

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.  
UNAN- LEON  
Facultad de Ciencias Químicas.  
Escuela de Farmacia



**MONOGRAFIA PARA OPTAR AL TITULO DE LICENCIADO EN  
QUIMICA – FARMACIA.**

*Determinación de la Actividad Antimicrobiana en cepas de Pseudomona aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Shigella flexneri, Klebsiella pneumoniae, a seis extractos de plantas que fueron colectadas en la Biodiversidad Vegetal de la Estación Biológica de Bartola – Río San Juan.*

**AUTORES:**

Br. Verania Benita Ramírez López.  
Br. Meyling Ruiz Castellón.

**TUTOR:**

Lic. Gloria María Herrera.

**Abril 2004**



## **Opinión del Catedrático**

El presente trabajo de investigación, constituye un esfuerzo científico más en las áreas de Farmacognosia y Microbiología al coleccionar especies bajo el concepto de biodiversidad para la determinación de la actividad antimicrobiana.

Es un trabajo investigativo de mucha importancia, porque se encontraron dos especies de planta con actividad biológica en un bioensayo para antimicrobiano con cepas de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*. Esto ocupará un espacio en el campo investigativo y servirá de referencia para la continuación del estudio científico de estas especies.

Los aspectos científicos que proporciona éste trabajo permite que reúna los requerimientos de una Monografía.

Además el gran esfuerzo realizado por los autores debe servir de modelo para otros trabajos que se realicen en esta área de investigación.

Lic. Gloria María Herrera  
Tutor



## **Agradecimiento**

A **Dios** nuestro señor por iluminarnos y guiarnos con sabiduría y fortaleza en cada instante de nuestras vidas y permitirnos culminar nuestra carrera.

A nuestros **Padres** por todo el amor y apoyo incondicional que nos han brindado.

A nuestros **Profesores**; gracias por su apoyo y por brindarnos sus conocimientos, muy especialmente a nuestra **Tutora** Gloria María Herrera por su abnegada e incondicional labor de guiarnos en la realización del presente trabajo Monográfico e impulsarnos en la investigación científica para ser mejores profesionales cada día.

A todas aquellas personas que de una u otra forma nos han brindado su apoyo en el transcurso de este trabajo, para salir adelante especialmente a: Ing. Efraín Sándigo y su esposa Sra. Karla Padilla, a todo el personal que labora en el departamento de Microbiología y Cristalería del la Facultad de Ciencias Química Escuela de Farmacia UNAN – León.

**“A todos Infinitas Gracias.”**

*Verania B. Ramírez y Meyling Ruiz*



## **Dedicatoria**

Dedico esta monografía:

**A Dios nuestro padre todopoderoso,** por iluminarme siempre, por darme sabiduría y fortaleza para finalizar con este trabajo mi carrera.

**A Mis Padres:** Fabricio Ramírez y Josefa López por haberme dado la vida, por la educación que siempre me han brindado y mucho sacrificio contribuyendo así a mi formación como profesional.

**A Mi Tía:** Elba López por darme su apoyo incondicional a lo largo de todos mis estudios.

**A Mis Hermanas:** Karla Padilla y a su esposo Ing. Efrain Sándigo por su gran apoyo, voluntad y paciencia durante la realización de esta monografía.

Belquis Ramírez y a su esposo Marcio Canales por esforzarse a que alcanzara unas de mis grandes metas.

**A Mi Novio:** Alberto Meza por darme mucho amor, entendimiento, comprensión y permitirme compartir momentos agradables junto a él.

**A Una Gran Amiga muy especial:** Teresa Martínez por estar en los momentos que más la he necesitado.

**A Mi tutora:** Gloria María Herrera por darme parte de su tiempo, sacrificio, voluntad y paciencia durante la realización de este trabajo monográfico.

**A Todos mis maestros** por transmitirme sus conocimientos a llegar a formarme como una profesional y por el tiempo que me dedicaron siempre.

**A todos muchísimas gracias.**

***Verania Benita Ramírez López.***



## **Dedicatoria**

A **Dios** y **María Santísima** sobre todas las cosas que son la fuente infinita de sabiduría, por concederme vida, paciencia y por darme todos los medios necesarios para llegar a concluir una etapa más en mi vida.

A mis **Padres**, Mariano de Jesús Ruiz Hernández y Angela del Rosario Castellón Cisnero, por todo el cariño y amor que siempre me han brindado, a quienes les demuestro que sus esfuerzos no han sido en vano, sino que su responsabilidad como padres han sido correspondidos satisfactoriamente para ellos mi respeto y admiración.

A mis **hermanos** Magaly, Marianela y Mariano por todo el apoyo moral y entusiasmo que me han brindado para seguir adelante y alcanzar todo lo que me he propuesto.

A todas las personas que de una u otra forma siempre me han aconsejado, ayudado a cumplir este anhelado trabajo muy especialmente al Dr. Alejandro Pérez Dávila y esposa Sra. Estela Cajina; así como al Ing. Efrain Sandigo y Sra. Karla Padilla.

A los **Docentes** de la Facultad de Ciencias Químicas Escuela de Farmacia, que siempre me han apoyado y guiado por el mejor camino teniendo en cuenta su tiempo, consejos, confianza y sinceridad brindada a mi persona.

**!!!! Gracias !!!!!**

*Meyling Ruiz Castellón.*



# RESUMEN



## **Resumen**

El uso de plantas medicinales para tratar las enfermedades más comunes, se ha venido generalizando por parte de la población, razón que ha despertado interés por parte del farmacéutico para ampliar sus conocimientos acerca de las plantas en la que respecta ha información etnométrica, actividad biológica, así como la presencia de compuestos bioactivos en las plantas.

*En el estudio se determino la actividad antimicrobiana de seis especies colectadas bajo el concepto de Biodiversidad en la Estación Biológica de Bartola – Río San Juan mediante la utilización de cepas de Pseudomona aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli Salmonella typhymurium, Shigella flexneri, Klebsiella pneumoniae.*

*Después de la colección se prepararon extractos metanólicos para someterlo al bioensayo de actividad antimicrobiana orientándonos por el método de Mitcher, para la determinación de la concentración mínima inhibitoria de las dos especies con actividad antimicrobiana Vismia macrophylla a una concentración de 300mg/ml y Anthurium clavigerum a una concentración de 230mg/ml.*



## INDICE

	Pág.
RESUMEN	
INTRODUCCION .....	1
TEMA .....	3
OBJETIVOS .....	4
MARCO TEORICO .....	5
HIPOTESIS .. .....	32
MATERIAL Y METODOS .....	33
RESULTADOS .....	41
ANALISIS DE RESULTADOS.....	43
CONCLUSION .....	44
RECOMENDACIONES .....	45
BIBLIOGRAFIA .....	46
ANEXOS .....	49





## **Introducción**

Los productos naturales han sido la principal fuente de agentes medicinales de la humanidad durante siglos. Así, el descubrimiento de nuevos agentes naturales con actividad terapéutica constituye una meta de la humanidad desde tiempos prehistóricos. En los últimos veinte años surge la investigación de productos naturales para el descubrimiento y desarrollo de nuevas moléculas de interés farmacéutico. (1)

Numerosas son las investigaciones que se realizan encaminadas a la búsqueda de nuevos compuestos con actividades biológicas a partir de fuentes naturales. Dentro de ello un considerable número de estudios han sido encaminados hacia la evolución de actividad antimicrobiana en extracto y aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. De ello se han empleado la técnica in vitro dada la sencillez y la reproducibilidad de las mismas. (2)

En nuestro país, se sigue haciendo uso de la medicina tradicional, siendo utilizada y elaborada por curanderos, botánicos y profesionales de la salud que las han utilizados con poco conocimiento de la terapéutica de las plantas medicinales.

La diversidad biológica comprende la totalidad de los genes; las especies y lo ecosistema del mundo que en su conjunto integran la biosfera característica de nuestro planeta, así como sus procesos ecológicos y evolutivo fundamentalmente.

La humanidad obtiene de la biodiversidad la mayoría de los recursos para su existencia, tanto en las formas de las plantas como en animales domésticos y silvestre.

En particular las plantas más altas por su estructura y diversidad biológica ofrecen una unidad renovable de origen y potencial de nuevas medicinas e identidades biológicas. Por lo tanto, la biodiversidad es la selección de plantas atendiendo a las cualidades botánicas, así como la selección de plantas basadas en la diversidad taxonómica donde habrá confianza de descubrir componentes que se desconocen.

De los estudios realizados con anterioridad con plantas de la flora Nicaragüense, podemos mencionar que en 1999 se investigó sobre la actividad antimicrobiana de 59 especies dando como resultado dos especies (*Talisa nervosa* familia sapindaceae y *Eugenia* sp. familia mirystaceae) con actividad antimicrobiana para *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*.



En el 2000 se realizó un estudio similar al anterior con 99 especies dando como resultado la especie *Otova novogranestensis* antes los microorganismos *Staphylococcus aureus* y *Shigella disenterya*.

Siendo tan abundante la Biodiversidad Vegetal de la Flora Nicaragüense, en especial el de la Reserva Biológica de la Estación Bartola – Río San Juan, nos propusimos determinar la actividad antimicrobiana de seis especies que plantas que no han sido evaluadas en estudios anteriores, para que de esta manera poder aportar con nuestro resultado posibles soluciones a enfermedades infecciosas causada por estos microorganismos *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhymurium*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*.



# TEMA



*Determinación de la Actividad Antimicrobiana en cepas de Pseudomona aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Salmonella typhymurium, Shigella flexneri, Klebsiella pneumoniae a seis extractos de plantas que fueron colectadas en la Biodiversidad Vegetal de la Estación Biológica de Bartola – Río San Juan.*



# OBJETIVOS



## **OBJETIVO GENERAL**

Determinación de la Actividad Antimicrobiana en cepas de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae* a seis extractos de plantas que fueron colectadas en la Biodiversidad Vegetal de la Estación Biológica de Bartola – Río San Juan.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- 1-. Evaluar la actividad antimicrobiana de las especies en estudio, orientándonos por el procedimiento del Método de Mitcher.
  
- 2-. Determinar la concentración mínima inhibitoria de las muestras que presenten actividad antimicrobiana.



# MARCO TEORICO



## **1. Biodiversidad**

El continente americano consiste en dos grandes masa de tierra firme; Norte América y Sudamérica, conectado como una franja larga y angosta de tierra conocida como América Central; la fuerza que moldean la franja de tierra centroamericana, ha contribuido a la creación de un sin número de nichos ecológicos que propician una importante variedad de especies adaptados a tan rico entorno, por lo tanto los elementos de flora y fauna de ambos subcontinentes (norte y sur América) hacen de Centro América un corredor biológico privilegiado que se prolonga desde el sur de México hasta la costa del pacífico de choco en Colombia. Esta biodiversidad tiene su origen en la rica estructura del paisaje del área formando el istmo entero un mosaico de bosques pluviales de las tierras bajas húmedas, pinares naturales, nebliselvas frías húmedas de altura, páramos muy altos, bosques tropicales, secos, y vastas sabanas secas, humedades pantanosas, etc.

### **1.1 Biodiversidad.**

Se define como la variedad de organismos existentes en todos los niveles de la genética que pertenecen a la misma especie; poniendo en orden a las especies que generan familia y aún la taxonomía de los niveles más altos incluidos.

### **1.2 Grupo taxonómico de la flora de Nicaragua.**

Actualmente en el mundo se conocen un total de unos 270,000 especies de las cuales 100,000 especies son hongos y líquenes, 80,000 son protozoos y algas.

En Nicaragua, más del 30% de los géneros se encuentran en 5 familias: Orquidaceas, Leguminosas, Asteraceas, Poaceas y Rubeaceas.

### **1.3 Prospección de la Biodiversidad.**

La prospección de la biodiversidad es la búsqueda de especies silvestre, los genes y sus productos con un uso real y potencial para los seres humanos. Un proceso que queda de los orígenes de la humanidad. También abarca a la vez, la búsqueda a cargo de la biotecnología de genes, tarea que tradicionalmente ha sido asignada a los creadores de plantas y animales.





## **1.4 Unidades Sistemáticas.**

La taxonomía y la sistemática vegetal son las dos disciplinas que estudian la forma de vida de las plantas y de su ordenación. La taxonomía se encarga de buscar los caracteres que permiten la clasificación de los seres vivos y la sistemática es la responsable de ordenar lo taxonómico.

*Las unidades sistemáticas o taxones del reino vegetal, de menor a mayor categoría son las siguientes:*

**Género:** es un conjunto de especies que tiene cierto número de caracteres comunes, por ejemplo todos los árboles del género “cassia grandis” en que la especie es “grandis”.

**El nombre científicos:** es el nombre con que en taxonomía vegetal se designa a cada especie. Esta compuesta por dos palabras latinizadas, agregando al final el apellido abreviado del autor clasificado.

Un estudio de biodiversidad considera la clasificación en cinco categorías:

- ❖ **Procariontes:** Bacteria y algo azul verdosa (monera), incluye a los seres vivos cuyas células no poseen membrana nuclear. Antepasado de todos los demás seres vivos.
- ❖ **Protistas:** Eurariotas (células con membrana nuclear), simples, primordialmente unicelulares, incluye los protozoarios (Protistas de forma animal), primeros animales y los protofilas- algas fotosintéticas.
- ❖ **Hongos:** se considera un grupo con características entre los Protistas y las plantas más simples, denominadas tallophytas.
- ❖ **Plantas:** comprende las mayorías de las algas, plantas no vasculares (referido a las características de las últimas de tener un sistema de transporte interno).
- ❖ **Animales:** multicelulares abarca esponjas parazoa y otros animales metazoo, incluyendo también la especie humana.



El concepto de biodiversidad biológica también se ha descrito con base a tres categorías:

- ❖ Diversidad de especie: Variedad de especies en una región.
- ❖ Diversidad de Ecosistemas: Variedad de ecosistema y comunidades.
- ❖ Diversidad Genética: Variación de los genes dentro de las especies. (3)

El medio ambiente de cada especie de planta es tomado como una de esta categoría, donde la teoría evolucionada es conocida por condición heterogénea en el medio ambiente, siendo un factor deseado para coleccionar plantas, que se encuentran creciendo sobre la variedad de condiciones medio ambientales. Dando un ejemplo la unidad de los organismos que crece en diferentes medios ambientales como las profundidades marinas que se encuentra en el fondo del océano cerca de la orilla del respirador hidrotérmico, las criaturas encontradas ahí se han desarrollado en un proceso bioquímico único y no requieren de luz solar para su sobrevivencia, vale la pena buscar en varios lugares tales como: desierto, áreas pantanosas etc. (3)

En la colección de muestra para el descubrimiento de nuevas drogas el método de colección de especies vegetales se fundamenta en la biodiversidad biológica. Posee ventajas y desventajas, entre estas tenemos: (3)

## **1.5 Ventajas y Desventajas de la Biodiversidad.**

### **Ventajas**

- Al comparar la biodiversidad con los aspectos botánicos en la selección de plantas, hay un mayor descubrimiento en las especies vegetales.
- El proceso de obtención de las especies es más rápido si se compara con el alcance etnobotánico.



- En general no es necesario tener un buen conocimiento en la distribución ecográfica y precisión en la identificación taxonómica del organismo, por que puede ser hecho como un estudio después en un museo o herbario. (3)

## **Desventajas**

- El proceso de biodiversidad es más caro que otro, porque incluye una gran cantidad de plantas.
- En la utilización de la alta taxonomía diversa es preferible una revisión bibliográfica para la preselección. Este tipo de documentación e información no se encuentra disponible en algunos países.
- De un 65% - 75% de las especies vegetales son indígenas de selvas tropicales, por la distancia y extensión causadas por el desarrollo humano, no permite un mayor desenvolvimiento.
- El derecho a la biodiversidad como propiedad de un pueblo dificulta la obtención de las especies.



## **2. Morfología de las Bacterias.**

Los microorganismos de tipo patógenos producen una serie de infecciones y enfermedades, tanto en los seres humanos como en los animales, las cuales varían desde infecciones leves hasta letales, por ejemplo, salmonellosis, cólera, meningitis, sepsis, Gastroenteritis, etcétera. (4)

Los microorganismos se clasifican en Gram positivos y Gram negativos. En las bacterias Gram positivas se encuentran las que provocan supuraciones, infecciones en la piel y mucosa, como es el caso del Staphylococcus. Las bacterias Gram negativas pueden producir enfermedades tales como; tifoidea, salmonellosis, infecciones intestinales, como es el caso de la bacteria Escherichia coli, salmonella o Klebsiella. (4)

Las diferencias que se manifiestan entre las bacterias dependen de su forma; hay tres tipos morfológicamente distintas:

- Formas esféricas o de cocos.
- Formas alargadas o de bacilos.
- Formas espirales, espirilos y espiroquetas.

## **3. Factores ambientales que afectan el crecimiento de microorganismos en los medios de cultivos.**

- ❖ Cantidad de nutrientes requeridos para el cultivo.
- ❖ Temperatura y Aeración.
- ❖ Calidad de Agar.
- ❖ Fuente de Energía (carbono y nitrógeno específica para el microorganismo). (21, 22)
- ❖ pH



❖ **3.1 Cantidad de nutrientes requeridos para el cultivo.**

Los medios de cultivo que se utilizan para el crecimiento (cultivo), de microorganismos deben contener todos los nutrientes requeridos y necesarios.

Hay factores que deben ser controlados cuidadosamente tales como: Temperatura, Aeración, y otros.

❖ **3.2 Temperatura y Aeración.**

La temperatura es un factor muy importante en el crecimiento de los microorganismos, por que muchas especies microbianas varían ampliamente en la temperatura óptima para su desarrollo:

- La forma **Psicrófila** crece mejor a temperatura baja entre 15 – 20 ° C.
- La forma **Mesófilas** lo hacen entre 30 – 37 ° C.
- Las **Termófilas** lo hacen a 50 – 60 ° C (la mayor parte).

La temperatura extrema inhibe el crecimiento de microorganismo por lo que son bien utilizados para esterilizar las preparaciones, el frío extremo igualmente inhiben el crecimiento de las células bacterianas aunque su utilización no es seguro para la esterilización.

❖ **3.3 Calidad del Agar**

Estas soluciones son polisacáridos que se extraen de las algas marinas y son particularmente adecuadas para el cultivo microbiano, porque reviste la acción microbiana, generalmente se disuelven a 100° C, pero forman gel hasta que se enfría por debajo de 45° C.

❖ **3.4 Fuente de Energía**

Para muchos microorganismos un solo compuesto puede servir como fuente de energía, hay otros que requieren de compuestos diferentes. Si los materiales para los medios no sintéticos son deficientes en un medio determinado, tales medios deben de ser complementarios o bien se deben de preparar medios completamente sintéticos en los cuales las características y las concentraciones exactas de cada ingrediente sean conocidas.



### ❖ 3.5 pH

Es muy importante considerar el pH óptimo para el crecimiento de los microorganismos de cada especie, casi todos los microorganismos neutrófilos crecen mejor a un pH de 6-8; aunque algunos acidófilos tienen un pH óptimo de 3 y los alcalófilos de 10.5. (21, 22)

## **4. *Pseudomona aeruginosa***

### **CARACTERÍSTICAS**

Son bacilos Gram negativos dotados de motilidad y aeróbicos, móvil mediante un flagelo polar que mide casi  $0.6 \times 2 \mu\text{m}$  y se le encuentra como bacteria única, en pares y ocasionalmente en cadenas cortas. Crece bien a temperatura de 37-42° C. (5)

Algunos de los cuales producen pigmentos hidrosolubles. Se distribuyen ampliamente en el suelo, agua, plantas y animales, capaz de utilizar una amplia variedad de fuentes de carbono y energía y de crecer a temperatura muy diferentes, no crece en condiciones anaeróbicas (excepto cuando se proporciona nitrato como sector terminal de electrones). (5,6)

### **IDENTIFICACION DE LABORATORIO**

Crece con facilidad en medios habituales, incluidos medios selectivos que contienen bilis. Produce colonias iridiscentes irregulares y un olor característico. La mayor parte de las cepas producen un pigmento azul verdoso (piocianina; sólo en *P.aeruginosa*) y un pigmento amarillo verdoso (pioverdina). Algunas cepas producen pigmentos rojo oscuro (piorrubina) o el pigmento negro (piomelanina). La producción de pigmento se potencia en los medios especiales (A y B de king). Oxidasa positiva y oxidativa en la prueba de hugh y liefson. (6)

### **ENFERMEDADES**

*P. aeruginosa* es un agente patógeno oportunista que puede infectar a casi a cualquier zona del cuerpo si existe la condición predisponente adecuada. Infecta la piel y las quemaduras, es un agente patógeno pulmonar importante en la fibrosis quística y puede causar neumonía en pacientes intubados. Cuando se introduce por punción lumbar causa meningitis, e infección del aparato urinario cuando la vía de entrada son catéteres, instrumentos o soluciones irrigantes, septicemia, osteomielitis. (6)



## **TRANSMISION**

Forma parte de la flora intestinal normal en un pequeño porcentaje de personas sanas y con mayor frecuencia en pacientes hospitalizados. De este modo, puede producirse una infección endógena en pacientes inmunodeprimidos. *P.aeruginosa* está ampliamente distribuido en áreas húmedas del ambiente; los pacientes suelen infectarse por contacto directo o indirecto, a partir de zonas contaminadas del ambiente. (6)

## **5. *Escherichia coli***

### **CARACTERISTICA**

Son bacilos Gram negativos dotados de motilidad por flagelos peritricos o carentes de motilidad; crecen en condiciones aerobias y anaerobias (son anaerobios facultativos); tolera la bilis; fermentan la glucosa en vez de oxidarla y con frecuencia producen gas; capaz de crecer a 44° C. (5,6)

### **IDENTIFICACION DE LABORATORIO**

*Forman colonias lisas, circulares, convexas, con bordes bien diferenciados. Crece con facilidad en los medios de laboratorios habituales y en medios selectivos que contienen bilis. Fermenta la lactosa. Disponemos de un juego de reactivos para su identificación completa.* (6)

### **ENFERMEDADES**

Infección de la vía urinaria; enfermedades diarreicas; meningitis del recién nacido; septicemia. (6)

### **TRANSMISION**

El hábitat normal es el intestino del hombre y los animales; puede colonizar la porción inferior de la uretra y la vagina. Se transmite por contacto y por ingestión (vía fecal – oral); puede asociarse a alimentos; puede ser endógena. Posee los antígenos O (somáticos), H (flagelar), K (capsular) y F (fímbrico), que pueden utilizarse para caracterizar las cepas mediante serotipificación. También está disponible la tipificación con colicina (bacteriocina). (6)



## **6. *Staphylococcus aureus***

### **CARACTERISTICAS**

Son coco Gram positivos; células en grupos (lo que refleja la capacidad de dividirse en más de un plano); células individuales de alrededor de 1µm de diámetro. Algunas cepas producen cápsulas. No son sensibles; capaces de respiración aeróbicas y anaeróbicas; están desprovistos de motilidad y no forman esporas, bajo la influencia de fármacos como la penicilina, los *Staphylococcus* sufren lisis, crecen con facilidad sobre casi todos los medios bacteriológicos en condiciones aerobias o microaerofílicas. Crecen con mayor rapidez a 37° C, pero el pigmento se forma mejor a temperatura ambiente (20 – 25° C). Sobre medios sólidos las colonias son redondas, lisas, prominentes y brillantes de color gris o amarillo dorado intenso. (5,6)

### **IDENTIFICACION DE LABORATORIO**

Colonias blancas o doradas en Agar sangre. Catalasa positivo, coagulasa positivo. La mayor parte de las cepas fermenta el manitol de forma anaerobia. Se dispone de juegos de reactivos para la caracterización bioquímica. (6)

### **ENFERMEDADES**

Forúnculos. Sepsis cutánea. Infección de heridas postoperatorias; síndrome de la piel escaldada; infección asociada al catéter; infección transmitida por alimentos; septicemia, endocarditis; síndrome del shock tóxico; osteomielitis; neumonía. (6)

### **TRANSMISION**

Hábitat normal: seres humanos (y animales asociados con ellos); piel, especialmente en la nariz y el perineo (muchos portadores entre los pacientes y el personal del hospital). La transmisión es por contacto y vía aérea. El microorganismo sobrevive a la desecación; tolera sales y nitritos. (6)





## ***7. Staphylococcus epidermides.***

### **CARACTERISTICAS**

Son cocos Gram positivos; células en grupos (lo que refleja la capacidad de dividirse en más de un plano); células individuales de alrededor de 1µm de diámetro. Algunas cepas producen cápsulas. No son sensibles; capaces de respiración aeróbica y anaeróbica. Están desprovistos de motilidad y no forman esporas. Bajo la influencia de fármacos como la penicilina, los Staphylococcus sufren lisis; crecen con facilidad sobre casi todos los medios bacteriológicos en condiciones aerobias o microaerofílicas. Crecen con mayor rapidez a 37° C, pero el pigmento se forma mejor a temperatura ambiente (20 – 25° C). Sobre medios sólidos las colonias son redondas, lisas, prominentes y brillantes y son de color gris o blanco. (5,6)

### **IDENTIFICACION DE LABORATORIO**

Colonias blancas en Agar sangre; Catalasa positivo, coagulasa negativo; no fermentan manitol en condiciones anaerobias. Se dispone de juego de reactivos para caracterización de bioquímica. (6)

### **ENFERMEDADES**

Agente patógeno oportunista asociado a sepsis relacionada con dispositivo (p.ej. sepsis relacionada con el catéter; endocarditis de válvula protésica; infección de articulaciones artificiales; infecciones de derivaciones); infección de la vía urinaria; osteomielitis de la herida esternal. (6)

### **TRANSMISION**

Hábitat normal: piel (frecuencia de portador de alrededor del 100%). Transmisión por contacto consigo mismo o con otro paciente o el personal del hospital. Casi todas las infecciones adquiridas en el hospital, pero puede ser endógena. Sobrevive a la disecación. Tolerancia a la sal. (6)



## **8. *Shigella flexneri***

### **CARACTERISTICAS**

Bacilos gramnegativo delgado, son anaerobio facultativo, pero crecen mejor en condiciones aerobia inmóviles no encapsulado capaces de respiración aerobia y anaerobia. (5,6)

### **IDENTIFICACIÓN DE LABORATORIO**

No delicados, toleran la bilis. No fermentan la lactosa, pero sí la glucosa. Forman ácido a partir de carbohidratos, pero pocas veces producen gas. La identificación completa exige el uso de pruebas bioquímicas y Serológicas frente a los antígenos O. (6)

### **ENFERMEDADES**

Disentería bacilar. Muy raramente invasiva.(6)

### **TRANSMISIÓN**

Los agentes patógenos humanos se transmiten por vía fecal - oral de una persona a otra ocurriendo la mayor parte en niños menores de 10 años de edad. (6)

## **9. *Klebsiella pneumoniae***

### **CARACTERÍSTICA**

Bacilos gramnegativo, a veces encapsulados, poca exigencia en el crecimiento. Capaces de respiración aeróbica y anaeróbica.(5,6)

### **IDENTIFICACIÓN EN LE LABORATORIO**

Microorganismos que fermentan la lactosa y toleran la bilis. Crecen fácilmente en medio de laboratorio habitual. Oxidasa negativo. La identificación completa se basa en reacciones bioquímicas.(6)



## **ENFERMEDADES**

Infecciones oportunistas en el huésped inmunodeprimidos (en paciente habitualmente hospitalizados). Los lugares más frecuentes de infección son las vías urinarias y respiratorias. (6)

### **Transmisión**

Inanimados el habita normal es el intestino del hombre y los animales y los ambiente húmedos, especialmente el suelo y el agua, la infección puede ser endógena o adquirirse por contacto. Tienen una capacidad notable de sobrevivir en las manos. (6)

### ***10. Salmonella typhimurium***

## **CARACTERÍSTICA**

Bacilos gramnegativo, móviles, que no forman esporas. Carecen de cápsulas capaces de respiración aeróbica y anaeróbica. (5,6)

## **IDENTIFICACIÓN DE LABORATORIO**

Tolera la bilis. No es delicado. Oxidativo negativo. No fermenta la lactosa. Crecen rápidamente sobre medios simple, forman ácido y a veces gas a partir de glucosa y manosa. Sobreviven sobre aguas congeladas durante periodos prolongados. Son resistentes a sustancias químicas (verde brillante, tetrionato de sodio).

## **ENFERMEDADES**

Son patógenas para humanos o animales cuando se adquiere por vía oral. Por lo general producen una enfermedad diarreica de forma muy ocasional invasivos y producto de esto causa enteritis, infección sistémica y fiebre entérica.

## **TRANSMISIÓN**

Ampliamente distribuido en animales; se encuentra en la cadena alimentaria (especialmente carne de pollo, huevos, carne, leche, nata). Se adquiere mediante la ingestión de alimentos contaminados o de persona a persona vía fecal – oral.



## **11. Métodos Microbiológicos**

Existen sustancias de origen natural, cuya actividad biológica no puede ser determinada por sus propiedades químicas o fisicoquímicas. En ese caso, para evaluar la actividad o potencia se emplean métodos de dosificación biológicas. En ellos se comparan cuantitativamente el efecto de una muestra sobre un sistema biológico con el efecto producido por una preparación estándar en las mismas condiciones. Se obtiene así un valor de potencia relativo a un estándar de referencia. (7)

### **11.1 Dosificación Microbiológica de Antibióticos**

Antibiótico es una sustancia producida por un microorganismo, u otra sustancia similar producida total o parcialmente por síntesis, que a bajas concentraciones es capaz de matar o inhibir el crecimiento de otros microorganismos. (7)

### **11.2 Métodos de dosificación**

#### **➤ 11.2.1 Turbidimétrico o ensayo en tubo**

Se basa en la incubación de un medio de cultivo líquido inoculado con un microorganismo sensible al antibiótico en presencia de una concentración conocida del agente antimicrobiano. Luego de un tiempo adecuado se detiene el crecimiento y se evalúa el mismo por medidas turbidimétricas. La base cuantitativa del ensayo es la relación entre la concentración del antibiótico y la densidad óptica del medio de cultivo crecido. (7)

#### **➤ 11.2.2 Difusión de placa**

Se basa en la difusión radial de una solución de antibiótico desde un reservorio a través de una capa del Agar que ha sido inoculada con un microorganismo sensible al antibiótico. Se coloca cantidades medidas de la sustancia a ensayar en placas con medio de cultivo sólido inoculado con un microorganismo adecuado. Las placas se incuban para permitir el desarrollo del microorganismo. La respuesta obtenida es una zona clara (halo) de inhibición del crecimiento en torno al reservorio. La base cuantitativa del ensayo es la relación entre el diámetro de las zonas de inhibición y la concentración del antibiótico. (7)



### ➤ 11.2.3 Método de Dilución en Caldo

Se coloca concentraciones decrecientes del agente antimicrobiano, generalmente diluciones 1:2, en tubos con un caldo de cultivo que sostendrá el desarrollo de microorganismo.

Los agentes antimicrobianos se preparan en “**soluciones madre**” concentrada y luego se diluyen en caldo hasta obtener las concentraciones apropiadas. Un tubo de caldo se mantiene sin inocular como control negativo de crecimiento, luego de la incubación adecuada se observa la turbidez de los tubos que indicara desarrollo bacteriano.

El microorganismo crecerá en el tubo control y en todos los otros que no contengan suficiente agente antimicrobiano como para inhibir su desarrollo. La concentración del antibiótico que presenta ausencia de crecimiento, detectada por falta de turbidez igualando al control negativo, se designa como la **concentración Mínima Inhibitoria**. (8)

### ➤ 11.2.4 Método de Kirby-Bauer

*La prueba de susceptibilidad en Agar (Antibiograma), fue creada para estimar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y esta valorada por métodos estandarizados y consiste en la difusión de los antibióticos desde un disco a medio en lo que se ha inoculado una suspensión estandarizados de bacterias.*(9)

La prueba de Kirby-Bauer ha sido aceptada como la técnica estándar para la realización de la prueba de sensibilidad por difusión con disco y en la mayoría de los casos brinda información útil. La prueba solo debiera aplicarse a especies bacterianas que han sido cuidadosamente evaluadas. Las bacterias que crecen con lentitud, las que necesitan nutrientes especiales, o las que requieren CO<sub>2</sub> o condiciones anaerobias para su desarrollo no deben probarse, a menos que la validez del procedimiento haya sido comprobada. (9)

## 12. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

La concentración mínima inhibitoria (CMI), para una cepa determinada, es la menor concentración de antibiótico en la cual no hay crecimiento tras su incubación. La forma adecuada de expresar CMI correspondiente a un gran número de aislamiento consiste en expresar los resultados obtenidos refiriéndose al 50% CMI<sub>50</sub> y 90% CMI<sub>90</sub> de las cepas ensayadas. (11)



La CMI se suele interpretar mediante un sistema cualitativo de cuatro criterios. Estos criterios tienen en cuenta la sensibilidad propia de cada microorganismo, a los distintos fármacos, la dosis utilizada, la localización del foco de infección y la toxicidad del fármaco.

- **Sensible;** cuando el microorganismo infectante es inhibido por la concentración que un determinado antibiótico alcanza en los tejidos cuando se administran las dosis usuales.
- **Medianamente Sensibles;** si el microorganismo infectante solo es inhibido por la concentración que el antibiótico alcanza en la sangre o en los tejidos cuando se administra la mayor dosis posible del mismo.
- **Resistente;** si el microorganismo no resulta afectado por la concentración que normalmente se alcanza en el organismo, y son tolerada por él.
- **Condicionamente Sensible;** si el microorganismo produce infección en aquellos lugares del organismo en los que la concentración del antibiótico en los tejidos son muy superiores a las concentraciones que se alcanza en casi todos los demás lugares. (11)



## **13. Principales Métodos de Extracción empleados en Drogas de Origen Vegetales.**

Dependiendo de la parte de la planta (raíz, hojas, flores) a utilizar, existen formas preferentes de uso, que recogen y se conservan en mayor grado sus principios activos.

### **13.1 Maceración.**

Consiste sencillamente en remojar la droga o sustancia, debidamente fragmentado, hasta que ésta penetre muy bien en la estructura celular y se disuelva las porciones solubles.

Se pone la droga en un frasco con el disolvente, se tapa bien y se agita de vez en cuando por un periodo de 2 – 14 días; luego se descarta el líquido, se exprime el residuo para evitar pérdida y se filtran los líquidos mezclados.

El proceso consiste en poner en contacto la droga y el solvente durante varios días. Se trata de un proceso que da como resultado un equilibrio de concentración entre la droga y el solvente y depende de factores que están unidos a la droga, como por ejemplo su naturaleza, el tamaño de partícula, su contenido de humedad y cantidad de factores que están relacionados con el solvente como por ejemplo la selectividad y la cantidad del rendimiento del extracto disminuye cuando la relación droga/solvente aumenta. El hinchamiento de la droga es factor importante porque aumenta la permeabilidad de la pared celular.

### **13.2 Lixiviación**

Es la operación en la cual un polvo depositado en un receptáculo especial es privado de sus componentes mediante el descenso de algún disolvente que pasa por él.

### **13.3 Digestión.**

Es una forma de maceración que consiste en aplicar calor moderado a la sustancia que está siendo tratada. Se ejecuta en aquellos casos en que no perjudica las temperaturas moderadamente altas y acrecentado el poder disolvente.



### **13.4 Infusión.**

Son preparados líquidos de extracción de sustancias vegetales con agua caliente o fría. Sobre la droga se vierte agua hirviendo y se deja acentar la mixtura en un asa cerrada hasta que se enfría.

### **13.5 Decocción o cocimiento.**

Son preparados líquidos que se confeccionan hirviendo, con agua sustancias vegetales.

### **13.6 Maceración Acelerada.**

Es la misma técnica tradicional de la maceración empleada en algunos laboratorios de extracción de compuestos naturales, con la diferencia de que se toma en cuenta algunos parámetros para agilizar dicha operación siendo esto: temperatura de 45°C- 50°C tiempo de 30 minutos una vez alcanzada dicha temperatura y agitación constante.

### **13.7 Concentración**

La concentración representa la etapa siguiente al proceso de extracción. El proceso de concentración busca aumentar el contenido de sólido en el extracto con la finalidad de:

- a) Alcanzar un determinado contenido de residuo seco.
- b) Fabricar extractos blancos.
- c) Etapa preliminar a la producción del extracto seco.

## **14. Extracto**

Se hace para obtener un concentrado de principios activos. Existen extractos secos y líquidos. Los secos se usan para elaborar pastillas, pastas.

Es la preparación de una planta que se disuelve normalmente con agua, se realiza una evaporación del líquido excedente, o se hacen extracciones repetidas del mismo líquido hasta que se obtiene la concentración precisa. En los extractos sólidos o secos se hace una evaporación total del extracto o tintura. En los extractos se pueden producir pérdidas de aceites volátiles. Su fuerza se establece como, que cada gramo de la hierba seca equivale al centímetro cúbico del líquido (extracto).





Los comerciantes de extracto suelen añadir aceites esenciales de las plantas para conseguir el máximo de actividad terapéutica. Se suelen mezclar con glicerina para ser administrados por vía oral. Para obtener los distintos preparados, se puede elegir entre los siguientes extractos:

### **De Menor Concentración que la Droga**

Obtenidos a temperatura ambiente: Tinturas; Obtenidos por maceración: Maceraciones; Obtenidos por infusión: Infusiones; Obtenidos por decocción: Cocimiento. Extractos líquidos o extractos fluidos glicerados.

### **De Igual Concentración que la Droga**

Extractos Fluidos.

### **De Mayor Concentración que la Droga**

Extractos blandos. Extractos firmes o pilulares. Extractos secos y aceites esenciales.

### **De Mayor o Igual Concentración que la Droga**

Extractos glicólicos. (12,13,14,14)

Las plantas medicinales se emplean individualmente o en mezclas, y pueden ser administradas de manera interna o externa. En alopatía se usan como infusiones, decocciones, o cocimiento, extractos fluidos, extractos secos, cápsulas, comprimidos, tinturas, polvos, jarabes o jaleas, vinos y licores, zumos; mientras que en homeopatía se usan como tinturas-madres (T.M.), y sucesivas diluciones desde 1DH a 30 CH, con las que impregnan los gránulos y glóbulos; y gotas, siendo estas últimas las más usadas.

### **Tintura Madre**

Son maceraciones de plantas frescas o secas en alcohol a partes iguales, o una parte de la planta y 5 de alcohol, o una de la planta y 20 de alcohol. Se guarda en un frasco oscuro, fresco durante un año. También se puede dejar la mezcla en reposo.

El alcohol ha de ser puro, no desnaturalizado, es decir de 95 grados.

Cómo obtener un litro de alcohol de distintas graduaciones:



20° 210 ml de alcohol de 95° y 790 ml de agua  
30° 310 ml de alcohol de 95° y 690 ml de agua  
40° 410 ml de alcohol de 95° y 590 ml de agua  
50° 510 ml de alcohol de 95° y 490 ml de agua  
60° 615 ml de alcohol de 95° y 385 ml de agua  
70° 720 ml de alcohol de 95° y 280 ml de agua  
80° 830 ml de alcohol de 95° y 170 ml de agua

Para tomarla se diluye en agua, administrarla antes de comer.  
Lógicamente las tinturas no deben ser consumidas por niños. (16)



## **15. Información Botánica de las Especies Evaluadas**

### **15.1 Nombre Científico: Insertia laevis**

**Familia** : Aracaceae  
**Nombre Común** : Información no disponible  
**Código** : 8314

### **Descripción Botánica**

Planta hasta 15mt de alto, cortamente pilosas a glabrescentes. Hojas elípticas, 15-60 cm de largo y 7-20cm de ancho, ápice acuminado, base obtusa a cuneada, papiáceas, a veces blanquecinas en el envés, nervios secundarios 15-22 pares; pecíolos 15-75cm de largo; estípulas interpeciolares, profundamente bilocadas hasta aparentemente libres, 7-15mm de largo. Inflorescencias 7-35cm de largo y 5-15cm de ancho, pedúnculo 2-6cm de largo, flores sésiles, limbo calicino hasta 1mm de largo, 5-6 lobado, corola externamente pubérula a glabrescente, blanca, tubo 30-55mm de largo, labos ligulados, 10-14mm de largo, frutos abayados, elipsoide a subglobosos, 8-12mm de diámetro, carnosos. Poco común en bosques húmedos, zona atlántica, 50-200m. (17)

**Usos Etmomédicos:** No hay información

**Composición Químico:** No hay información

**Actividad Biológica:** No hay información



**15.2 Nombre Científico:** Simira maxonii

**Nombre Común** : Iguatil Rojo

**Familia** : Rubiaceae

**Código** : 8321

**Descripción Botánica**

Arbusto a árboles hasta 20mt de alto, glabrescentes, plantas hermafroditas. Hojas opuestas elípticas o abovadas o rómbicas, 20-50cm de largo y 18-32cm de ancho, ápice acuminado, base truncada, cortáceas, raras veces pinnatificadas, nervios secundarios de 12-18 pares, a veces con domacios, pecíolos de 5-15mm de largo; estípulas interpeciolares, triangulares, de 2-4mm de largo, acuminadas, caducas. Inflorescencias terminales, cimosas, 6-22cm de largo y 7-18cm de ancho, pedúnculos 0-5cm de largo, pedicelos 0-3mm de largo, con brácteas reducidas, flores homostilas; limbo calicino 1-2mm de largo, 5-lobado; corola infundibuliforme a campanulada, crema o amarilla verdosa, tubo 4-5mm de largo, lobos 5, 2-3mm de largo, imbricados ovario 2-locular, óvulos numerosos por lóculos. Frutos cápsulas loculicidas, subglobosas 3-4cm de diámetro, leñosa semillas 12-25mm de largo, aplanada con un ala membranacea.

Ocasional en bosques húmedos, zona atlántica; 10-200m; Cuando se corta la madera se oxida a un color púrpura a morado muy característico; las muestras herborizadas frecuentemente se oxida. Genero neotropical con unas 30 especies "Iguatil rojo". (17)

**Usos Etmomédicos:** Información no disponible

**Composición Química:** Información no disponible

**Actividad Biológica:** Información no disponible



**15.3 Nombre Científico: Anthurium clavigerum**

**Nombre Común : Mano de león, Curso de mono, Camaleón**

**Familia : Aracaceae**

**Código : 8229**

**Descripción Botánica**

Trepadoras epífitas aplicadas, frecuentemente masivas; tallos hasta 2m de largo, entrenudos cortos, 3-4cm de diámetro; carofilos deciduos. Hojas patentes erectas, digitados – discordes a reniformes, hasta 2m de ancho, foliolos 25-100cm de largo o más largos y 4-12cm de ancho, sinuados o lobados, acuminados en el ápice, agudos en la base; pecíolos 65-150cm de largo, o débilmente surcados. Inflorescencias arqueado – péndulas, pedúnculo hasta 90cm de largo; espata lanceolada, 25-65cm de largo y 3-11cm de ancho, coreáceas, morado; espoidice largamente ahusada, 20-75cm de largo y hasta 20mm de diámetro, obvia a ligeramente agudo en el ápice, lila – morado. Baya abovadas, moradas. Común en bosques siempre verdes, en las zonas atlántica y norcentral; 0-1100m;

**Usos Etmomédicos:** Información no disponible

**Composición Química:** Información no disponible

**Actividad Biológica:** Información no disponible



**15.4 Nombre Científico:** Rhynchospora corymbosa  
**Nombre Común :** Información no Disponible.  
**Familia :** Cyperaceae  
**Código :** 8227

### **Descripción Botánica**

Perennes, cespitosas, robustas, lisas; colmos triquetros, erectos, 60-150cm de alto, con bases foliosas. Hojas con láminas ascendentes, 30-70cm de largo y 5-15mm de ancho, planas, atenuadas, márgenes y nervios ásperos. Inflorescencias una serie de corimbos anchos, erectos – pedunculados, con brácteas foliáceas, compuestos de fascículos difusamente ramificados turbinados a hemisféricos bractéolas setáceas cortas; espiquillas 5-7, fusiformes, 6-8mm de largo, rojo a cafés; escamas fértiles elípticas, 5mm de largo, aguda, mucronulada; estilo entero. Frutos irregularmente biconvexos, obovoides, 2.5-3mm de largo, gruesamente nudoso – rugoso, transversalmente finamente rugulado, café, tubérculo cónico tubulado, bisulcado, cubriendo completamente el cuerpo del fruto; cuerdas del perianto alcanzando la base del tubérculo frecuentemente en áreas pantanosas abiertas, en todo el país; 0-500m; trópico húmedo de ambos hemisferios. (17)

**Usos Etmomédicos:** Tratar dolor de muelas.

**Composición Química:** Información no disponible

**Actividad Biológica:** Información no disponible



**15.5 Nombre Científico: Vismia macrophylla**

**Nombre Común : Mataroncha**

**Familia : Clusiaceae**

**Código : 10254**

**Descripción Botánica**

Árboles o raramente arbustos, 2-12mt de alto, ramas ferrugíneos – tormentosas, glabrescentes. Hojas angostamente oblongas a lanceolada u ovadas, 10-40cm de largo y 6-16.5cm de ancho, ápice cortamente acuminado a apiculado, base profundamente cortada a casi redondeada, coreáceas, nervios laterales 12-31, nervadura reticulada y puntos glandulares conspicuos en el envés y visibles a través del indumento, este estrella a dendroide, denso a esparcido, ferrugíneo; pecíolos 1-2.5cm de largo. Tirsos terminales, piramidales, con 5-6 (-7) nudos, yemas cilíndricas a ovoides, flores heterostilas; sépalos 5-6mm de largo, densa a escasamente ferrugíneos a café oscuro pubescente por fuera, erectos en frutos; pétalos angostamente oblongos – lanceolados, 10-13mm de largo, 2-2.5mm de ancho, blancos a blanco – verdoso a crema, vitalmente con puntos glandulares violetas – morados; fascículos con calcio 2s estambres, (-6) 7-9mm de largo, (braquistilos), o de 5-6mm de largo (dilocostilos); fascículos estaminodial persistente; ovario Calcio 2.5mm de largo, estilos de 2.5-3.5mm de largo (braquistilos); 0.5-6mm de largo (dolicostilos). Frutos ampliamente ovoides, subglobosos a globosos, 1.2-1.4cm de largo y 1.1-1.3cm de ancho, verde a café o rojizo.

Común en pluvioselva y márgenes de bosques en la zona atlántica; 0-180 (-300m) Esta especie se reconoce fácilmente por las hojas angostas, multinervias con la superficie del envés visible entre los tricomas, las yemas florales angostas y las flores esterostilas con fascículos de estambres

*Persistentes (mata ronchas).*

**Usos Etmomédicos:** Información no disponible

**Composición Química:** Información no disponible

**Actividad Biológica:** Información no disponible



**15.6 Nombre Científico: Dipteryx oleífera**

**Nombre Común : Almendro**

**Familia : Fabaceae**

**Código : 8193**

**Descripción Botánica**

Árboles medianos a muy grandes, hasta 40m de alto, ligeramente fulcreos en la base. Hojas imparipinnadas, hasta calcio 40cm de largo; foliolos 24-30, opuestos o subopuestos, estipelas ausentes; raquis de 25-35cm de largo ampliamente alado y extendido por varios centímetros después del par distal de foliolos, peciolos 6-8cm de largo, marcadamente alados, estipulas diminutas, caducas; inflorescencias paniculadas, terminales, hasta 40cm de largo, ejes pubescentes, con numerosas flores morado-rosadas, muy vistosas; hipanto 8-10mm dentiformes diminutos, él más grande 8-16 (-20mm) de largo y de 3-4mm de ancho, punteado-glandulares, puberulentos por dentro; estandarte ampliamente obovado 6-10mm de largo y de 5-9mm de ancho, profundamente emarginados y finalmente mucronados en el seno, subsésil, alas y pétalos de la quilla oblongos 5-6.5mm de largo y de 3-5mm de ancho, subfalcados, auriculados; estambres 10, dimorfos, unos ligeramente más largos alternando con unos mas cortos, monodelfos, con los filamentos unidos calcio 2/3 de su longitud, alabros, anteras dimorfas calcio 0.5 y 0.7mm de largo, ovario falcado 1-ovalado, ligeramente comprimido lateralmente glabro, estigma truncado, terminal. Frutos drupáceos, elipsoides a ovoides, de 4-6cm de largo y calcio 3 cm de ancho, ápice y base redondeado a obtusos, oleaginosos, valvas de 6-8mm de grueso, endurecidas, dehiscentes después de caer al suelo; semilla 1; algo falcada, 3-3.5cm de largo y 1.2-1.5cm de ancho, con testa delgada, morado-café oscuro. (17)

Común, bosques muy húmedos, zona atlántica 0-300m; Él género contiene de 8 a 10 especies mas en Ameriza Tropical, especialmente en la Amazonia (almendros).

**Usos Etmomédicos:** Información no disponible

**Composición Química:** Información no disponible

**Actividad Biológica:** Información no disponible





## 16. Reactivos

### 16.1 Dimetil Sulfoxido (DMSO) (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> SO

#### Propiedades

Líquido higroscópico, incoloro, punto de ebullición 189° C, punto de fusión 18.5 ° C, densidad específica 1.01 (20/20° C), calor específico 0.7, punto de infama 95° C (vaso abierto), constante dieléctrica 48.9 (20° C), casi inodoro, ligero sabor amargo, miscible con agua, penetra completamente en la piel y otros tejidos, combustible, extremadamente poderoso, poderoso aprotico. (18)

**Solubilidad:** Soluble en agua, etanol, acetona, benceno, éter y cloroformo.

**Conservación:** Frascos color ámbar, bien cerrado. (18)

### 16.2 Cloruro de Sodio (NaCl)

#### Propiedades

Cristales anhidros, incoloro o polvo cristalino blanco, inalterable al aire. Los cristales contienen muchas veces agua de interposición, al calentarlo decrepitan. La sal funde a 800° C. próximamente se volatiliza a temperatura más alta. (19)

#### Solubilidad:

Agua a 15° C.....	2.8
Agua a 100° C.....	2.5
Glicerina.....	12
Alcohol absoluto.....	Insoluble
Alcohol a 95.....	Poco soluble

**Conservación:** Se conserva en frasco tapado. (19)



### **16.3 Sulfato de Gentamicina (es bactericida).**

#### **Origen:**

Es el sulfato de sustancias antibióticas producidas por el crecimiento de *Micronospora purpúrea*, contiene cuanto menos 590 mg/mg de Gentamicina, calculado con referencia a la sustancia seca.

Se utiliza como patrón en bioensayos antimicrobianos para evaluar actividad Gram negativa.

#### **Descripción:**

Soluble en agua, insoluble en alcohol, aceteno y benceno  
pH. 3.5 –5.5 en una solución acuosa que contenga 40mg gentamicina/ml de agua (20)

#### **Conservación**

En recipiente herméticamente cerrados.

Este antibiótico a menudos se utiliza en la terapéutica de infecciones microbianas graves, probadas ó que se sospecha son generadas por Gram negativos y en particular las causadas por *Pseudomona aeruginosa*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* y otras especies resistentes a antibióticos menos tóxicos, infecciones de vías urinarias, bacteremia, quemaduras infectadas, osteomielitis, neumonía, peritonitis, y otitis. (20)



# HIPOTESIS



En el presente estudio de 6 especies de plantas colectadas bajo el concepto de Biodiversidad en la Estación Biológica de Bartola – Río San Juan, se plantea que a todas las especies de plantas colectadas se le aplicara el ensayo de Actividad Antimicrobiana, proponiendo que dichas especies poseen actividad antimicrobiana ante microorganismos patógenos al determinarle su actividad a los extractos metanólicos preparados, orientándonos por el método de Mitcher.



# MATERIAL Y METODO



## **Diseño Metodológico**

**Tipo de Estudio.** Tipo experimental.

### **Area de Estudio.**

Se realizó en el Laboratorio de Microbiología y en el área de Productos Naturales del Departamento de Análisis de drogas, Tóxicos y Medicamentos de la Facultad de Ciencias Químicas, ubicada en el Complejo Docente de la Salud Campus Médico de la UNAN – León.

### **Población de Estudio.**

19 especies vegetales procedentes de la Biodiversidad Biológica, Bartola en el Departamento de Río San Juan.

**Unidad de Análisis.** Hojas procedentes de las plantas.

### **Variable de Estudio.**

- Extractos Vegetales de las seis plantas.
- Concentración Mínima Inhibitoria.
- Actividad Antimicrobiana.

**Tabla No. 1**  
**Operacionalización de Variables.**

<b>VARIABLE</b>	<b>CONCEPTO</b>	<b>INDICADOR</b>
Extractos	Sustancia que en forma concentrada, se extrae de una mezcla sólida o líquida por medio de un disolvente.	
Concentración Mínima Inhibitoria	Es la menor concentración antibiótica en la cual no hay crecimiento tras su incubación.	<b>ATC – PTC</b>
Actividad Antimicrobiana	Proceso químico o biológico capaz de matar los microorganismos o inhibir su actividad.	<b>ATC – PTC</b>



### **Procedimiento.**

- Se corroboró la existencia de las 6 especies vegetales de la Biodiversidad.
- Se realizó revisión bibliográfica exhaustiva sobre estudios anteriores, en Internet, Biblioteca, Herbario etc.
- Se obtuvo 6 muestra de 2Kg de hoja cada una, el material se empacó en periódico y luego alcoholizado para ser secado e identificado posteriormente.

### **Preparación.**

Los vegetales correspondientes; posterior a su recolección fueron pulverizados utilizando un molino eléctrico (modelo No. 4 Laboratory Mill. Arthor H. Thomas company phyladelfia. USA).

El método de extracción utilizado es maceración simple.

### **Técnica empleada para la extracción.**

- Pesamos aproximadamente 500 gramos de muestra previamente pulverizada en beaker de 1000ml.
- Adicionamos un volúmen de etanol al 95% grado histológico, cantidad suficiente dependiendo de la voluminosidad de la muestra.
- El tiempo de maceración fue de 7 días a una temperatura ambiente.
- Posteriormente separamos el líquido del sólido, filtrando los líquidos mezclados.
- Concentramos los extractos etanólicos obtenidos, hasta sequedad a temperatura de 40°C para evitar la degradación de los componentes del extracto.
- Almacenamos los extractos concentrados en frascos de color ámbar y conservados bajo refrigeración para evitar la degradación.



## **Material y Equipo:**

En el desarrollo de la parte experimental se utilizamos equipos de laboratorio, dentro de estos están:

### **Cristalería**

- Beakers de vidrio pirex de 250, 500, 1000 ml
- Pipetas Serológicas de 1, 5, 10 ml
- Balones de 10, 25, 100 ml
- Placa Petri de vidrio pirex de 100 x 10mm
- Erlenmeyer de 250 ml

### **Equipo**

- Cocina: Marca Eyela Modelo ER-182A, serie No.4704233
- Refrigerador: Modelo D120 LRA
- Incubadora doble: Modelo 6M. Serie NC 9606-003. Catálogo NC31487 Temperatura 35-45°C máxima 65°C.
- Autoclave: Marca vernitron medical products.inc. modelo N°.8020 N°70795 temperatura 121°Cx15"
- Balanza Analítica: Marca AND. ER-182 A. SERIE 4704233
- Horno: GCA CORPORATION
- Mechero Marca fisher N°120121.
- Espectrofotómetro 20.Marca busch lomb. N°337172. Modelo 0617622E
- pH metro Marca corning. N°1992. Modelo 10Ph meter. T°100°C.
- Agitador Eléctrico Marca Vortex-Genie. Marca scientific industries, inc. N°29681. Modelo 8020.
- Molino: Cat: N°3375 E10. SER-N°800802.
- Mechero Busner
- Aparato Lector de zona de inhibición: FISCHER SCIENTIFIC MODELO 290 SERIAL: 60300012. Cat 7-906.

### **Equipo Metálico**

- Espátula
- Asa de Henle
- Gradillas Metálicas





### **Material de Laboratorio Descartables**

- Algodón
- Papel de Aluminio
- Aplicadores
- Guantes
- Nasobuco
- Gorro
- Gabacha
- Papel Filtro
- Marcadores

### **Reactivos:**

- Dimetil Sulfoxido
- Agua Destilada
- Solución Salina de Cloruro de Sodio 0.9%
- Agar TSC
- Sulfato de Gentamicina (Patrón)
- Extracto Metabólico de seis especies de plantas

### **Cepas ATCC:**

- *Pseudomona aeruginosa*
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermis*
- *Salmonella typhimurium*
- *Shigella flexneri*
- *Klebsiella pneumoniae*



## **VALORACIÓN EXHAUSTIVA DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA ORIENTADAS POR EL PROCEDIMIENTO DEL METODO DE MITCHER**

### **A. Cultivo de Microorganismo**

Después que preparamos, llenamos 6 tubos de ensayos con 9ml de agar aproximadamente, se autoclavan a 121°C por 15 minutos y se inclina sobre una superficie hasta que el agar se solidifique.

Para la inoculación de los tubos inclinados se necesitan cultivos frescos entre 18 y 24 horas de los microorganismos. Con una asa de inoculación estéril antes de cada aplicación, se transfieren una asada de microorganismos a cada tubo inclinado.

Con el fin de incrementar el área en el cual los microorganismos pueden crecer, el asa de inoculación se mueve en zig – zag a través de la superficie del agar, comenzando desde el fondo hacia arriba.

Los tubos se marcan con cuidado y se incuban a 37°C por 24 horas. Se hacen los pases sucesivos por 7 días para disminuir su patogenicidad. (Anexo. 1)

### **B. Preparación Stock de Sulfato de Gentamicina.**

Del patrón pesamos cuidadosamente 1g de sulfato de Gentamicina utilizando una balanza analítica y lo disolvimos en 3 ml de agua destilada estéril. El patrón no es soluble en dimetilsulfoxido por tanto, se usa agua.

Esta solución no se autoclava (contiene 330mg/ ml). Si se mantiene refrigerada la solución stock es estable por muchas semanas y la podemos usada repetidamente. Una proporción de esta solución (1 ml) se añade junto con 9 ml de agar estéril a un plato petri marcado. Resultando en una solución final de 330mg/ml. (Anexo. 2)

### **C. Preparación de los medios**

Disolvimos 23g de agar TSC en un litro de agua destilada. Esta cantidad es suficiente, aproximadamente, para 100 platos. Hervimos el agua y añadimos el agar, calentamos la suspensión hasta que logramos una solución clara. Luego, esta solución la transferimos a tubos con tapa (9.9 ml/tubo) y estos a beakers, posteriormente lo esterilizamos en un autoclave por 15 minutos a 121° C.



#### **D. Preparación de la solución Salina:**

Preparamos solución salina al 0.9%, la autoclavamos a 121° C por 15 minutos. La solución se puede mantener a temperatura ambiente por varias semanas. Es importante, que la misma se tape adecuadamente. (Anexo. 4)

#### **E. Preparación de los platos**

Después que autoclavamos el agar, dejamos enfriar aproximadamente a 45°C. asépticamente, añadimos 9.9 ml de agar a cada plato petri y 0.3 ml de la muestra correspondiente, agitamos suavemente la mezcla para homogenizarlo. El agar se deja solidificar y se mantiene a temperatura ambiente. Debe hacerse por triplicado para evitar errores en la lectura, por una mala maniobra. (Anexo.5)

#### **F. Preparación de la Suspensión de los Microorganismos:**

Todos los tubos de ensayos que contienen los microorganismos deben ser visiblemente turbios y con olor característico (en el caso de la *Escherichia coli*) con el fin de conseguir aproximadamente la misma velocidad de crecimiento de cada uno de los microorganismos; tomamos 2 o 3 asadas de microorganismos y se solubilizan en tubos que contengan solución salina estéril de cloruro de sodio 0.9%, luego se medimos en el espectronic hasta alcanzar 25% de Transmitancia. (Anexo. 6)

#### **G. Preparación de las muestras**

Pesamos con precisión 1g de extracto etanólico seco de cada muestra a evaluar y se disuelve en 3ml de Dimetil Sulfoxido estéril.

Tomamos una porción de 1ml de esta solución y la depositamos en un plato petri que contenga 9ml de agar Triptica Soya y Caseina (TSC) estéril. Agitamos suavemente y obtener una concentración final de 330mg/ml.

Cuando los extractos muestran actividad a este nivel, llevamos acabo el segundo experimento que consiste en la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).



Para el segundo experimento pesamos con exactitud 12g de extracto etanólico seco y se disuelve en 15ml de Dimetil Sulfoxido estéril agitando hasta solubilizar completamente la muestra. Para preparar la muestra a las diferentes concentraciones tomamos 4 platos petri por triplicado y marcamos cuidadosamente las diferentes concentraciones en cada uno (0.3, 0.26, 0.23, 0.2 g/ml). Colocamos en cada plato 9ml de agar Triptica Soya y Caseína y luego le agregamos los volúmenes de extractos combinados con Dimetil Sulfoxido para aforar el volumen de 1ml que se necesita para completar los 10ml y así alcanzar las concentraciones respectivas que se observan en la siguiente tabla. (Anexo. 7)

### Concentración Mínima Inhibitoria

La CMI fue realizada por triplicado con los extractos de las plantas en las cuales hubo inhibición de los microorganismos a una concentración de 330mg/ml.

**Tabla No. 2**

Código	Nombre de la planta	Concent.	Cant. DMSO	Cant. Agar
8229	<i>Anthurium clavigerum</i>	330 mg/ml	1ml	9ml
		300mg/ml	1ml	9ml
		260mg/ml	1ml	9ml
		230mg/ml	1ml	9ml
		200mg/ml	1ml	9ml
10254	<i>Vismia macrophylla</i>	330mg/ml	1ml	9ml
		300mg/ml	1ml	9ml
		260mg/ml	1ml	9ml
		230mg/ml	1ml	9ml
		200mg/ml	1ml	6ml



## **H. Rayado de los Microorganismos:**

Los platos los sacamos de la incubadora y se examinan. No deben tener contaminación visible; si la tienen, se desechan y se debe repetir su preparación con más cuidado en otra ocasión.

Humedecemos el aplicador con la suspensión de microorganismo y luego inoculamos los platos, mediante rayado horizontal con los microorganismos en estudio. Se incuban a 37° C por 24 y 48 horas.

Incubamos de forma inversa, para evitar que las gotas de agua condensada puedan caer sobre los microorganismos y afectar su crecimiento. Examinamos a las 24 y 48 horas. (Anexo. 8)



# RESULTADOS



En este estudio evaluamos la Actividad Antimicrobiana de 6 extractos metanólicos de plantas colectadas bajo el concepto de Biodiversidad de la Estación Biológica de Bartola – Río San Juan realizado con cepas de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*.

Tabla No. 3 Bioactividad de las seis especies vegetales evaluadas a las 24 horas, con *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*.

Tabla No. 3

Código N. Científico	8193 <i>Dypterix oleifera</i> Fabaceae	8227 <i>Rhymchospo corymbosa</i> Cyperaceae	8229 <i>Anthurium clavigerum</i> Aracaceae	8314 <i>Insertia laevis</i> Rubiaceae	8321 <i>Simira maxonii</i> Rubeaceae	10254 <i>Vismia macrophylla</i> Clusiaceae
Microorganismos	24 – 48 hr.	24 – 48 hr	24 – 48 hr	24 – 48 hr	24 – 48 hr	24 – 48 hr
<i>E. Coli</i>	PTC – PTC	PTC – PTC	PTC – PTC	PTC – PTC	PTC – PTC	<b>ATC</b> – PTC
<i>S. aureus</i>	PTC – PTC	PTC – PTC	ATC - ATC	PTC – PTC	PTC – PTC	ATC - ATC
<i>S. epidermidis</i>	PTC – PTC	PTC – PTC	PTC – PTC	PTC – PTC	PTC – PTC	ATC - ATC
<i>Sh. Flexneri</i>	PTC – PTC	PTC – PTC	<b>ATC</b> – PTC	PTC – PTC	PTC – PTC	PTC – PTC
<i>S. typhymurium</i>	PTC – PTC	PTC – PTC	ATC - ATC	PTC – PTC	PTC – PTC	ATC - ATC
<i>P. aeruginosa</i>	PTC – PTC	PTC – PTC	<b>ATC</b> – PTC	PTC – PTC	PTC – PTC	ATC - ATC
<i>K. pneumoniae</i>	PTC – PTC	PTC – PTC	ATC - ATC	PTC – PTC	PTC – PTC	PTC – PTC

**ATC:** Ausencia Total de Colonias

**PTC:** Presencia Total de Colonias



Tabla No. 4 Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de las dos especies que presentaron Actividad Antimicrobiana, ante cepas de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*.

Tabla No. 4

Cod.	Concentración.	S. aureus		S. epidermidis.		P. aeruginosa		S. typhimurium		K. pneumoniae		E. coli		Sh. Flexneri	
		24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
10254	330mg/ml	x	X	x	x	x	x	x	x	0	0	X	0	0	0
	300mg/ml	x	x	x	x	x	x	x	x	0	0	x	0	0	0
	260mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	230mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	200mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8229	330mg/ml	x	x	0	0	0	0	x	x	x	x	0	0	x	0
	300mg/ml	x	x	0	0	0	0	x	x	x	x	0	0	x	0
	260mg/ml	x	x	0	0	0	0	x	x	x	x	0	0	x	0
	230mg/ml	x	x	0	0	0	0	x	x	x	x	0	0	x	0
	200mg/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

PTC = 0: Presencia Total de Colonias

ATP = X: Ausencia total de Colonias

10254 : *Vismia macrophylla*

8229 : *Anthurium clavigerum*





# ANÁLISIS DE RESULTADOS

## **Análisis de Resultados**

*Posteriormente obtenidos los resultados del bioensayo de Actividad Antimicrobiana con las seis muestras vegetales, expuestos a los microorganismos Pseudomona aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Shigella flexneri, Klebsiella pneumoniae presentaron actividad biológica un total de dos especies : Anthurium Clavigerum perteneciente a la familia Aracaceae y Vismia macrophylla a la familia Clusiaceae, a una concentración de 330mg/ml y un intervalo de lectura de 24 y 48 horas, se tomó como actividad biológica total los extractos en cuyo plato de inoculación con dichos microorganismos Pseudomona aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Klebsiella pneumoniae, Salmonella typhimurium presentaron ausencia total de colonias en comparación con los resultados obtenidos del patrón (Sulfato de Gentamicina ) en el cual se observó ausencia total de crecimiento (ATC) y el blanco correspondiente en el cual hubo crecimiento normal de colonias.*

*La concentración mínima inhibitoria (CMI) de las dos especies biológicamente activas Vismia macrophylla y Anthurium Clavigerum fueron a concentraciones de 300 y 230mg/ml respectivamente.*

*Los resultados obtenidos en este estudio tienen gran significado científico para estudios posteriores, en los cuales se pueden realizar la separación e identificación de los componentes activos de estas especies vegetales y de esta forma obtener productos que pueden ser utilizados para tratar enfermedades infecciosas causadas por los microorganismos patógenos.*



# CONCLUSIONES



## **Conclusiones**

En el presente trabajo monográfico se evaluaron 6 especies de extractos metanólicos de las cuales 2 presentaron actividad antimicrobiana siendo estas *Vismia macrophylla* y *Anthurium clavigerum*.

Para el screening se utilizó el bioensayo de actividad antimicrobiana, orientados según el procedimiento del método de **Mitcher** con las muestras antes mencionadas en presencia de microorganismos (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *salmonella typhymurium*, *Shigella flexneri*), Encontrándose 2 especies con actividad biológica total las cuales son:

**Nombre Científico:** *Anthurium clavigerum*

**Familia:** Aracaceae

**Código:** 8229

**Actividad:** Ausencia total de colonias en *Stafhilococcus aureus*, *Salmonella typhymurium*, *Klebsiella pneumoniae*.

**Concentración:** 230mg/ml

**Nombre Científico:** *Vismia macrophylla*

**Familia:** Clusiaceae

**Código:** 10254

**Actividad:** Ausencia total de colonias en *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermides*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella typhymurium*.

**Concentración:** 300mg/ml

Estos valores con relación a este estudio tiene gran significado científico ya que se obtuvieron estas dos plantas con actividad antimicrobiana, que en estudios posteriores se puede realizar en ellas una separación de componentes activos para obtener productos que puedan ser utilizados para tratar enfermedades infecciosas causadas por los microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermides*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella typhymurium* y *Klebsiella pneumoniae*.



# RECOMENDACIONES



## **Recomendaciones**

- Continuar el estudio, para determinar el o los grupos funcionales presente en las especies de plantas que resultaron biológicamente activas para su posterior utilización con fines terapéuticos.
  
- Utilización de cepas de microorganismos ATCC, para garantizar la calidad del estudio y evitar así contaminación tanto del medio de trabajo; como de los investigadores.
  
- Garantizar la esterilidad de los medios de trabajo cristalería y otros instrumentos.



# BIBLIOGRAFIA



## **Bibliografía**

1. Mongelli, Caussio y Ciccía.  
Cátedra de Farmacognosia. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UBA.  
Buscando Nuevas Sustancias Naturales para el cáncer.  
Files:// A:\ensayos biológicos \en busca de anticancer.htm
2. Roig, Dr. Juan Thomas.  
E:E:P:M: Estación Experimental de Plantas Medicinales.[http:// www. Volátiles; cultivos Agrícolas/crecimiento & desarrollo](http://www.Volátiles; cultivos Agrícolas/crecimiento & desarrollo).
3. Robbins. R.L; Familia; Sapindaceae, en Flora de Nicaragua; Rueda, R; Universidad Nacional autónoma de León, Pág. 26.
4. [http://Danival.org/microclin/antibiot/antibiot\\_110\\_pruebasensi.htm](http://Danival.org/microclin/antibiot/antibiot_110_pruebasensi.htm).
5. Jawetz, Melnick y Adelberg  
Microbiología Médica  
Manual Moderno, México  
17<sup>va</sup> Edición.  
Paginas 243 – 250, 269- 274, 285 – 287.
6. Mims; Playfair Roitt Wakelin; Williams.  
Mosby  
Paginas 513, 514, 523, 524, 526, 527.
7. Dosificación microbiológica de Antibiótico  
<http://www.bilbo.edu.uy/~microbio/antibiotic.html>
8. Prueba de Sensibilidad Bacteriana en Vitro
9. Antibiograma. Servicio Técnico Veterinario.EXOPOL S.L.  
Pol Ind Río Gallega C/D No. 8 San Mateo de Gallego, 50840  
Zaragoza.
10. Ortiz, Mario Alberto.  
Introducción a los Mecanismos de Resistencia a los Antibióticos.





11. Arias Alzate, Pbro. Eugenio  
Libro de las Plantas Medicinales.  
Medicina Homeopática para el hogar  
Paginas 55, 59, 37, 38, 39, 40.
  
12. Sosa Gómez, Reinaldo  
El Poder de las Plantas.  
Paginas 22 – 25.
  
13. Salas Estradas, Juan Bautista.  
Árboles de Nicaragua. Selección de Ecología Forestal. Servicio Forestal Nacional. II Instituto Nicaragüense de Recursos Naturales y Ambientales (IRENA)
  
14. [http:// www. members. Fortunecity.es/natura2001/plmd/extractos.htm](http://www.members.Fortunecity.es/natura2001/plmd/extractos.htm)
  
15. [http://www.danival.org/microclin/antibiot/ madre\\_antibiot.html](http://www.danival.org/microclin/antibiot/ madre_antibiot.html)
  
16. Ulloa Carmen, Steven W.D, Pool Amy y Montiel Olga. Flora de Nicaragua. Introducción Gimnosperna y Angiosperna. Missouri Botanical Garden Press Vol. 85 Tomo I, II, III. Copyright 2001 by Missouri B.G.P.
  
17. Voight, Rudolf. Tratado de Tecnología Farmacéutica. 3<sup>ra</sup> Edición. Editorial Aeribia, España, 1992.
  
18. Herrera, Gloria María y Sotelo Chevéz Angélica. Evaluación de la actividad antimicrobiana en cepas de *Pseudomona aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* de 59 especies de plantas colectadas en la Biodiversidad Vegetal de las Estación Biológica Bartola Río San Juan. León Nicaragua Julio 1999



19. Guido Álvarez, Eduarda del Pilar; Hernández Mejía, María José; Nuñez Martínez, Kelvin José. Evaluación de la actividad antimicrobiana en 99 especies de plantas colectadas en la Biodiversidad Vegetal de las Estaciones Biológica Bartola Río San Juan y la Lupe – Río San Juan con cepas de Microorganismo *Shigella dysenteriae* y *Staphylococcus aureus*. León Nicaragua Mayo, 2000.
20. Harman, J; Limbar, Lee; Molinoff; P; Rerddon, R; and Goodman Gilman, Alfred; *Las Bases de la Farmacología de la Terapéutica*. Novena Edición; volumen II Pág. 184 – 186.



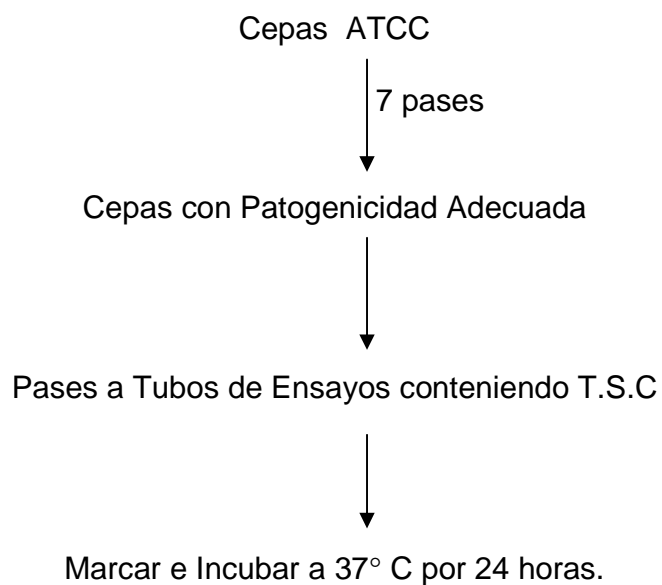
# ANEXOS



## **Anexo No. 1**

### **Esquema de Ensayo de Actividad Antimicrobiana.**

#### **A. Cultivo de Microorganismos.**





## **Anexos No.2**

### **B. Preparación Stock de Sulfato de Gentamicina**

Pesamos 1g de Sulfato de Gentamicina



Solubilizamos con 3ml de Agua Destilada



Se Obtiene una solución de 33g/100ml



Tomamos 1ml de esta Solución



Adicionamos a 9ml de agar T.S.C

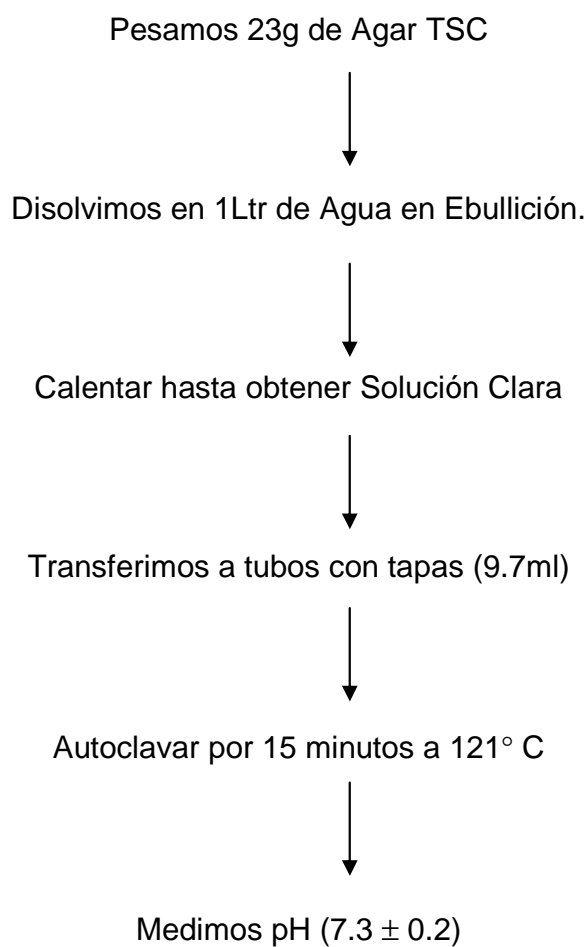


Se obtiene Concentración de 330mg/ml



### **Anexo No. 3**

#### **C. Preparación de los Medios**





## **Anexo No. 4**

### **D. Preparación de la solución salina de Cloruro de Sodio 0.9%**

Pesamos 0.9g de Cloruro de Sodio



Disolvimos en 100ml de Agua Destilada Estéril

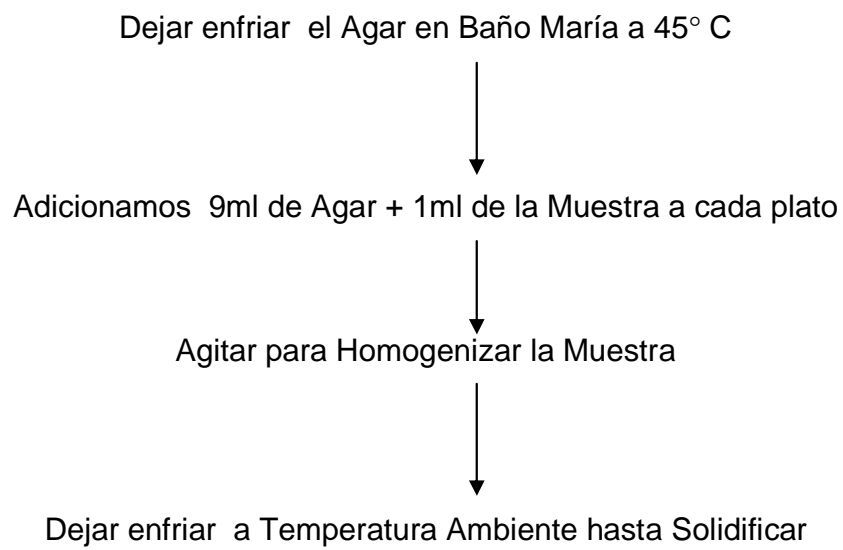


Autoclavar por 15 minutos a 121° C



## **Anexo No. 5**

### **E. Preparación de los Platos**







## **Anexo No. 6**

### **F. Preparación de las Suspensiones de Microorganismos**

Tomamos de 2- 3 asadas de Microorganismos preparados anteriormente



Adicionamos en tubos con Solución Salina al 0.9%



Agitar hasta Homogenizar la Suspensión

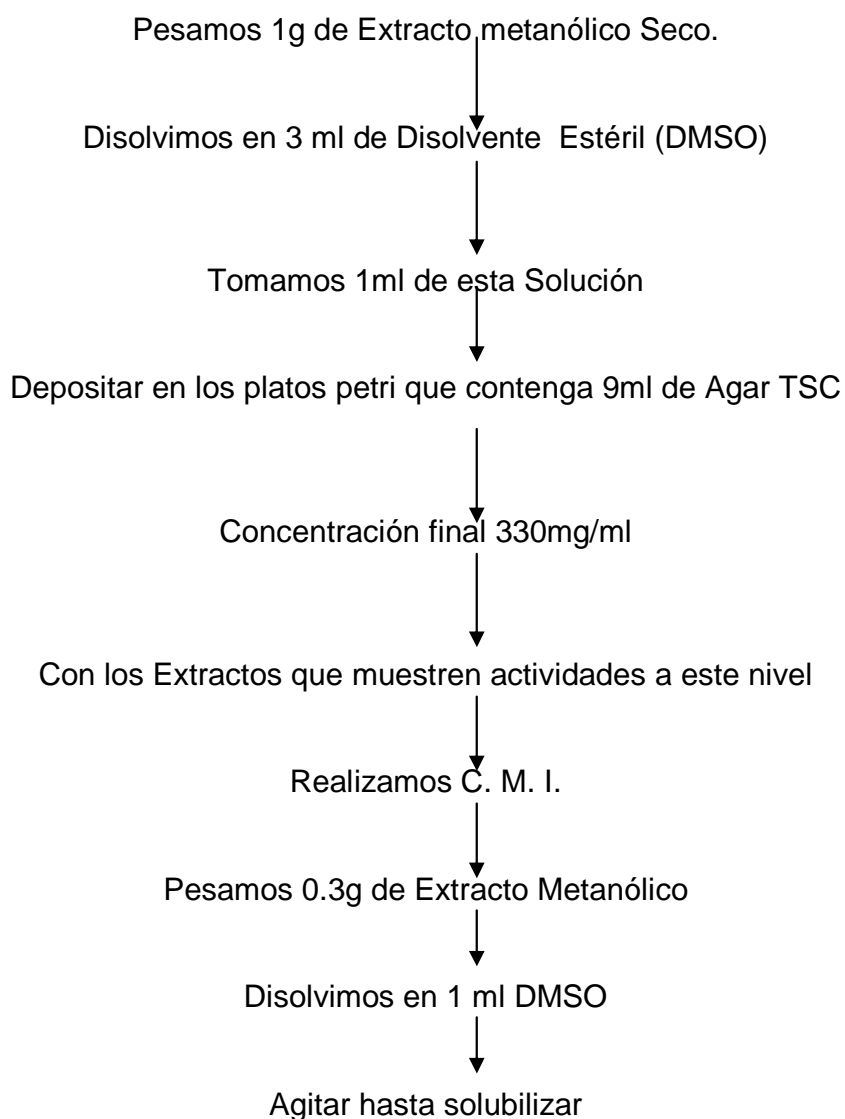


Medir en Espectrofotometro a 580 nm y 25% de Transmitancia para ajustar la Suspensión



## **Anexo No. 7**

### **G. Preparación de la Muestra**





## **Anexo No. 8**

### **H. Rayado de Microorganismo**

Con los platos Petri preparado en el inciso E.



Inoculamos con los M.D en Estudio



Incubamos a 37° C por 24 y 48 horas



A las 24 horas de haber incubado sacar los platos y examinar



Luego, a las 48 horas sacar los platos y examinar



Apuntar los resultados



# GLOSARIO



## **Glosario**

**Aerobio:** (de aero- + - bio), adj. Microorganismo que medran en presencia del oxígeno del aire.

**Agar:** polisacárido obtenido de *geledium* y otras algas marinas; utilizados como agente solidificante en los medios de cultivo.

**Agar Nutritivo:** Compuesto de alto peso molecular que forman soluciones acuosas, gelatinosas y se encuentra clasificado dentro del grupo de hidrocoloides vegetales naturales.

**Anaerobio:** ( del griego  $\alpha$ , n, p, aire, Bioac. Vida); microorganismos que son capaces de vivir sin la presencia del oxígeno libre.

**Antimicrobiano:** Agente químico o biológico capaz de matar los microorganismos o inhibir su actividad.

**ATCC:** Colección de cultivo tipo americano.

**Bacteria:** Un procarionto unicelular, un miembro de los esquizomicetos un hongos divididos.

**Cepa:** Grupo de microorganismos dentro de una especie o variedad, caracterizada por alguna cualidad especial.

**Enfermedad infecciosa:** Enfermedad causadas por gérmenes patógenos como bacterias, virus protozoarios u hongos, puede ser contagiosa, pero no es obligado.

**Gramnegativo:** Microorganismo bacteriano que es rápidamente decolorado con alcohol en la coloración de Gram y que absorbe luego el calor de la tinción de fondo.

**Microorganismo:** Un organismo tan pequeño que no puede verse directamente a simple vista, incluye; bacterias, virus, protozoarios, hongos y algas unicelulares.

**Patógeno:** Elementos y medios que originan y desarrollan las enfermedades.

**Epífitas:** Referente a los epífitos o propios de ellos; vida Epífita.



**Inflorescencia:** Todo sistema de ramificación que se resuelve en flores.

**Heterostilia:** Fenómeno en virtud del cual ciertas especies de plantas poseen 2 ó 3 clases de individuos cuyos estilos presentan diferente longitud al paso que varía también la de los estambres, o la altura de inserción de los mismos, si se trata de la clorofila.

**Pinnadas:** la hoja es pinnada cuando es pinnaticompuesta, en otros términos, cuando posee foliolos más o menos numerosos a ambos lados del raquis.

**Sésiles:** cualquier órgano o parte orgánica que carece de pie de soporte; una hoja sésil es la que esta desprovista de pecíolo, la flor sésil es la que carece de pedúnculo.

**Antibiótico:** Sustancia producida por un microorganismo, u otra sustancia similar producida total o parcialmente por síntesis, que a bajas concentraciones es capaz de matar o inhibir el crecimiento de otros microorganismos.

**Biológicas:** Se refiere a productos naturales, no tratados químicamente; productos biológicos.

**Infección:** Multiplicación de un agente infeccioso dentro del cuerpo. La multiplicación de bacterias que son partes de la flora normal de vías gastrointestinales, piel, etc. Por lo general no se considera una infección, por otra parte, la multiplicación de bacterias patógenas, aunque la persona permanezca asintomática se considera infección.

**Inhibición:** Restringir o refrenar.