evaluación, se notificará al autor principal la aceptación o rechazo del trabajo.

Nota: la Revista FACSalud UNEMI no realiza cobro alguno a los autores en el envío de artículos y procesamiento de los mismos, es una revista científica con el interés de publicar contenido de calidad sin fines de lucro, por lo cual la revista no tiene costos para publicación o consulta que deban asumir los usuarios.

#### INSTRUCCIONES DE ENVÍO

Para enviar un artículo es necesario que el documento cumpla estrictamente con los lineamientos de formato y de contenido anteriormente especificados. Los trabajos se envían en forma digital email: [facsalud@unemi.edu.ec](mailto:facsalud@unemi.edu.ec); [aechavarriav@unemi.edu.ec](mailto:aechavarriav@unemi.edu.ec) o a través de la página web: [http:// ojs.unemi.edu.ec/index.php/facsalud-unemi](http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/facsalud-unemi)

#### ASPECTOS ÉTICOS

Responsabilidades de los autores

Los autores deben asegurarse de que todos los estudios practicados en seres humanos o animales cumplan con las leyes y requisitos nacionales, locales e institucionales. Cuando sea necesario, se incluirá una explicación sobre los procedimientos seguidos en el estudio para garantizar el cumplimiento de los principios y normas éticas de la Declaración de Helsinki y la Política de los Institutos Nacionales de la Salud -NIH- sobre el uso de animales de laboratorio. En el caso de artículos de estudios en los cuales se haya utilizado formatos de pacientes o individuos, los autores deben obtener el consentimiento informado por escrito para el caso de estudios en seres humanos y respetar su privacidad. Es necesario adjuntar una copia de los mismos.

#### Aviso de derechos de autor/a

Los autores pueden mantener el copyright, concediendo a la revista el derecho de primera publicación. Alternativamente, los autores pueden transferir el copyright a la revista, la cual permitirá a los autores el uso no-comercial del trabajo, incluyendo el derecho a colocarlo en un archivo de acceso libre.

#### Declaración de privacidad

Los nombres y las direcciones de correo electrónico introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines establecidos en ella y no se proporcionarán a terceros o para su uso con otros fines.



CARACTERÍSTICA	N°	CRITERIO	Artículo	Comunicación breve	Estudio de caso	Revisión bibliográfica
<b>Innovación / Originalidad del artículo</b>	1.	Las ideas planteadas son nuevas	SI	SI	SI	SI
	2.	Las ideas planteadas son interesantes	SI	SI	SI	SI
	3.	Las ideas planteadas pueden aportar un nuevo enfoque para tratar un viejo problema	SI	SI	SI	SI
<b>Precisión en el tema / coherencia con los objetivos</b>	4.	Se especifica de forma clara el tipo de artículo del que se trata	SI	SI	SI	SI
	5.	Se especifica de forma clara el fin u objetivo que persigue el artículo.	SI	SI	SI	SI
<b>Solidez teórica y calidad de los argumentos</b>	6.	La estructura del artículo es la adecuada.	SI	SI	SI	SI
	7.	Existe orden, coherencia y sistematicidad en las ideas expuestas.	SI	SI	SI	SI
	8.	Las ideas planteadas se basan en argumentos sólidos, ya demostrados por otros autores o en estudios anteriores.	SI	SI	SI	SI
	9.	Los argumentos presentados están actualizados.	SI	SI	SI	SI
<b>Nivel científico, diseño experimental, metodología</b>	10.	La metodología empleada es la adecuada, tiene calidad y garantías científicas	SI	SI	SI	NO
	11.	En el artículo se describe de forma suficiente el método y procedimiento para que un lector interesado pueda reproducirlo	SI	SI	SI	NO
	12.	Las hipótesis o las preguntas de investigación se han planteado adecuadamente.	SI	SI	SI	NO
	13.	Se ha definido claramente el diseño experimental.	SI	SI	NO	NO
	14.	Los instrumentos de medición y experimentación utilizados tienen calidad y garantías científicas	SI	SI	NO	NO
	15.	Se consigue integrar en un marco nuevo y más simple de resultados que antes implicaban un marco más complejo	SI	SI	SI	NO
<b>Presentación y justificación de los resultados / conclusiones</b>	16.	El artículo aporta resultados de importancia teórica o práctica.	SI	SI	SI	SI
	17.	Los datos presentados son válidos	SI	SI	SI	SI
	18.	Los datos y resultados son claramente expuestos mediante fórmulas, tablas y figuras	SI	SI	SI	SI
	19.	El tratamiento de datos va encaminado hacia la comprobación de las hipótesis o las preguntas de investigación.	SI	SI	SI	NO
	20.	La interpretación que se hace de los resultados es inequívoca.	SI	SI	SI	SI
	21.	Las conclusiones se basan en los argumentos planteados o resultados obtenidos.	SI	SI	SI	SI
	22.	Las conclusiones van en concordancia con el objetivo planteado.	SI	SI	SI	SI
<b>Impacto del tema presentado en el artículo</b>	23.	Las conclusiones presentadas son de interés para la comunidad académica	SI	SI	SI	SI
	24.	El contenido del artículo se constituye en un aporte significativo al conocimiento anteriormente desarrollado en su área.	SI	SI	SI	SI
<b>Perspectivas / futuros trabajos</b>	25.	El artículo es relevante para la discusión de problemas en su área.	SI	SI	SI	SI
	26.	El artículo abre posibilidades para realizar investigaciones futuras	SI	SI	SI	SI
<b>Calidad de la escritura</b>	27.	La redacción del artículo es clara y entendible	SI	SI	SI	SI
<b>Legibilidad de figuras y tablas</b>	28.	Las figuras y tablas se encuentran correctamente enumeradas y con su respectivo título	SI	SI	SI	SI
<b>Bibliografía</b>	29.	El artículo contiene al menos 30 citas bibliográficas.	SI	NO	NO	SI
	30.	El artículo contiene citas bibliográficas claramente definidas	SI	SI	SI	SI

## CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS PARA AUTORES

### DIRECTOR DE LA REVISTA FACSalud UNEMI

Universidad Estatal de Milagro  
Milagro, Ecuador  
Presente.

Por medio del presente documento, fundamentado en lo dispuesto en la Ley de Derecho de Autor, el (los) suscrito (s) .....[Nombres y apellidos de autor (es)] he (hemos) remitido para su publicación en la Revista FACSalud UNEMI, editada por la Universidad Estatal de Milagro, el trabajo intitulado (título completo) ..... para que de forma exclusiva reproduzca, publique, edite, fije, comunique y transmita públicamente en forma electrónica, inclusive internet e incluir en índices nacionales e internacionales o bases de datos en caso de ser aprobado el artículo de mi autoría.

Por lo tanto el (los) autor (autores) firmante (s) DECLARA (MOS):

- Que el trabajo de investigación entregado es un trabajo original.
- Que no ha sido publicado previamente por ningún medio.
- Que no ha sido remitido simultáneamente a otras publicaciones impresas o digitales, ni está pendiente de valoración, para su publicación, en ningún otro medio, en ningún formato.
- Que en caso de ser publicado el artículo, transfieren todos los derechos de autor a la REVISTA FACSalud UNEMI de la Universidad Estatal de Milagro, sin cuyo permiso expreso no podrán reproducirse ninguno de los materiales publicado en la misma.
- Que el trabajo presentado no contiene material escandaloso, calumnia, difamación, obscenidad, fraude o cualquier otro material ilegal; y ni el trabajo, ni el título vulnera ningún derecho de autor, derecho literario, marca o derecho de propiedad de terceras personas. Asumo (asumimos) la total responsabilidad de todos los extremos y opiniones contenidos en el trabajo remitido.

En virtud de lo anterior, manifiesto (manifestamos) expresamente que no me (nos) reservo (reservamos) ningún derecho en contra de la REVISTA FACSalud UNEMI de la Universidad Estatal de Milagro.

Atentamente

.....  
Nombres y firma de autor (es)

Enviar FIRMADO por correo electrónico a: [facsalud@unemi.edu.ec](mailto:facsalud@unemi.edu.ec); [aechavarriav@unemi.edu.ec](mailto:aechavarriav@unemi.edu.ec)

# FACS Salud

UNEMI