Rev. Cienc. Tecnol.
Año 8 / Nº 8 / 2006 / 5-11

EXTRACTOS CRUDOS DE *POLYGONUM PUNCTATUM* ELLIOT CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Amer, Lidia S.; Jerke, Gladis; Horianski, Marta A.; Kramer, Fernando L.; Jordá, Graciela B.; Bargardi Severino; Guida, Adriana M.

Cátedra de Microbiología e Inmunología (C. Lic. Genética), Farmacotecnia I y II (C. Farmacia).
Módulo de Farmacia y Bioquímica. Av. M. Moreno 1375. Cod. 3300. Posadas, Misiones. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.
sebarces@fceqyn.unam.edu.ar

RAW EXTRACTS OF *POLYGONUM PUNCTATUM* ELLIOT WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY

ABSTRACT

Polygonum punctatum Elliot is an abundant species in the Province of Misiones used in popular medicine for wound antiseptics, as cicatrizant, etc. The objective of this work was to determine the antimicrobial activity of crude extracts obtained by different methods and with different parts of the plant against different bacterial and fungal genera. The antibacterial activity was determined by diffusion and minimum inhibitory concentration by dilution in agar against *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella pneumoniae* and antifungal activity by diffusion in plates and paper disks against *Candida albicans*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* Thom and *Penicillium citrinum* Thom. The extracts resulted active by diffusion against Gram positive and Gram negative strains. By minimum inhibitory concentration the tested bacteria proved to be resistant, except *Bacillus subtilis*. The antifungal effect was observed in the *Penicillium* genera and *Aspergillus parasiticus* species.

KEYWORDS: *Polygonum punctatum* Elliot, vegetable antimicrobial, antifungal extracts, phytomedicines.

RESUMEN

Polygonum punctatum Elliot es una especie abundante en la provincia de Misiones y es utilizada en medicina popular en la antisepsia de heridas, como cicatrizante, etc. Nuestro objetivo fue determinar la actividad antimicrobiana de extractos crudos obtenidos por diferentes métodos, y con distintas partes de la planta, frente a una serie de diversos géneros bacterianos y fúngicos. Se determinó la actividad antibacteriana por difusión y concentración inhibitoria mínima por dilución en agar frente a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, *Streptococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter lwoffii*, *Klebsiella pneumoniae* y la actividad antifúngica por difusión en pocillos y discos de papel frente a *Candida albicans*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* Thom y *Penicillium citrinum* Thom. Por difusión los extractos resultaron activos frente a cepas Gram positivas y Gram negativas mientras que por concentraciones inhibitorias mínimas las bacterias ensayadas resultaron resistentes, excepto *Bacillus subtilis*. Efectos antifúngicos fueron observados en el género *Penicillium* y la especie *Aspergillus parasiticus*.

PALABRAS CLAVES: *Polygonum punctatum* Elliot; antimicrobianos vegetales; extractos antifúngicos; fitomedicamentos.

INTRODUCCIÓN

El uso de los vegetales como fuente de compuestos fitomedicinales pasa por un momento de absoluta vigencia. Actualmente, las plantas se pueden usar con mayor rigor científico al contar con técnicas de microanálisis químico, que permiten el conocimiento de muchos compuestos de los que se sospechaba un poder curativo, pero que no había podido ser confirmado más que por el uso tradicional.

La OMS ha presentado públicamente una estrategia válida hasta el año 2005 cuyo objetivo es el de apoyar las medicinas tradicionales en todos los rincones del orbe [1]. Entre otros conceptos destaca la necesidad de llevar la medicina tradicional a la científica, pensando en los países en vías de desarrollo [2].

En la provincia de Misiones el uso de las plantas medicinales como alternativa terapéutica para diferentes aspectos de la salud humana forma parte de una cultura arraigada en la gente. Este hecho no se circunscribe solamente a las comunidades guaraníes, una gran parte de la población no indígena también las utiliza. Es por ello necesario frenar el vertiginoso ritmo de deforestación de selvas tropicales, ya que existe la posibilidad de que con cada especie vegetal que se pierda, no se puedan disponer de valiosos principios activos contra enfermedades de importancia en salud pública.

En el año 2005 cobró notoriedad a nivel provincial y nacional el caso de un niño aborigen con tumores en el corazón, presumiblemente de origen infeccioso. El choque de dos culturas diferentes puso en riesgo su vida [3]. Ello evidencia la necesidad de considerar también a la medicina alternativa y el trabajo interdisciplinario e integral en la curación del paciente.

Frente a esta realidad insoslayable es que la provincia puso en marcha el Programa Provincial de Desarrollo Integral de Plantas Medicinales con el fin de revalorizar y de introducir a la Atención Primaria de Salud, algunos medicamentos a base de plantas medicinales, preferentemente autóctonas. Misiones cuenta con la habilitación para realizar convenios con otras provincias o países interesados en esta temática y los fitomedicamentos misioneros son los únicos reconocidos en el país [4,5].

La Asociación Argentina de Fitomedicina resalta que la obtención de un buen fitomedicamento implica una serie de cuidadosos pasos que comienzan en las buenas prácticas de cultivo hasta la venta del mismo en el comercio, advirtiendo que las plantas mal usadas pueden hacer mucho daño [5]. Un riguroso control es necesario porque es falso que todo lo natural sea bueno.

Nuestro objetivo, desde la Universidad, es el de cola-

borar en la búsqueda de nuevos principios activos antimicrobianos de las plantas, garantizar su eficacia, seguridad y calidad que se adecuen a las normativas de las disposiciones del Instituto Nacional de Medicamentos (INAME), reglamentadas en junio de 1999 por medio de metodologías y técnicas estandarizadas.

Para este estudio la especie vegetal elegida fue *Polygonum punctatum* Elliot. El género *Polygonum* posee una distribución mundial, se encuentra desde Estados Unidos hasta el sur de la Argentina. Se desarrolla en los campos de terrenos bajos, inundables, húmedos, a orillas de ríos, arroyos, arrozales, aunque muchas veces forman malezales conocidos con el nombre de "cataysales".

Este género se ubica dentro de la familia de las poligonáceas. En la Argentina se encuentran entre 20 y 30 especies. *Polygonum punctatum* Elliot se conoce con el nombre vulgar de "catay" o "caá-tay", "kaa-tay", "yerba picante", "picantilla", "sanguinaria" y abunda especialmente en la provincia de Misiones. Hierba anual, hasta de 1,5 metros de altura. Es utilizada en la medicina popular, para el tratamiento de la sarna y hongos, machacando y triturando toda la planta en agua fría. El cocimiento de la planta en agua o decocción se la utiliza como diurética, abortiva, anticonceptiva y antihelmíntica [6,7].

Existen antecedentes sobre el uso popular de la planta en la antisepsia de las heridas. Además, el estudio fitoquímico y los resultados alentadores de la actividad antibacteriana realizados en un trabajo anterior, nos alentaron a profundizar su estudio [8].

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras y preparación de extractos vegetales

Se recolectaron tallos (T), hojas (H), flor (Fl), rama (R), fruto (Fr) y raíz (Rz) de *Polygonum punctatum* en las localidades de San Vicente y Santa Rita, Provincia de Misiones.

El material fue clasificado y depositado para su conservación en el Herbario de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales de la Universidad Nacional de Misiones [8]. Se emplearon en forma natural verde (v) y desecada (s) a temperatura ambiente $\pm 25^\circ \text{C}$, en lugar ventilado y a la sombra. Posteriormente se efectuó la molienda con un molino a cuchillas tipo Viley obteniéndose partículas por tamizado, de 5 a 10 mesh. El material fue envasado en frascos adecuados y conservados en un ambiente seco y fresco. A este polvo se le llamó droga.

Para obtener los extractos crudos se pesaron diversas cantidades de droga a razón de 100, 150 y 200 g/l de solvente respectivamente, se usaron métodos de extracción conocidos como decocción, maceración, soxhlet y

solventes de distinta polaridad como el alcohol etílico, metanol, acetato de etilo y hexano.

Acción antibacteriana

El estudio de la determinación de la sensibilidad antimicrobiana por difusión con discos y de la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos se realizó siguiendo las Normas del Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI) / National Committee For Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Método de difusión: se llevaron a cabo en dos experiencias en diferentes tiempos de acuerdo a la disponibilidad de droga y de cepas bacterianas [9].

EXPERIENCIA 1

Muestras: se emplearon 17 extractos crudos de *Polygonum punctatum* Elliot (Tabla N°1).

TABLA N° 1: Obtención de extractos crudos de *Polygonum punctatum* Elliot.

Ext N°	Parte de la planta	Solventes	Método de extracción
1	THFr/v	Agua	Decocción
2	T/v	Agua	
3	Fr/v	Agua	
4	THFr/s	Agua	
5	Rz/s	Agua	
6	THFr/s	Metanol	Maceración
7	Rz/s	Metanol	
8	T/s	Metanol	
9	TH/s	Metanol	
10	THFr/s	Acetato de etilo	
11	Fl/v	Acetato de etilo	
12	H/v	Acetato de etilo	
13	THFr/v	Acetato de etilo	
14	THFr/Fl/s	Acetato de etilo	
15	T/v	Acetato de etilo	
16	THFr/s	Hexano	
17	H/v	Etanol 96°	

Todas las muestras procedieron de San Vicente y se utilizaron en una concentración de 100 g/l.

Cepas: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, *Enterobacter cloacae* ATCC 202 y *Escherichia coli* ATCC 35218.

Discos de Prueba: se utilizaron discos de papel Whatman N°3 de 6 mm de diámetro, embebidos con 25µl, 50µl y 100µl de extracto crudo con una carga correspondiente a 2,5 mg, 5 mg y 10 mg, secados a 37° C durante 24 horas.

EXPERIENCIA 2

Muestras: se emplearon 6 extractos crudos de *Polygonum punctatum* Elliot (Tabla N° 2).

TABLA N° 2: Obtención de extractos crudos de *Polygonum punctatum* Elliot.

Ext N°	Parte de la planta	Conc. g/l	Método de extracción
18	Fl/s	200	Maceración
19	Fr/s	200	
20	R/s	200	
21	H/s	100	Soxhlet
22	HFIFr/s	150	
23	THFr/s	100	

Referencias: ver texto. Todas las muestras procedieron de Santa Rita y el solvente utilizado fue el metanol.

Cepas: se incluyeron además *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes ATCC 43300, *Streptococcus faecalis* ATCC 29232, *Salmonella enteritidis* EB 1874/88, *Staphylococcus epidemidis* ATCC 12228, *Acinetobacter lwoffii* cepa remitida por el INEI-ANLIS "Dr Carlos Malbrán", *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

Discos de Prueba: los discos fueron impregnados con 50 µl de extracto pero de carga variable según la concentración del extracto en cada caso.

Técnica: se sembraron placas de Agar Mueller Hinton (AMH) con un hisopo a partir de una suspensión estandarizada de cada microorganismo. Luego de colocar los discos embebidos con los extractos sobre la superficie del agar, se procedió a la incubación a 35 °C durante 16-18 h y a la lectura de las placas observando la presencia de los halos de inhibición medidos en mm.

En las dos experiencias se utilizó la misma técnica y se efectuaron los controles que se detallan a continuación.

a) De contaminación de extractos: cultivo en estrías con un ansa de los mismos en placas de AMH y posterior incubación a 35 °C debiendo observarse ausencia de desarrollo.

b) De viabilidad de cepas: cultivo de los microorganismos en placas de AMH para obtener cultivos frescos y para detectar contaminación.

c) De inactividad de los solventes: con discos embebidos con cada solvente y sometidos a las mismas condiciones que los discos de prueba. Al cultivarse en el AMH no debe observarse inhibición del desarrollo de ninguna de las cepas de prueba.

d) De metodología: con discos de gentamicina (10 µg) y ampicilina (10 µg) frente a *P. aeruginosa* ATCC 27853 y *E. coli* ATCC 35218 respectivamente.

Concentración inhibitoria mínima: se realizó el método de dilución en agar [10].

Muestra: extracto de Fl y Fr obtenido por soxhlet y con solvente acetato de etilo. Para la prueba se empleó la fracción acuosa del extracto seco, solubilizándose en el momento de realizar el trabajo, a una concentración

final de 50 mg/ml.

Concentraciones probadas: el rango utilizado estuvo entre 78 a 2.500 µg/ml.

Cepas: se emplearon todas las cepas utilizadas en el método de difusión.

Técnica: el extracto se incorporó dentro del medio AMH, de manera tal que cada placa contenía una concentración de extracto diferente. Los inóculos de los distintos microorganismos se aplicaron por triplicado simultáneamente sobre la superficie del agar utilizando un replicador de Stern.

Controles: a) De método: como antibiótico de referencia se usó cefalotina, frente a *S. aureus* ATCC 29213.

b) De viabilidad de las cepas 1: cultivo de los microorganismos en placas de AMH sin extracto, para obtener cultivos frescos y para detectar mezcla de gérmenes.

c) De viabilidad de las cepas 2: se procedió de la misma manera pero al finalizar la inoculación de todas las placas (efecto "carry over").

Acción antifúngica

En el estudio de la determinación de la sensibilidad se emplearon dos métodos:

Método 1. Prueba de sensibilidad al extracto por difusión en discos de papel de filtro (PSEDDi) [9].

Muestras: se emplearon 6 extractos crudos de *Polygonum punctatum* Elliot (Tabla 2).

Cepas: hongos levaduriformes: *Candida albicans* CDC B385 (cedida por la división Micología del INEI "Dr Carlos G. Malbrán). Hongos filamentosos: *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum* Thom y *Penicillium citrinum* Thom aisladas e identificadas de té negro cultivado en Misiones [11].

Discos de prueba: se prepararon los discos de la misma manera que en el estudio de la acción antibacteriana y fueron embebidos con 100 µl del extracto crudo.

Preparación del Inóculo de hongos filamentosos: cada especie fúngica fue cultivada en pico de flauta con Agar papa dextrosa (PDA, Oxoid), durante 10 días a 25 ± 2 °C. Luego se preparó una suspensión madre de conidias, agregando a cada tubo 10 ml de solución fisiológica 0,85% con 0,1% de Tween 80 (Polisorbato 80, Sigma), para prevenir la aglomeración y la rápida precipitación de las conidias. Las suspensiones conteniendo las conidias desprendidas fueron recogidas en frascos de vidrio estériles color caramelo y se realizó su recuento en cámara de Neubauer, constituyendo la suspensión madre de conidias (SME). A partir de la SME se preparó la suspensión de trabajo, ajustando la concentración de conidias a 1×10^6 UFC/ml con solución fisiológica [12].

Preparación del Inóculo de *Candida albicans*: cultivo

del mismo en agar Sabouraud 40 (AS40) durante 24 h a 37 °C. Se preparó una suspensión en solución fisiológica y se ajustó al tubo N° 1 de la escala de Mc Farland.

Técnica: se utilizó la misma técnica descripta, adaptada a las cepas fúngicas [9]. Con un hisopo se distribuyeron uniformemente las células levaduriformes y/o conidias por toda la placa de AS40. Luego se colocaron 6 discos embebidos con los extractos. Se incubaron las placas sembradas con *C. albicans* a 37°C, se observó la presencia o ausencia de desarrollo a las 24 horas y hasta 10 días.

Las placas sembradas con los hongos filamentosos se incubaron a 28°C, se observó a partir del tercer día y hasta 20 días. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

Método 2. Prueba de sensibilidad al extracto por difusión en pocillos de agar (PSEDPA) [13].

La preparación de las placas y la siembra del inóculo se llevaron a cabo como en el método anterior.

Preparación y carga de los pocillos: con un sacabocado se realizaron pocillos de 6 mm de diámetro. Se cargaron los mismos con 50 µl del extracto crudo.

Incubación: se tomaron los mismos parámetros que en el Método 1.

Controles: a) De contaminación de extractos: se sembró cada extracto crudo en AS40 y se incubó a 28 °C durante 15 días.

b) De viabilidad de las cepas: cultivo de *C. albicans* y de los hongos filamentosos en AS40 y posterior incubación a 37°C durante 24 a 48 h y a 28°C durante 5 días respectivamente.

c) De inactividad del solvente: con discos embebidos con el solvente y sometidos a las mismas condiciones que los discos de prueba. Al cultivarse en AS40 no debe dar inhibición del desarrollo.

Se definió la sensibilidad (S) o resistencia (R) por la presencia o ausencia de halos de inhibición respectivamente, medidos en mm.

RESULTADOS

a) Resultados de la actividad antibacteriana

Se registraron en tablas solo aquellos extractos que mostraron actividad antibacteriana en las condiciones de prueba.

MÉTODO DE DIFUSIÓN

En la experiencia 1 (Tabla 3).

Los extractos obtenidos de distintas partes de las plantas verdes y secadas, cuando se utilizó como solvente el acetato de etilo, mostraron actividad antibacteriana

sobre *S. aureus* y *B. subtilis*.

Cuando la obtención de los extractos se realizó con solventes como el hexano y etanol 96°, la actividad se observó sobre *S. aureus*.

Con las bacterias Gram negativas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter cloacae* los extractos no resultaron activos.

Los extractos obtenidos por maceración con metanol de THFr/s, Raíz/s, T/s y TH/s no tuvieron actividad inhibitoria sobre las bacterias Gram positivas y Gram negativas.

No tuvieron efecto inhibitorio los extractos obtenidos por decocción usando como solvente el agua de THFr/v, T/v, Fr/v, THFr/s y Raíz/s de la planta, no resultaron activos.

TABLA Nº 3: Actividad antibacteriana de extractos crudos obtenidos por maceración de *Polygonum punctatum* Elliot.

Resultados (diámetro del halo en mm)						
Ext. Nº	Staphylococcus aureus			Bacillus subtilis		
	Carga por disco en µl			Carga por disco en µl		
	25	50	100	25	50	100
10	9	R	R	R	R	R
11	13	13	12	8	10	11
12	R	R	10	8	9	10
13	11	12	12	8	10	13
14	R	8	R	8	10	11
15	R	R	9	R	8	8
16	9	R	R	R	R	R
17	R	R	8	R	R	R

Referencias: R = resistente

En la experiencia 2 (tabla 4).

TABLA Nº 4: Actividad antibacteriana por difusión de extractos crudos de *Polygonum punctatum* Elliot.

Resultados (diámetro del halo en mm)								
Ext. Nº	Conc. g/l	Mét. ext.	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus met-r</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>A. lwoffii</i>
18	200	Mac.	16	R	R	9	9	10
19	200		11	R	9	R	R	10
20	200		15	9	R	R	R	R
22	150	Sox	R	R	R	R	R	R
23	100		R	11	R	R	R	R

Referencias: Mac. = maceración; Sox = soxhlet; *S. aureus met-r.* = *Staphylococcus aureus* metilino-resistente; M = metanol; R = resistente.

En los extractos obtenidos por maceración y utilizando como solvente el metanol los resultados fueron variables, dependiendo de la parte de la planta utilizada. El extracto de H/s obtenido por maceración con metanol no mostró actividad antibacteriana alguna.

Con el método de soxhlet tuvo efecto antibacteriano el extracto de THFrFl/s sobre *S. aureus* metilino-resistente.

No se observó actividad de los extractos sobre los bacilos Gram negativos aerobios *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*. Tampoco fueron activos sobre las bacterias Gram-positivas *Streptococcus faecalis* y *Staphylococcus epidermidis*.

Controles de metodología: los halos de inhibición se observaron en el rango esperado.

CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA

La CIM de *Bacillus subtilis* resultó igual a 625 µg/ml. Las otras cepas fueron resistentes.

La CIM del control coincidió con el rango esperado (0,12-0,5 µg/ml)

b) Resultados de la actividad antifúngica

Se registraron en tabla solo aquellos extractos que mostraron actividad antifúngica (Tabla Nº 5).

Con el método por difusión en discos de papel, y en las condiciones de prueba no se observó inhibición sobre todas las cepas ensayadas con los extractos crudos de *Polygonum punctatum* Elliott.

No se observó actividad de los extractos sobre *Candida albicans* y *Aspergillus niger* por ninguno de los métodos de difusión empleados

Los extractos obtenidos de fruto y rama desecados por maceración con metanol no presentaron actividad en las condiciones de prueba.

TABLA Nº 5: Actividad antifúngica por difusión en pocillos de extractos crudos de *Polygonum punctatum* Elliot.

Ext. Nº	Conc. g/l	Mét. ext.	Partes de la planta	<i>Aspergillus parasiticus</i>	<i>Penicillium chrysogenum</i>	<i>Penicillium citrinum</i>
18	200	Mac.	Flor/s	R	9	9
21	200		Hoja/s	R	R	10
22	150	Soxhlet	Hoja, Flor y Fruto/s	9	R	R

Referencias: R = resistente.

DISCUSIÓN

El espectro de actividad de los extractos de *Polygonum punctatum* Elliot abarcó a bacterias Gram positivas y Gram negativas. Se observó actividad frente a las cepas *S. aureus*, *S. aureus* metilino-resistente, *B. subtilis*, *A. lwoffii*, *E. coli* y *E. cloacae*.

No se observó actividad de los extractos frente a *S. epidermidis* y *S. faecalis* en las condiciones de prueba. Ello difiere de otros autores que emplearon procedimientos diferentes y resultaron sensibles. En forma coincidente con ellos, hubo inhibición frente a *A. lwoffii* y fueron inactivos con *P. aeruginosa* y *S. enteritidis* [8].

Se observó distinta distribución de los principios activos en las diferentes partes de la planta y con solven-

tes de polaridad variable. Los extractos de flor y fruto mostraron inhibición sobre bacterias Gram negativas y Gram positivas, y se amplió el espectro de acción de otros vegetales que se circunscriben únicamente a las bacterias Gram positivas [13].

En los extractos obtenidos con acetato de etilo el efecto inhibitorio se observó frente a el *S. aureus* y *B. subtilis*. La incapacidad de los principios activos de atravesar la membrana externa de los bacilos Gram negativos podría explicar la resistencia.

La falta de actividad antibacteriana de los extractos acuosos de *Polygonum punctatum* Elliot es coincidente con los encontrados con otras plantas obtenidos por decocción con agua y la atribuimos a diversas causas, entre ellas a la escasa solubilidad del o de los principios activos, al poco poder de extracción o a la inhibición de los principios activos por el calor al realizar la decocción [14].

Las altas cargas de los discos embebidos con los extractos crudos, cuando se lleva a cabo el método de difusión en nuestra experiencia y de otros estudios realizados con otras plantas, difieren sustancialmente con la de los antimicrobianos de uso clínico en donde es mucho menor [8, 13, 14, 15,16]. El mismo razonamiento podría aplicarse a los resultados obtenidos con la concentración inhibitoria mínima. La obtención de los principios bioactivos podría modificar esta situación.

La amplia variación de los efectos antifúngicos es difícil de dilucidar, porque no contamos con datos sobre la composición química de los extractos.

CONCLUSIONES

La actividad de los extractos crudos de *Polygonum punctatum* Elliot es amplia y variable. Está sujeta a cambios importantes tales como: parte de la planta empleada, método de extracción y polaridad del solvente.

Es posible seleccionar la actividad sobre bacterias Gram positivas o Gram negativas o ambas u hongos solamente.

Los resultados obtenidos justifican una propuesta a acotar las variables para obtener mayores logros.

AGRADECIMIENTOS

A las Dras. Marta Vergara y Marina Quiroga de la Cátedra de Bacteriología (C. Bioq.) Fac. Cs. Ex. Qcas. y Nat. UNaM, por el préstamo del multiinoculador Stern.

A las autoridades del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico (Cidet). Fac. Cs. Ex. Qcas. y Nat. UNaM por el apoyo y atención brindados al proyecto de investigación.

REFERENCIAS

- Cuesta, T.** Medicina Tradicional. La apuesta de la OMS. The Ecologist para España Latinoamérica. Enero, 2003.
- Plantas medicinales.** Fitoterapia. [http: www. elergonomista.com/fitoterapia/fitoterapia.htm](http://www.elergonomista.com/fitoterapia/fitoterapia.htm)
- Si no tiene agua potable Julián no volvería a su comunidad. El Territorio. Misiones. 28 de setiembre de 2005.
- Continúa el proyecto de plantas medicinales. <http://www.territorioidigital.com/nota>. 28 de setiembre de 2004.
- Los fitomedicamentos misioneros son los únicos reconocidos en el país. El Territorio Misiones. p. 6. 26 de noviembre de 2005.
- Gatusso, S. J.** Las especies del Género *Polygonum L* (Polygoneaceae), presentes en la Argentina, utilizadas en medicina popular. Rojasiána. 4 (2): p. 118-245. 1998.
- Ratera, E. L.; Ratera, M. O.** Plantas de la Flora Argentina utilizadas en la medicina popular. Ed. Hemisferio Sur. p. 143. Buenos Aires. 1980.
- De Battista, G.; Guida, A.; Bargardi, S.** Estudio fitoquímico y actividad antibacteriana de *Polygonum punctatum* Elliot. Rev. Mexic. de Cs. Farmacéuticas. 35 (3): p 11-14. 2004.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (Formely NCCLS). Publication M100-S15). Disk diffusion, Vol. 25 N° 1: p. 23-92. January 2005.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (Formely NCCLS). Publication M100-S15). Disk diffusion, Vol. 25 N° 2: p. 94-170. January 2005.
- Jerke, G.** Microflora del té (*Camellia sinensis* L) O. Kutze en las distintas etapas de su procesamiento y expendio. Tesis de la maestría en Tecnología de los alimentos. Universidad Nacional de Misiones, 2005.
- Pitt, J. L.; Hocking, A. D.** Fungi and Food spoilage. 2° Ed. London-Wienheim-New York-Tokyo-Melbourne-Madras: Blackie Academic & Professional. 1997.
- Negroni, R.** Actividad inhibitoria "in vitro" de algunos antisépticos frente a cultivos de *Prototheca wickerhamii*. Revista Argentina de Micología. 22: p. 5-7. 1998.
- Bargardi, S.; Kramer, F. L.; Medvedeff, M.; Jordá, G.; Guida, A.** Actividad antibacteriana de *Peschiera australis* (Müell) Miers sobre *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*.

Rev. de Ciencia y Tecnología 4a . Año 4/ N° 4a / 2001:
p. 6-11. Fac. de Cs. Ex., Qcas y Nat. Univ.Nac. de
Misiones.

15. Arambewela, A.; Perera, A; Wijesundera, R. L. C.
The Volatile And Microbiological Studies On
Kaempheria Galanga, Hibiscus Abelmoschus, and

Piper Longum. Acta Horticulturae Número 501. Second
World Congress On Medicinal and Aromatic Plants For
Human Welfare Wocamp-2: p. 297-300. 1997.

16. Rossi, M. A.
Antimicrobianos. Módulo 4. Asociación Argentina de
Microbiología, p. 79- 85.