



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE MEDICINA

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Médico General

TRABAJO DE TITULACION:

Acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana obtenidas
de los tubérculos andinos

AUTOR:

Antonny David Aguas Salazar

TUTOR:

Dr. Pablo Djabayan Djibeyan, PhD

RIOBAMBA-ECUADOR

2019

ACEPTACION DEL TRIBUNAL CERTIFICACION

Mediante la presente los miembros del TRIBUNAL DE GRADO DE GRADUACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: **ACCIÓN HEMOAGLUTINANTE, ANTICOAGULANTE Y ANTIMICROBIANA OBTENIDAS DE LOS TUBÉRCULOS ANDINOS**, presentado por el estudiante Antonny David Aguas Salazar, como requisito previo a la obtención del título de Médico General y dirigido por el Dr. Pablo Djabayan Djibeyan.

Una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación en el cual se a constatado de las observaciones realizadas, remita la presente para su uso y constancia de la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Educación, Humana y Tecnología de la Universidad Nacional de Chimborazo.

Para constancia de lo expuesto firman:

Dr. Patricio Vásconez

PRESIDENTE DELEGADO DEL DECANO



FIRMA

Dr. Carlos Valarezo

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



FIRMA

Dr. Ángel Mayacela

MIEMBRO DEL TRIBUNAL



FIRMA

Dr. Pablo Djabayan

TUTOR



FIRMA

CERTIFICADO

Por la presente, Yo Dr. Pablo Djabayan Djibeyan con CI 1757202773 en calidad de tutor del proyecto de investigación "ACCIÓN HEMOAGLUTINANTE, ANTICOAGULANTE Y ANTIMICROBIANA OBTENIDAS DE LOS TUBÉRCULOS ANDINOS", propuesto por el estudiante Antonny David Aguas Salazar con CI: 1724451651, egresado de la Facultad de Ciencias de la Salud de la carrera de Medicina, luego de haber revisado este proyecto y realizadas las pertinentes correcciones certifico que se encuentra apto para la defensa pública.

Atentamente




Dr. Pablo Djabayan Djibeyan

CI: 1757202773

AUTORIA

Yo, Antony David Aguas Salazar, autor del trabajo de investigación titulado "ACCIÓN HEMOAGLUTINANTE, ANTICOAGULANTE Y ANTIMICROBIANA OBTENIDAS DE LOS TUBÉRCULOS ANDINOS", declaro que su contenido es original y corresponde al aporte investigativo personal. De la misma manera concedemos los derechos de autor de la Universidad Nacional de Chimborazo, según lo establecido por la ley de propiedad intelectual, por su reglamento y normativa vigente.

Atentamente

A handwritten signature in blue ink, enclosed in a hand-drawn oval. The signature appears to read "Antony David Aguas Salazar".

Antony David Aguas Salazar

CI. 1724451651

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis queridos padres *Juan* y *Catalina*, los que siempre con su amor, esfuerzo, sacrificio me apoyaron incondicionalmente e inculcaron en mí el ejemplo de esfuerzo, responsabilidad y trabajo, gracias por alentarme para seguir adelante y concretar mi objetivo

A mis hermanas Narcisa, Patricia, Adriana, Silvia y Dayana, por su apoyo incondicional, durante este proceso, y sus oraciones, consejos y palabras de aliento que hicieron de mí una mejor persona y a pesar de las dificultades me enseñaron a seguir adelante.

Antonny Aguas

AGRADECIMIENTO

A Dios, por su amor, misericordia y bondad para guiarme en cada paso, esta felicidad que ahora siento es el resultado de tu ayuda incondicional y tu bendición infinita

Este trabajo de grado ha sido una bendición y por esto padres amados no cesaran mis ganas de decir que gracias a ustedes esta meta está cumplida, por demostrarme que siempre están conmigo de alguna u otra manera y por su apoyo incondicional.

A mis hermanas por ser parte de esta aventura que la hemos batallado juntos con la alegría y razón de un nuevo amanecer, son quienes me impulsaron a ser mejor día tras día.

Al Doctor Pablo Djabayan Djibeyan por su apoyo y su guía incondicional durante el desarrollo del proyecto de titulación, su personalidad al compartir sus conocimientos y paciencia, resaltan; ser un excelente profesional y un extraordinario ser humano y amigo quien me colaboro en mi crecimiento personal.

A mi esposa por su apoyo incondicional en esta etapa final de mi carrera.

Antonny Aguas

ÍNDICE GENERAL

CARATULA	I
ACEPTACION DEL TRIBUNAL	II
CERTIFICADO	III
AUTORIA	IV
DEDICATORIA	V
AGRADECIMIENTO	VI
ÍNDICE GENERAL	VII
ÍNDICE DE CUADROS	X
RESUMEN	XI
ABSTRACT	XII
INTRODUCCION	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
JUSTIFICACION	3
OBJETIVOS.....	5
OBJETIVO GENERAL	5
OBJETIVOS ESPECIFICOS	5
CAPITULO I	6
1. MARCO TEÓRICO	6
1.1. Medicina Ancestral y Plantas medicinales.....	6
1.2. Tubérculos andinos	6
1.2.1. Oca.....	7
1.2.2. Mashua.....	7
1.3. Lectinas	8
1.3.1. Clasificación de las lectinas vegetales.....	8
1.3.1.1. Merolectinas.....	9
1.3.1.2. Hololectinas	9
1.3.1.3. Quimerolectinas	9
1.3.1.4. Superlectinas	9
1.4. Infecciones bacterianas y Resistencia a los antibióticos	9

CAPITULO II.....	11
2. METODOLOGÍA	11
2.1. Tipo de investigación:.....	11
2.2. Población y muestra.....	11
2.2.1. Población:.....	11
2.2.2. Muestra:	11
2.3. Variables de estudio:.....	11
2.3.1. Variable dependiente (VD):	11
2.3.2. Variable independiente (VI):.....	11
2.4. Operacionalización de las variables:.....	12
2.5. Método de Estudio:.....	13
2.6. Técnicas y procedimientos:	13
2.7. Procesamiento estadístico:	14
2.8. Consideraciones éticas:	14
2.8.1. Consentimiento Informado.....	14
CAPITULO III	15
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
3.1. RESULTADOS	15
3.2. DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES	24
RECOMENDACIONES	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
ANEXOS.....	31
Anexo N° 1 Consentimiento Informado	31
Anexo N° 2 Selección de plantas y preparación del extracto.....	35
Anexo N° 3 Filtrado y almacenamiento del extracto.....	35
Anexo N° 4 Centrifugación del extracto y almacenamiento en tubos de eppendorf.....	36
Anexo N° 5 Resultados de la acción hemoaglutinante de los extractos crudos acuosos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> y <i>Oxalis tuberosa</i>	36
Anexo N° 6 Resultados de la acción anticoagulante de los extractos crudos acuosos de <i>Tropaeolum tuberosum</i> y <i>Oxalis tuberosa</i>	37

Anexo N° 7 Resultados de la acción antibacteriana de <i>Tropaeolum tuberosum</i> frente a <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i>	37
Anexo N°8 Resultados de la acción antibacteriana de <i>Oxalis tuberosa</i> frente a <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i>	38

ÍNDICE DE CUADROS

CuadroN ^a 1: Resultado de pesos y volúmenes empleados en la extracción con solución fisiológica	15
CuadroN ^a :2 Hemoaglutinación de los extractos crudos acuosos obtenidos a partir de las especies de tubérculos andinos <i>Tropaeolum tuberosum</i> y <i>Oxalis tuberosa</i>	16
CuadroN ^o 3 Tiempo de Protrombina (TP) y Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) de los extractos crudos acuosos obtenidos a partir de <i>Tropaeolum tuberosum</i> y <i>Oxalis tuberosa</i>	17
CuadroN ^o 4 Resultados de la medición de los halos de inhibición de los extractos frente a <i>S. aureus</i>	19
CuadroN ^o 5 Resultados de la medición de los halos de inhibición de los extractos frente a <i>E. coli</i>	20
CuadroN ^o 6 Resultados de la medición de los halos de inhibición de los extractos frente a <i>E. faecalis</i>	21

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como principal objetivo determinar la acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana de los extractos acuoso de los tubérculos andinos *Tropaeolum tuberosum* (Mashua) y *Oxalis tuberosa* (Oca) adquiridos en los mercados populares de la ciudad de Riobamba, de cada especie se preparó un extracto acuoso en solución salina fisiológica por disrupción mecánica utilizando mortero y pistón, el triturado fue filtrado en malla de nylon fina y centrifugado para obtener un sobrenadante claro. La actividad biológica se determinó evaluando en los extractos acuosos de los tubérculos, la acción hemoaglutinante sobre una suspensión de eritrocitos humanos al 5% de los grupos A, B y O, la acción anticoagulante o procoagulante sobre plasma humano pobre en plaquetas mediante la medición del TP y TTPa y la acción antimicrobiana bacteriostática o bactericida a través del método de difusión en discos sobre bacterias American Type Culture Collection (ATCC) de las especies *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*. Los resultados de los experimentos de hemoaglutinación evidenciaron la presencia de lectinas capaces de aglutinar inespecíficamente a los glóbulos rojos de los grupos sanguíneos A, B y O, así mismo, el alargamiento del TP y el acortamiento del TTPa determinó la acción anticoagulante y procoagulante respectivamente de los extractos acuosos de ambos tubérculos sobre las proteínas plasmáticas de la coagulación, además, la inhibición del crecimiento bacteriano de la cepa ATCC de *E. coli* con un halo de 12 mm, demostró la acción antimicrobiana del extracto acuoso de *O. tuberosa*, siendo esta la única especie bacteriana inhibida y el único extracto acuosos evaluado que presenta esta actividad.

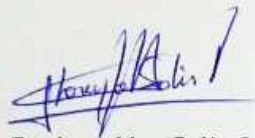
Palabras claves:

Lectinas, Tubérculos, Actividad Biológica, Hemoaglutinación, Anticoagulante y Antimicrobiana

ABSTRACT

The main objective of this research was to determine the hemagglutinating, anticoagulant and antimicrobial action of the aqueous extracts of the Andean tubers *Tropaeolum Tuberosum* (Mashua) and *Oxalis Tuberosa* (Oca) acquired in the open-air markets of Riobamba city. Of each species, an aqueous extract was prepared in physiological saline solution by mechanical disruption using mortar and piston, the crushed was filtered on fine nylon mesh and centrifuged to obtain a clear supernatant. The biological activity was determined by evaluating in the aqueous extracts of the tubers, the haemagglutinating action on a suspension of human erythrocytes at 5% of groups A, B and O, the anticoagulant or procoagulant action on human plasma poor in platelets by measuring the TP and aPTT and bacteriostatic or bactericidal antimicrobial action through the disc diffusion method on American Type Culture Collection (ATCC) bacteria of the species *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus fecal*. The results of the haemagglutination experiments demonstrated the presence of lectins. They have been able to agglutinate nonspecifically, the red blood cells of blood groups A, B, and O. Likewise, the lengthening of the TP, and the shortening of the aPTT determined the anticoagulant and procoagulant action respectively of the aqueous extracts of both tubers on the plasma proteins of the coagulation. Furthermore, the inhibition of the bacterial growth of the ATCC strain of *E. coli* with a halo of 12 mm, demonstrated the antimicrobial action of the aqueous extract of *O. tuberosa*, being this the only bacterial species inhibited and the only evaluated aqueous extract that exhibits this activity.

Keywords: Lectins, Tubers, Biological Activity, Hemagglutination, Anticoagulant, and Antimicrobial



Reviewed by: Solis, Lorena

LANGUAGE CENTER TEACHER



INTRODUCCION

La medicina convencional o alopática ha desarrollado avances científicos de vital importancia que ayudan a la población que padece alguna enfermedad, sin dejar de lado a la medicina herbaria que es otra opción usada por la sociedad, con el fin de aliviar, curar, prevenir y tratar enfermedades con el uso de plantas, actividad que se viene realizando desde tiempos antiguos hasta la actualidad. (Marín-Terreros, 2017)

La creciente resistencia que exhiben las bacterias a la acción de los antibióticos que ponen en riesgo la salud humana y animal ha estimulado la investigación científica en la búsqueda de nuevos principios activos con actividad antibacteriana, también se ha orientado el esfuerzo investigativo en la evaluación de la actividad biológica de las especies vegetales existentes en el vasto acervo botánico de la naturaleza, ha sido demostrado que las lectinas presentes en los vegetales poseen diferentes actividades biológicas, en tal sentido resulta de mucha utilidad determinar la capacidad antibacteriana, anticoagulante y hemoaglutinante de las posibles lectinas que estén presentes en los tubérculos andinos. (Ministerio de Salud Pública – MSP, 2016)

La acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana que puedan presentar los tubérculos andinos, debida a la presencia de lectinas, puede tener utilidad terapéutica para resolver enfermedades que afectan la salud y el bienestar del ser humano y animales; en tal sentido, resulta de interés aislar, semi-purificar y determinar la actividad biológica de las lectinas presentes en los extractos preparados a partir de los tubérculos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades infecciosas constituyen una causa de muerte de personas a nivel mundial, más que otro tipo de patologías, afectando principalmente a niños y ancianos, atribuyéndoseles en la Unión Europea 25.000 muertes anuales, es por ello que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha urgido a la comunidad científica a realizar proyectos de investigación que busquen en la biodiversidad botánica nuevos compuestos con actividad biológica, particularmente con actividad antimicrobiana, para aumentar el inventario de antibióticos y antimicóticos que puedan ser utilizados para el tratamiento de las enfermedades infecciosas. (OMS, 2014)

En la literatura científica se evidencia información que da cuenta de la obtención de las lectinas obtenidas a partir de diversos organismos, que exhiben actividad antimicrobiana “in vitro”. De tal modo que establecer la presencia de las lectinas en las especies de tubérculos andinos que serán seleccionados, permitiría tener una posible solución para colaborar en la resolución del problema, esto abriría la posibilidad de obtener compuestos bioactivos que servirían para la identificación de los agentes causales y para el tratamiento de las enfermedades infecciosas en general y en particular a las causadas por las bacterias, hongos y protozoarios resistentes. (Nair, Nair, Raman y Veerabadrappa, 2013)

JUSTIFICACION

La pluriculturalidad étnica y religiosa existente a nivel mundial, ha permitido conocer centenares de métodos ancestrales para el tratamiento de diversas patologías, tomando en cuenta que estos métodos son empíricos y tradicionales y que muchos de ellos han resultado ser tratamientos favorables. La investigación científica realizada sobre estos, va develando la manera en que estos métodos funcionan y de esta manera se viene promoviendo e incentivando a la práctica de la Medicina Ancestral de forma responsable. (Gallegos-Zurita, 2016)

Los microorganismos son la clave que muestran las primeras formas de vida, guardando los más recónditos secretos de nuestro pasado y con perspectivas de nuestro futuro, para encontrar soluciones a algunos de los problemas más apremiantes del planeta, desde el calentamiento global hasta la resistencia a los antibióticos. En América Latina se conoce que alrededor del 60 % de las bacteriemias nosocomiales son producidas por bacterias cocos gram positivos y que en la actualidad esta cifra se ha incrementado por factores predisponentes. (Casellas, 2011; Kyrpides, Hugenholtz, Eisen, Woyke, Göker, Parker y Colwell, 2014)

Ecuador es un país rico en diversidad biológica y cultural constituyéndose en uno de los países pioneros con una gran viabilidad en lo referente a la medicina tradicional y por ello, es necesario establecer diferentes aspectos de importancia, como las formas de uso de cada planta así como de los beneficios curativos que brinda la medicina tradicional y herbaria en las diferentes zonas del país, con la finalidad de tratar enfermedades, tomando en cuenta que las enfermedades agudas, son un problema de salud pública, como se evidencia en el sistema de vigilancia epidemiológica en la provincia de Chimborazo, Ecuador.

La aparición de especies bacterianas, micóticas y parasitarias patógenas para el ser humano, que son resistentes a los antibióticos, antimicóticos y antiparasitarios utilizados para el tratamiento de las enfermedades infecciosas que producen, justifica que se realice la

búsqueda de nuevos compuestos bioactivos (lectinas) en los tubérculos que tradicionalmente se expenden en los mercados del cantón de Riobamba.

Con ello se abre la posibilidad de obtener nuevos agentes terapéuticos que puedan tener utilidad para la identificación, el tratamiento de las enfermedades infecciosas en general y en particular a las causadas por las bacterias, hongos y protozoarios multi-resistentes a los antibióticos, antimicóticos y antiparasitarios utilizados intensivamente en la actualidad.

De tal modo que aislar y determinar la actividad biológica de las lectinas presentes en los tubérculos *Oxalis tuberosa* (oca) y *Tropaeolum tuberosum* (mashua), permitiría tener una posible solución para resolver el problema aquí planteado.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana “in vitro” de las lectinas obtenidas de tubérculos andinos autóctonos seleccionados, que tradicionalmente se expenden en los mercados populares del Cantón de Riobamba.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Inventariar e identificar las especies de tubérculos andinos expendidos con frecuencia en los mercados populares.
- Extraer por disrupción mecánica en mortero las lectinas presentes en los tubérculos *Oxalis tuberosa* (oca) y *Tropaeolum tuberosum* (mashua).
- Establecer la acción biológica hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana de las lectinas presentes en los extractos crudos acuosos obtenidos con Solución Salina Fisiológica SFF, mediante técnicas de laboratorio.

CAPITULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Medicina Ancestral y Plantas medicinales

Desde la aparición de los seres humanos en la tierra, nuestra lucha contra la enfermedad comenzó y continuó durante siglos hasta nuestros días. El conocimiento desarrollado en este campo se ha transmitido oralmente de una generación a otra en todos los grupos étnicos, formando una vasta colección cultural y étnica de conocimiento, definida como la Medicina Ancestral, que forma parte de la Sabiduría Ancestral general en todas las culturas del mundo. Más aún, los neandertales que vivían hace 60.000 años en el actual Irak usaban plantas como la malva (*Alcea* sp.), esta planta todavía se usa ampliamente en la etnomedicina en todo el mundo. (Schultes, 1978).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) se reunió para definir a la medicina tradicional como: “La suma total de todos los conocimientos y prácticas, explotables o no, utilizadas en el diagnóstico, prevención y eliminación del desequilibrio físico, mental o social, y se basan exclusivamente en la práctica, experiencia y observación transmitida de generación en generación, ya sea verbalmente o por escrito” (OMS, 1978)

Los principales principios activos antimicrobianos extraídos de las plantas se han agrupado en los siguientes compuestos químicos: 1. Fenólicos y polifenoles, 2. Terpenoides y aceites esenciales. 3. Alcaloides. 4. Lectinas y polipéptidos. 5. Mezclas de alcaloides, 6. Otros compuestos: poliaminas, isotiocianatos, tiosulfatos, glucósidos, poliacetilenos, acetilenos y monosacáridos (Cowan, 1999)

1.2. Tubérculos andinos

En el acervo cultural andino existe la práctica de cultivos que son muy poco conocidos, cuyos productos son utilizados con fines alimentarios y terapéuticos, que satisfacen demandas de carácter local, gracias a la dinámica del conocimiento botánico, cada taxón tiene un uso y efecto científicamente estudiado. Uno de estos cultivos ancestrales, entre

muchos que existen, corresponde a los tubérculos andinos en toda la franja andina, con ello se ha podido lograr la conservación natural de la biodiversidad al preservar esta actividad agrícola ancestral entre otras. (Clavijo-Ponce y Pérez-Martínez, 2014)

Entre los tubérculos andinos que se encuentran incluidos en la revisión hecha por Puentes y Hurrell en 2015 y que son utilizados como plantas medicinales se encuentran: Chuño negro y blanco (*Solanum juzepczukii* Bukasov / *S. curtilobum* Juz. y Bukasov Solanaceae); Maca (*Lepidium meyenii* Walp. Brassicaceae); Oca (*Oxalis tuberosa* Molina Oxalidaceae); Papa huayro (*Solanum tuberosum* L. Grupo Andigenum ‘Huayro’ Solanaceae); Papa imilla (*Solanum tuberosum* L. Grupo Andigenum ‘Imilla’ / ‘Waycha’ Solanaceae); Papa negra (*Solanum tuberosum* L. Grupo Andigenum ‘Negra’ Solanaceae); Ulluco/papa lisa (*Ullucus tuberosus* Caldas Basellaceae) (Puentes y Hurrell, 2015).

1.2.1. Oca

La oca es un tubérculo endémico de los Andes centrales, se cultiva desde los 3.000 hasta los 4.000 msnm, desde Colombia a Chile, el cultivo de oca es llevado a cabo en países como Perú, Ecuador y Bolivia durante los últimos 10 años, la colección de oca ecuatoriana es mantenida en la estación de Santa Catalina, Quito y posee una alta variación en sus niveles nutritivos, entre 70 a 80% de humedad, 11 a 22% de carbohidratos y cerca de 1% de grasa y fibra y un alto nivel de proteína, más de 9 % y el retinol (vitamina A) se encuentra en concentraciones significativas (Rosero Apala, 2010).

1.2.2. Mashua

Mashua es considerado un tubérculo andino que al pasar de los años ha adquirido una importancia global, es usada por la población andina rural con mayor frecuencia y forma parte de su cultura y alimentación, sus niveles nutritivos, presentan un 88% de humedad, fibra 5.8%, 9.1% de proteína, 75.4% de carbohidratos y 5.86% de fibra, la vitamina C se encuentra en concentraciones altas 77.3% (Espín, Villacrés y Brito Grandes, 2004)

1.3.Lectinas

Lectina, es una palabra que deriva del vocablo latino “Eligere”, que significa escoger seleccionar y fue introducida por Boyd y Shapleigh en 1954, para denominar a un tipo especial de aglutininas vegetales, que mostraron poseer especificidad por ciertas moléculas de carbohidratos presentes en la superficie de la membrana de los eritrocitos, definida por Goldstein en 1980 como una proteína capaz de unirse a carbohidratos, de origen no inmune, que tiene la propiedad de aglutinar células y/o precipitar polisacáridos o glicoconjugados (Goldstein, 1980)

Los grupos de carbohidratos con capacidad de unirse a las lectinas, han sido utilizados como un sistema de clasificación generalmente aceptado. Este sistema incluye lectinas que se unen a: 1) Manosa/Glucosa, 2) N-acetilgalactosamina/galactosa, 3) N-acetilglucosamina, 4) L-fucosa, 5) Ácido sialico. (Mäkelä, 1959)

Una lectina aislada del tubérculo de la planta *Solanum tuberosum* L. (papa) mostró poseer un efecto bactericida e inhibitorio del crecimiento bacteriano de bacterias patógenas gram positivas (*Listeria monocytogenes*) y gram negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* y *Shigella boydii*) además fue reportado por primera vez que una lectina obtenida de estos tubérculos previno la formación del biofilm de la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* lo cual reviste gran importancia en cuanto aplicaciones en microbiología clínica y en ciencias biomédicas, además fue reportado que también tiene actividad antimicótica contra los hongos *Rhizopus* spp., *Penicillium* spp. y *Aspergillus niger* (Hasan, Islam, Ozeki y Kabir, 2014).

1.3.1. Clasificación de las lectinas vegetales

Conforme a la descripción hecha por Perazzo de Sousa Barbosa en el 2013, las lectinas se clasifican en cuatro grupos que se detallan a continuación:

1.3.1.1.Merolectinas: son lectinas de pequeño tamaño, no tienen la capacidad de aglutinar células debido a que poseen un solo dominio de reconocimiento de carbohidrato CRD.

1.3.1.2.Hololectinas: posee dos dominios idénticos de CRD, que les permite unirse simultáneamente a un mismo carbohidrato o azúcar de características similares, esto permite la aglutinación de eritrocitos in vitro.

1.3.1.3.Quimerolectinas: posee menos de dos dominios con actividad distinta, unos capaces de unirse a carbohidratos y otros con capacidad de realizar actividades enzimáticas o biológicas.

1.3.1.4.Superlectinas: son proteínas de fusión que presenta la capacidad de unirse a carbohidatos y por otro lado poseer actividad biológica por lo general catalítica, no presentan especificidad.

1.4.Infecciones bacterianas y Resistencia a los antibióticos

En América Latina y por ende en Ecuador, las infecciones bacterianas y su resistencia a los antibióticos representan un problema de salud pública, según la estadística obtenida del Ministerio de Salud Pública de Ecuador en el Perfil de Morbilidad Ambulatoria para el Cantón Riobamba para el año 2016 se reportaron 423.810 casos por diferentes causas, las de origen infeccioso fueron reportadas como sigue: infecciones agudas del tracto respiratorio 60.174 casos (14,20%); infecciones agudas del tracto digestivo 16.193 casos (3,82%); infecciones agudas de las vías urinarias 18.044 casos (4,26%) e infecciones agudas vaginales 9.878 casos (2,33%). (MSP, 2016)

En tal sentido, importantes estudios de resistencia de las bacterias a los antibióticos han sido realizados y se encuentran publicados en la literatura científica, uno de ellos realizado en el Hospital Oncológico Dr. Julio Villacreses Colmont de la ciudad de Portoviejo, Provincia de Manabí, Ecuador, que tuvo como objetivo aislar en diversas muestras biológicas enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido,

encontrando que de 326 aislamientos realizados el 44,79% de las cepas aisladas presentaban este mecanismo de resistencia (Pachay-Solorzano, 2018)

CAPITULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de investigación:

El presente estudio corresponde a una investigación de tipo exploratoria, descriptiva, de corte transversal, de diseño experimental y de acuerdo al proceso integral de investigación es de carácter prospectivo.

2.2. Población y muestra

2.2.1. Población:

Estará constituida por todos los tubérculos inventariados que se expenden en los mercados populares del Cantón Riobamba, a saber: Condamine, Santa Rosa, La Merced, San Alfonso, San Francisco y Mayorista.

2.2.2. Muestra:

Dos tubérculos andinos autóctonos inventariados y seleccionados en base a sus propiedades medicinales tradicionales.

2.3. Variables de estudio:

El sistema de variables que se presentan en esta investigación será:

2.3.1. Variable dependiente (VD): Acción hemoaglutinante, anticoagulante/procoagulante y antimicrobiana.

2.3.2. Variable independiente (VI): Las especies de tubérculos andinos seleccionados para el estudio.

2.4.Operacionalización de las variables:

VARIABLES	TIPO	ESCALA	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
Acción Hemoaglutinante	Cualitativa	Controlada	Es una acción que es usada para valorar la presencia de una lectina en un extracto. Se basa en la capacidad que poseen las Lectinas en unirse en forma reversible a los azúcares monosacáridos presente en las membranas o en solución, formando un complejo, con ello son capaces de aglutinar células dando lugar a un agregado o coagulo que se ve a simple vista. (Aguilar-García, 2004)	Aglutina No aglutina
Acción Anticoagulante	Cuantitativa	Controlada	Es el efecto producido por una sustancia endógena producidas por el cuerpo o exógena como fármacos que tiene la capacidad de interferir, potenciar o inhibir la coagulación de la sangre, creando un estado antitrombótico/	Medir TP Medir TTP

			prohemorrágico o protrombótico/isquémico (Trejo, 2018).	
Acción Antimicrobiana	Cuantitativa	Controlada	Es la respuesta que produce una sustancias o fármaco con capacidad de destrucción frente a microorganismos o impiden su multiplicación o desarrollo. (Serra Valdés, 2017)	Sensible o resistente

2.5.Método de Estudio:

El método de estudio será empírico dado que se observará y medirá la acción de hemoaglutinación de los extractos sobre los eritrocitos, el efecto anticoagulante de los extractos sobre la coagulación sanguínea y la acción antimicrobiana de los extractos sobre bacterias gram positivas, gram negativas y levaduras.

2.6. Técnicas y procedimientos:

1. Se elaboró un inventario de las especies de tubérculos andinos que se expenden en los mercados populares del Cantón Riobamba, se identificó taxonómicamente las especies inventariadas y se seleccionó y adquirió la Oca (*Oxalis tuberosa*) y la Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) por ser utilizadas en la medicina ancestral.

2. Se realizó la extracción por disrupción mecánica en mortero de las lectinas presentes en los tubérculos *Oxalis tuberosa* (oca) y *Tropaeolum tuberosum* (mashua) en medio acuoso utilizando SSF, el tubérculo triturado se filtró con malla de nylon fino y el filtrado se centrifugó utilizando una centrífuga convencional, el sobrenadante de cada extracto fue

colectado en tubos plásticos cónicos, debidamente identificados y congelados a -20 °C hasta la realización de los ensayos de acción biológica.

3. Evaluación de la actividad biológica de los extractos crudos acuosos.

a) La acción hemoaglutinante de los extractos crudos acuosos se demostró utilizando glóbulos rojos de los grupos sanguíneos A, B y O en suspensiones al 5% aproximadamente, que sirvieron como reactivos biológicos para la detección de las lectinas.

b) La acción anticoagulante o procoagulante de los extractos crudos acuosos se demostró mediante la inhibición de la coagulación del plasma sanguíneo, midiendo el alargamiento del Tiempo de Protrombina y del Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado.

c) La actividad antimicrobiana de los extractos crudos acuosos se demostró midiendo su capacidad de inhibir el crecimiento de cepas de bacterias ATCC gram positivas, gram negativas.

2.7. Procesamiento estadístico:

El presente proyecto no empleará procesamiento estadístico de datos. Los resultados serán presentados mediante tablas y gráficos.

2.8. Consideraciones éticas:

Por ser un trabajo de investigación con actividades in vitro, el presente proyecto no involucra la experimentación en seres humanos u otros seres vivos.

2.8.1. Consentimiento Informado

Con el fin de realizar la investigación mencionada se ha procedido a obtener, muestras de sangre del propio investigador y colaboradores, previo el consentimiento informado de los mismos, requerimiento que se adjunta en la sección de anexos.

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. RESULTADOS

Resultado del proceso de extracción de los extractos de *Oxalis tuberosa* y *Tropaeolum tuberosum*.

Cuadro N^o1: Resultado de pesos y volúmenes empleados en la extracción con solución salina fisiológica

Tubérculo Extracto acuoso	Peso gr	Volumen de SSF mL
<i>Oxalis tuberosa</i>	50	15
<i>Tropaeolum tuberosum</i>	50	15

El Cuadro N^o 1 muestra los pesos y volúmenes similares para los dos tipos de tubérculos que se han empleado en la preparación de los extractos acuosos de las muestras de los tubérculos andinos seleccionados.

Resultados de la Acción Hemoaglutinante

Cuadro N^o:2 Hemoaglutinación de los extractos crudos acuosos obtenidos a partir de las especies de tubérculos andinos *Tropaeolum tuberosum* y *Oxalis tuberosa*.

ACTIVIDAD HEMOAGLUTINANTE SOBRE GLÓBULOS ROJOS A, B y O			Tiempos de Hemaglutinación 1 H			Tiempo de Hemaglutinación 24 H		
CÓDIGO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	A	B	O	A	B	O
TBR6-A	MASHUA AMARILLO	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	0	0	0	0	0	0
TBR6-R	MASHUA ROJO	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	½	½	½	1	1	1
TBR9-A	OCA AMARILLA	<i>Oxalis tuberosa</i>	2	2	1	2	2	1
TBR9-B	OCA BLANCA	<i>Oxalis tuberosa</i>	0	0	0	0	0	0

Leyenda: (1/2) = muy débil aglutinación, (1) = débil aglutinación, (2) = moderada aglutinación, (3) = fuerte aglutinación, (4) = muy fuerte aglutinación

En el Cuadro N^o 2 se exponen los resultados de la actividad hemoaglutinante de los extractos crudos obtenidos de los tubérculos *Tropaeolum tuberosum* y *Oxalis tuberosa*. Con el extracto TBR6-A se observó ausencia de aglutinación de los grupos sanguíneos A, B y O en el período de evaluación, a diferencia del extracto TBR6-R en el cual se observó una muy débil actividad aglutinante de los grupos A, B y O a la primera hora de evaluación y una débil actividad aglutinante de los grupos A, B y O a las 24 horas de incubación a temperatura ambiente; el extracto TBR9-A mostró tener una actividad aglutinante moderada de los glóbulos rojos A y B mientras que débil de los glóbulos rojos O tanto a la primera hora como a las 24 hora de incubación a temperatura ambiente. Entre tanto, el extracto TBR9-B no mostró poseer actividad aglutinante sobre los glóbulos rojos utilizados.

Resultados de la Acción Anticoagulante o Procoagulante

Cuadro N° 3 Tiempo de Protrombina (TP) y Tiempo de Tromboplastina Parcial activado (TTPa) de los extractos crudos acuosos obtenidos a partir de *Tropaeolum tuberosum* y *Oxalis tuberosa*.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE O PROCOAGULANTE (TP Y TTPa)			Tiempo de Protrombina (TP) Segundos (seg)	Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa) Segundos (seg)
CONTROL PLASMA + 100 uL SSF			15 +/- 1	67 +/- 2
CÓDIGO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO		
TBR6-A	MASHUA AMARILLO	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	18	50
TBR6-R	MASHUA ROJO	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	17	46
TBR9-A	OCA AMARILLA	<i>Oxalis tuberosa</i>	18	54
TBR9-B	OCA BLANCA	<i>Oxalis tuberosa</i>	15	56

El Cuadro N° 3 muestra la actividad anticoagulante o procoagulante del extracto crudo de los tubérculos *Tropaeolum tuberosum* y *Oxalis tuberosa* en ella se evidenció a través de la medición del Tiempo de Protrombina (TP) utilizando un pool de plasma sanguíneo humano al que se le agrega factor tisular o tromboplastina y calcio momento en el cual se tiene como fundamento medir el tiempo que tarda en activar la coagulación y evaluar la vía extrínseca de la coagulación (López-Santiago. 2016), el resultado que se obtuvo con *Tropaeolum tuberosum* y *Oxalis tuberosa* fue la prolongación significativa del TP con excepción de la oca blanca que no lo afectó. Entretanto la medición del Tiempo de

Tromboplastina Parcial activada (TTPa), utilizando un pool de plasma sanguíneo humano y el reactivo de Cefalina Activada que tiene como fundamento medir el tiempo en que tarda en formarse un coagulo de fibrina a partir de un plasma citratado pobre en plaquetas, en presencia de tromboplastina parcial activada y calcio a 37°C (López-Santiago, 2016), reveló que el extracto crudo de los tubérculos *Tropaeolum tuberosum* y *Oxalis tuberosa* acortaron el TTPa en relación al control evidenciando un efecto procoagulante.

Resultado de la Acción Antibacteriana

A los dos (2) tubérculos ya descritos con anterioridad, de los que se obtuvieron los extractos acuosos, se les evaluó la actividad antimicrobiana sobre las cepas bacterianas (*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), en cultivos frescos que garantizaron la pureza de las cepas, arrojando los siguientes resultados:

Cuadro N° 4 Resultados de la medición de los halos de inhibición de los extractos frente a *S. aureus*

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A <i>S. aureus</i> 25923					
CÓDIGO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	MEDICIÓN DE HALOS milímetros (mm)	CONTROL	MEDICIÓN DE HALOS milímetros (mm)
TBR6-A	MASHUA AMARILLO	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	0	Ciprofloxacina	30
TBR6-R	MASHUA ROJO	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	0	Ciprofloxacina	30
TBR9-A	OCA AMARILLA	<i>Oxalis tuberosa</i>	0	Ciprofloxacina	30
TBR9-B	OCA BLANCA	<i>Oxalis tuberosa</i>	0	Ciprofloxacina	30

El Cuadro N°4 muestra que las cepas bacterianas de *Stafilococcus aureus*, no fueron inhibidas por los extractos crudos obtenidos de los tubérculos Andinos, frente al control positivo de Ciprofloxacino que presentó un halo de 30 mm.

Cuadro N° 5 Resultados de la medición de los halos de inhibición de los extractos frente a *E. coli*

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A <i>E. coli</i> 25922					
CÓDIGO	NOMBRE COMÚN	<i>NOMBRE CIENTÍFICO</i>	<i>MEDICIÓN DE HALOS milímetros (mm)</i>	CONTROL	<i>MEDICIÓN DE HALOS milímetros (mm)</i>
TBR6-A	MASHUA AMARILLO	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	0	Amikacina	36
TBR6-R	MASHUA ROJO	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	0	Amikacina	36
TBR9-A	OCA AMARILLA	<i>Oxalis tuberosa</i>	12	Amikacina	36
TBR9-B	OCA BLANCA	<i>Oxalis tuberosa</i>	12	Amikacina	36

El Cuadro N° 5 muestra que las cepas bacterianas de *Escherichia coli*, no fueron inhibidas por los extractos crudos obtenidos de TBR6-A y TBR6-R frente al control de Amikacina de 36 mm de diámetro, entre tanto, los extractos TBR9-A y TBR9-B mostraron un halo de inhibición de 12 mm de diámetro.

Cuadro N° 6 Resultados de la medición de los halos de inhibición de los extractos frente a *E. faecalis*

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A <i>E. faecalis</i> 29212					
09.05.2019					
CÓDIGO	NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	MEDICIÓN DE HALOS (mm)	CONTROL	MEDICIÓN DE HALOS (mm)
TBR6-A	MASHUA AMARILLO	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	0	Ciprofloxacina	28
TBR6-R	MASHUA ROJO	<i>Tropaeolum tuberosum</i>	0	Ciprofloxacina	28
TBR9-A	OCA AMARILLA	<i>Oxalis tuberosa</i>	0	Ciprofloxacina	28
TBR9-B	OCA BLANCA	<i>Oxalis tuberosa</i>	0	Ciprofloxacina	28

El Cuadro N° 6 indica que las cepas bacterianas de *Enterococcus faecalis*, no fueron inhibidas por los extractos crudos obtenidos de TBR6-A, TBR6-R, TBR9-A y TBR9-B con relación al control positivo que presento un halo de inhibición de 28 mm de diámetro.

3.2. DISCUSIÓN

En la literatura científica ha sido reportada la presencia de las lectinas en innumerables especies vegetales, animales y microbianas tanto terrestres como marinas, en Ecuador son pocos los estudios que han evaluado la actividad biológica de los tubérculos andinos, los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que los tubérculos andinos conocidos como Mashua (*Tropaeolum tuberosum*) y Oca (*Oxalis tuberosa*) poseen actividad biológica, en cuanto a la acción hemoaglutinante los extractos acuosos evidenciaron tener acción sobre los grupos sanguíneos A, B y O, siendo débil en el caso *T. tuberosum* para todos los grupos sanguíneos evaluados, mientras que de mayor actividad en el caso de *O. tuberosa* para los grupos A y B y débil para el grupo O. Estos hallazgos coinciden con los obtenidos por Silva-Guadalupe en un estudio que evaluó los mismos tubérculos en el año 2018. Por lo tanto, esta actividad biológica de señalización, reconocimiento y especificidad corresponde con aquella mostrada por las lectinas, que son glicoproteínas que al ligarse a los glóbulos rojos los aglutinan (Celso, 2007).

En la revisión bibliográfica realizada no se encontró reportes de la actividad anticoagulante o procoagulante de lectinas presentes en tubérculos andinos, la acción anticoagulante o procoagulante estudiada mediante la inhibición o potenciación que causan los extractos crudos de estos tubérculos sobre las proteínas plasmáticas de la coagulación, fue medida por el alargamiento o acortamiento de los tiempos de coagulación del plasma pobre en plaquetas, a través del Tiempo de Protrombina (TP) y del Tiempo de Tromboplastina Parcial activada (TTPa). Este experimento permitió determinar la presencia de esta actividad biológica en los extractos acuosos obtenidos de *T. tuberosum* y *O. tuberosa*, por una parte, mostrando acción anticoagulante alargándose significativamente el TP con el extracto acuoso de ambos géneros de tubérculos a excepción de la especie de oca blanca, que mostró no poseer esta acción y por la otra parte, mostrando acción procoagulante acortando los TTPa con el extracto acuoso de ambos géneros de tubérculos.

Los resultados obtenidos en este estudio difieren de los obtenidos por de Andrade et.al quienes reportaron el efecto anticoagulante de la lectina obtenida de *Moringa olifera* con tiempos de TP y TTPa mayores a 300 seg., sin embargo, coinciden en el hecho de que las

lectinas poseen actividad biológica sobre las proteínas de la coagulación presentes en el plasma humano. (de Andrade, Silva, da Silva Ferreira, Santana, Silva-Lucca, Mentele, ... y Coelho, 2013). De igual modo Cotabarren en 2019 reportó que un inhibidor de la papaína presente en la *Moringa olifera* a una concentración de 12,5 µg/mL prolongó en un 25% el TTPa sin presentar efecto sobre el TP, lo que coincide con el presente estudio en cuanto a la especie de la oca blanca que tampoco mostró poseer acción sobre el TP. (Cotabarren, 2019).

La acción antimicrobiana de los extractos acuosos obtenidos de las dos especies de tubérculos andinos investigados en el presente estudio fue evaluada utilizando bacterias gram positivas ATCC y bacterias gram negativas ATCC; los resultados muestran que solo los extractos obtenidos de la oca tanto de la variedad amarilla como de la blanca (*O. tuberosa*) poseen una acción antibacteriana sobre *E. coli*. Las demás bacterias utilizadas no fueron inhibidas por los extractos aquí evaluados. Para definir esta actividad se tomó como referencia el halo de inhibición de los controles positivos empleados, descritos por el CLSI (2014, 2019) para bacterias, utilizando Ciprofloxacina y Amikacina, tomando en cuenta que son activas frente a las bacterias gram negativas y gram positivas, que han sido ampliamente utilizadas por su actividad bactericida desde su introducción en 1987. (Bogotá, 2010).

Los resultados obtenidos en este estudio difieren de los resultados publicados por Silva-Guadalupe (2018) quien reportó actividad antibacteriana contra *S. aureus* por parte del extracto acuoso de *T. tuberosum*, así mismo, ninguna actividad antibacteriana de los extractos acuosos de *T. tuberosum* y *O. tuberosa* sobre *E. coli*. Mientras que, tampoco coinciden con los resultados publicados por Chavez-Carvajal (2014) quien reportó actividad antibacteriana del extracto hidro-metanólico acidificado con ácido fórmico al 0,1% de *T. tuberosum* sobre cepas de *S. aureus* y *E. coli*. Por otra parte, Díaz-Plazas y Garzón-Truque (2017) también reportaron actividad antibacteriana de extractos acuosos de *T. tuberosum* sobre *E.coli*.

CONCLUSIONES

- En el inventario realizado para conocer los tubérculos de mayor expendio en Riobamba se eligió *T. tuberosum* (mashua), *O. tuberosa* (oca) por sus propiedades y usos en la medicina ancestral y tradicional.
- Los dos (2) tubérculos andinos evaluados demostraron poseer actividad hemoaglutinante frente a los tres grupos sanguíneos A, B y O. Sin embargo, se debe puntualizar que la variedad de mashua amarilla y oca blanca no presentó acción hemoaglutinante.
- Se definió la acción anticoagulante o procoagulante de los extractos acuosos de *T. tuberosum* y *O. tuberosa* mostrando prolongación significativa del TP a excepción del extracto obtenido de la oca blanca, mientras que acortaron el TTPa en relación al control evidenciando un efecto procoagulante.
- Se demostró que el extracto acuoso ambas especies de *O. tuberosa* posee efecto antibacteriano *in vitro* contra la bacteria *E. coli*. Mientras que, tanto los extractos acuosos de *T. tuberosum* y *O. tuberosa* no mostraron tener actividad antibacteriana contra las demás cepas bacterianas utilizadas.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar un estudio fotoquímico para conocer de manera cualitativa los componentes químicos presentes en los tubérculos *T. tuberosum* y *O. tuberosa*.
- Se recomienda caracterizar las lectinas presentes en los tubérculos *T. tuberosum* y *O. tuberosa*.
- Se recomienda purificar las lectinas y reevaluar la actividad biológica mediante la acción hemoaglutinante, la acción anticoagulante o procoagulante y la acción antimicrobiana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar-García, V. (2004). VI. Reactions of agglutination. *Gaceta Médica de México*, 140(S3) 50-52.
- de Andrade Luz, L., Silva, M. C. C., da Silva Ferreira, R., Santana, L. A., Silva-Lucca, R. A., Mentele, R., ... y Coelho, L. C. B. B. (2013). Structural characterization of coagulant Moringa oleifera Lectin and its effect on hemostatic parameters. *International journal of biological macromolecules*, 58, 31-36.
- Bogotá, D. E. (2010). Secretaria Manual De Actualizacion En Resistencia Bacteriana Y Normas CLSI M100–S20. Bogotá Colombia.
- Borris, R. P. (1996) Natural products research: perspectives from a major pharmaceutical company. *J. Ethnopharmacology*, 51(1-3) 29-38.
- Casellas, J.M. (2011) Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 30 519-528.
- Chávez Carvajal, P. A. (2014). Actividad antibacteriana y caracterización química de extractos de plantas medicinales tradicionales del Ecuador. *Master's thesis, Pavía: Universidad de Pavía*.
- Celso, S. N. (2007). Estudios estructurales de lectinas de algas marinas y de vegetales superiores (Doctoral dissertation, Universitat de València).
- Clavijo-Ponce, N.L. y Pérez Martínez M. E. (2014) Tubérculos andinos y conocimiento agrícola local en comunidades rurales de Ecuador y Colombia. *Cuadernos de Desarrollo Rural*, 11(74) 149-166.

- Cotabarren, J. (2019). Estudio de inhibidores peptídicos de proteasas aislados de alimentos de origen vegetal: potenciales aplicaciones como agentes anticoagulantes, anti-infectivos naturales y capacidad protectora del Factor de Crecimiento Epidérmico (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata).
- Cowan, M.M. (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4) 564-582.
- Díaz-Plazas, L.M. y Garzón-Truque, D. I. (2017). Capacidad antimicrobiana del extracto de la parte aérea de *Tropaeolum tuberosum* (mashua) frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. *Bachelor's thesis, Universidad La Salle Colombia*
- Espín, S., Villacrés, E. y Brito Grandes, B. (Ed.). (2004). Caracterización físico-química, nutricional y funcional de raíces y tubérculos andinos. Quito, Ecuador: INIAP.
- Gallegos-Zurita, M. (2016) Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. In *Anales de la Facultad de Medicina (UNMSM)*, 77(4) 327-332.
- Goldstein, I.J. (1980) What should be called a lectin? *Nature*, 285, 66-66.
- Hasan, I., Islam, F., Ozeki, Y., y Kabir, S.R. (2014) Antiproliferative activity of cytotoxic tuber lectins from *Solanum tuberosum* against experimentally induced Ehrlich ascites carcinoma in mice. *African Journal of Biotechnology*, 13(15) 1679-1685.
- Kyrpides, N.C., Hugenholtz, P., Eisen, J.A., Woyke, T., Göker, M., Parker, C.T., y Colwell, R.R. Genomic encyclopedia of bacteria and archaea: sequencing a myriad of type strains. *PLoS biology*. 2014; 12 (8): e1001920 [Consulta: 13 octubre 2017] Disponible en: <https://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1001920>
- López-Santiago, N. (2016). Coagulation tests. *Acta Pediátrica de México*, 37(4), 241-245.

Mäkelä, O. (1959) A method for distinguishing between α -and β -glycosides by the use of plant haemagglutinins (lectins). *Nature*, 184(4680) 111-113.

Marín-Terreros, A.X. (2017) Medicina ancestral en el sistema nacional de salud.

Ministerio de Salud Pública (MSP) Ecuador (2016) Perfil de Morbilidad Ambulatoria Provincia de Chimborazo, Cantón Riobamba, principales causas de morbilidad. Disponible en: <https://public.tableau.com/profile/darwin5248#!/vizhome/Perfildemorbididadambulatoria2016/Men?publish=yes>

Nair, S.S., Madembil, N.C., Nair, P., Raman, S., y Veerabadrapa, S.B. (2013) Comparative analysis of the antibacterial activity of some phytolectins. *International Current Pharmaceutical Journal*, 2 (2) 18-22.

Organización Mundial de la Salud. (1978) The promotion and development of traditional medicine. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40995/1/WHO_TRS_622.pdf

Organización Mundial de la Salud. (2014) Draft global action plan on antimicrobial resistance. Disponible en: https://www.who.int/drugresistance/AMR_DRAFT_GAP_1_Oct_2014_for_MS_consultation.pdf

Pachay-Solórzano, J.W. (2018) Las infecciones bacterianas y su resistencia a los antibióticos. Caso de estudio: Hospital Oncológico “Dr. Julio Villacreses Colmont Solca”, Portoviejo. *Universidad y Sociedad*, 10(5), 219-223. Recuperado de <http://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus>

- Perazzo de Sousa Barbosa, P. (2013). Purificação, caracterização e atividade biológica de lectinas do extrato de sementes de *Canavalia brasiliensis* (feijão-bravo-do-Ceará). *Master's thesis, Paraíba: Universidade Federal da Paraíba.*
- Ponce, N. C. (2014) *Tubérculos andinos: conservación y uso desde una perspectiva agroecológica.* Editorial Pontificia Universidad Javeriana.
- Puentes, J.P., y Hurrell, J.A. (2015) Plantas andinas y sus productos comercializados con fines medicinales y alimentarios en el Área Metropolitana Buenos Aires. La Plata Argentina: *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14.
- Rodríguez-Vargas, L. (2018) Morbilidad atendida por médicos del posgrado en Medicina Familiar y Comunitaria en el primer nivel de atención: *MediSur Chimborazo: Ecuador*, 16(2), 241-247.
- Rosero Alpala, M.G. (2010). Caracterización y conservación de variabilidad genética de Oca (*Oxalis Tuberosa* Mol) en agroecosistemas paramunos del departamento de Nariño-Colombia (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira).
- Silva-Guadalupe, J. (2018). Evaluación de la actividad antibacteriana y hemoaglutinante de los extractos de *Solanum phureja*, *Tropaeolum tuberosum*, *Oxalis tuberosa* y *Ullucus tuberosus*. *Bachelor's thesis, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Ecuador.*
- Schultes, R.E. (1978) The kingdom of plants. In: Thomson W.A.R. (ed.) *Medicines from the Earth.* McGraw-Hill Book Co, New York.
- Serra Valdés, M. Á. (2017). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 16(3), 402-419.

Stockwell, C. (1988). *Nature's pharmacy*. Century Hutchinson Ltd., London, United Kingdom.

Trejo I.C. (2018). Anticoagulantes: Farmacología, mecanismos de acción y usos clínicos. *Cuadernos de Cirugía*, 18(1), 83-90. doi:10.4206/cuad.cir.2004.v18n1-14.

Zambrano, L., Buenaño, M., Mancera, N., y Jiménez, E. (2015) Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos: *Universidad y Salud Quevedo: Ecuador*, 17(1), 97-109.

ANEXOS

Anexo N° 1 Consentimiento Informado

Proyecto de investigación: Acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana obtenidas de los tubérculos andinos aprobado el 21-05-2019

Fecha: _____

Yo. _____ con C.I. _____ con el fin de participar de manera consiente, voluntaria en el proyecto de investigación mencionado. Reconozco que he sido INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre.

Se me indica que la punción venosa es una técnica que se basa en la perforación de una vena visible y palpable con una aguja por vía transcutánea y bajo medidas de asepsia y antisepsia, este procedimiento tiene como finalidad su uso para el análisis en el laboratorio, En ciertas ocasiones se pueden producir algunos riesgos con este procedimiento que se destacan : ligero sangrado, aparición de hematoma, riesgo bajo de infección, en difícil extracción de sangre será necesario nueva punción, la cantidad total de sangre que se extraiga estará bajo criterio del investigador responsable, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.

Nombre y Apellido: _____

Cédula: _____

Consentimiento Informado

Proyecto de investigación: Acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana obtenidas de los tubérculos andinos aprobado el 21-05-2019

Fecha: 12 Marzo 2019

Yo, Jessica Ivonne Ramirez B con C.I. 060488841-2 con el fin de participar de manera consiente, voluntaria en el proyecto de investigación mencionado. Reconozco que he sido INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre.

Se me indica que la punción venosa es una técnica que se basa en la perforación de una vena visible y palpable con una aguja por vía transcutánea y bajo medidas de asepsia y antisepsia, este procedimiento tiene como finalidad su uso para el análisis en el laboratorio, En ciertas ocasiones se pueden producir algunos riesgos con este procedimiento que se destacan : ligero sangrado, aparición de hematoma, riesgo bajo de infección, en difícil extracción de sangre será necesario nueva punción, la cantidad total de sangre que se extraiga estará bajo criterio del investigador responsable, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.



Nombre y Apellido: Jessica Ramirez

Cédula: 060488841-2

Consentimiento Informado

Proyecto de investigación: Acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana obtenidas de los tubérculos andinos aprobado el 21-05-2019

Fecha: 12- Marzo - 2019

Yo. Hernán Chugui con C.I. 1804415346 con el fin de participar de manera consiente, voluntaria en el proyecto de investigación mencionado. Reconozco que he sido INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre.

Se me indica que la punción venosa es una técnica que se basa en la perforación de una vena visible y palpable con una aguja por vía transcutánea y bajo medidas de asepsia y antisepsia, este procedimiento tiene como finalidad su uso para el análisis en el laboratorio, En ciertas ocasiones se pueden producir algunos riesgos con este procedimiento que se destacan : ligero sangrado, aparición de hematoma, riesgo bajo de infección, en difícil extracción de sangre será necesario nueva punción, la cantidad total de sangre que se extraiga estará bajo criterio del investigador responsable, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.



A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Hernán Chugui', is written over a horizontal line.

Nombre y Apellido: Hernán Chugui

Cédula: 1804415346

Consentimiento Informado

Proyecto de investigación: Acción hemoaglutinante, anticoagulante y antimicrobiana obtenidas de los tubérculos andinos aprobado el 21-05-2019

Fecha: 12- Marzo -2019

Yo, Anthony Aguero Salazar con C.I. 172445165-1 con el fin de participar de manera consiente, voluntaria en el proyecto de investigación mencionado. Reconozco que he sido INFORMADO de forma clara, sencilla sobre los riesgos y beneficios de someterme a la toma de muestra de sangre.

Se me indica que la punción venosa es una técnica que se basa en la perforación de una vena visible y palpable con una aguja por vía transcutánea y bajo medidas de asepsia y antisepsia, este procedimiento tiene como finalidad su uso para el análisis en el laboratorio, En ciertas ocasiones se pueden producir algunos riesgos con este procedimiento que se destacan : ligero sangrado, aparición de hematoma, riesgo bajo de infección, en difícil extracción de sangre será necesario nueva punción, la cantidad total de sangre que se extraiga estará bajo criterio del investigador responsable, por este motivo firmo este consentimiento informado por mi libre voluntad.

Firma.



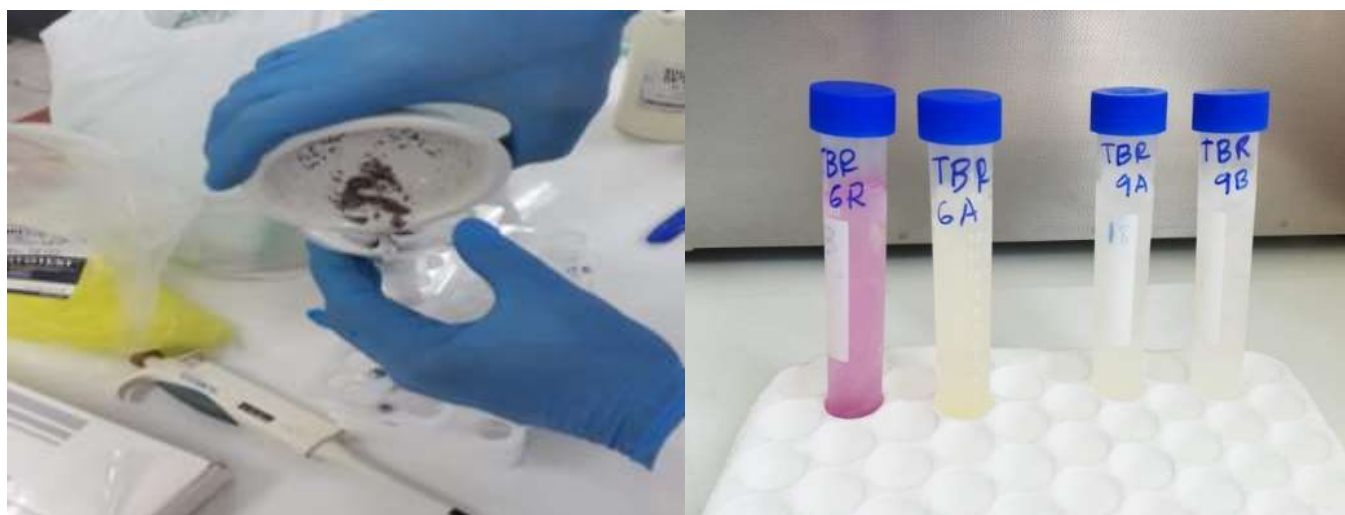
Nombre y Apellido: Anthony Aguero S.

Cédula: 172445165-1

Anexo N° 2 Selección de plantas y preparación del extracto



Anexo N° 3 Filtrado y almacenamiento del extracto



Anexo N° 4 Centrifugación del extracto y almacenamiento en tubos de eppendorf



Anexo N° 5 Resultados de la acción hemoaglutinante de los extractos crudos acuosos de *Tropaeolum tuberosum* y *Oxalis tuberosa*.



Anexo N° 6 Resultados de la acción anticoagulante de los extractos crudos acuosos de *Tropaeolum tuberosum* y *Oxalis tuberosa*.



Anexo N° 7 Resultados de la acción antibacteriana de *Tropaeolum tuberosum* frente a *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*.



Anexo N°8 Resultados de la acción antibacteriana de *Oxalis tuberosa* frente a *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*.

