

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA
UNAN - LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE FARMACIA**



Evaluación de la actividad antimicrobiana mediante el método de Mitscher en 20 muestras vegetales procedentes de la zona norte de Nicaragua, octubre 2017- abril 2018.

**MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Autores:

- Katherine Mercedes Abarca Martínez
- Kevin Antonio Castillo Hernández
- Lester Adolfo Fuentes Cantillo

TUTOR:

MSc. Gloria María Herrera

León, julio 2018

¡A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD!



AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradecemos este logro y toda nuestra carrera universitaria a Dios nuestro señor, amparo, fuerza y fuente de inspiración en nuestros momentos de debilidad, alegrías y tristezas a lo largo de este camino que hoy culmina.

A nuestros padres, quienes son los pilares más importantes de nuestras vidas, le agradecemos de todo corazón su amor, comprensión, consejos y sacrificios que forjaron nuestro futuro, por brindarnos una excelente educación a lo largo de este camino y que hicieron de nosotros unos profesionales, emprendedores de bien.

A nuestra alma mater UNAN-León, por permitirnos crecer en todos los aspectos como seres humanos y prepararnos como Químicos farmacéuticos.

A nuestra tutora MSc. Gloria Herrera, por su apoyo incondicional para la realización de este arduo trabajo que enmarca el último escalón hacia nuestro futuro, por brindarnos sus conocimientos, confianza y estima.

A Sra. Gladys Rojas, Sr. David Espinoza y a todos nuestros profesores, a quienes tenemos mucha estima y consideramos un ejemplo a seguir, se les agradece su disponibilidad, conocimientos y experiencias.

Katherine Abarca Martínez

Kevin Castillo Hernández

Lester Fuentes Cantillo





DEDICATORIAS

A Dios por darme la oportunidad de vivir cada día, por ser la fortaleza en momentos difíciles, por regalarme paciencia, perseverancia y estar presente en cada momento de mi vida.

A mis padres Manuel Abarca y Andrea Gallo, quienes me inspiran y me dieron la vida, por creer y haberme acompañado a lo largo de este camino, por ofrecerme su amor, bienestar y los finos deleites de la vida; a mi hermana Solange por ser un buen ejemplo que seguir, solo puedo decir “el logro es nuestro”.

A mis abuelitas, al resto de mi familia y amigos personales; en mi vida no podría sentirme mejor por la confianza puesta en mí.

A nuestra tutora MSc. Gloria María Herrera, por la confianza, su apoyo incondicional y tiempo invertido para la realización de este proyecto.

A todos los maestros en general y personas que directa o indirectamente colaboraron en nuestra formación personal y en el proceso para culminar esta tesis.

Katherine Abarca Martínez





A Dios.

Por haberme permitido recorrer este largo camino lleno de dificultades y de la mano de Él llegar hasta este punto y haberme dado salud, tolerancia y entendimiento para lograr mis objetivos; la honra y la gloria sea solamente para Él, señor todopoderoso fiel y dador de vida.

A mis abuelas.

A Marta Dolores Martínez por tanto amor que me ha brindado desde el momento que nací, por sus enseñanzas y su apoyo incondicional cuando más lo necesito. A María Antonia Solórzano por su apoyo y su cariño durante estos años.

A mis padres.

A mi madre María de Jesús Hernández Solórzano por haberme apoyado en todo momento durante mi preparación académica y por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor. A mi padre Rodrigo Antonio Castillo Martínez por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor

A mis maestros.

MSc. Gloria Herrera por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de esta tesis, por su apoyo ofrecido en este trabajo, por su tiempo compartido y por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional.

Kevin Antonio Castillo Hernández





Dedico esta tesis A:

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor en todo momento.

A mis Padres.

Irene Francisca Cantillo Paiz y William Adolfo Fuentes Balmaceda por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi hija.

Leslie Andrea Fuentes Sáenz, por ser el motor que me impulsa a seguir adelante, para cumplir mis objetivos de vida.

A mi mita.

Maria Elena Paiz Alvarado, por sus consejos, apoyo incondicional que me ha brindado desde que nací.

A mis maestros.

Por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales siempre de manera constante e incondicional.

MSc. Gloria Herrera, por su apoyo incondicional por su tiempo compartido y por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional.

Lester Adolfo Fuentes Cantillo





ÍNDICE

Contenido	Pág.
AGRADECIMIENTO	
DEDICATORIAS	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
III. OBJETIVOS	5
Objetivo General.....	5
Objetivos Específicos.....	5
IV. MARCO TEÓRICO	6
Método Mitscher	9
<i>Escherichia coli</i>	10
<i>Staphylococcus epidermides</i>	14
<i>Salmonella spp</i>	17
Monografía de las especies en estudio.....	22
V. DISEÑO METODOLÓGICO	46
VI. RESULTADOS	58
VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	62
VIII. CONCLUSIÓN	64
IX. RECOMENDACIONES	65
X. BIBLIOGRAFÍA	66
XI. ANEXOS.....	70





ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1: Abreviaturas y Glosario

ANEXO N° 2: Extracción del material vegetal

ANEXO N° 3: Esquema de preparación para diluciones del preservante natural

ANEXO N° 4: Disolvente del extracto DMSO

ANEXO N° 5: Esquema de preparación del control negativo de agua pura

ANEXO N° 6: Resultado del Estándar de Clorhidrato de Ciprofloxacina

ANEXO N° 7: Esquema de preparación de suspensión de microorganismos

ANEXO N° 8: esquema de preparación del medio Agar Digerido Caseína Soja

ANEXO N° 9: Plantillas para inoculación de microorganismos

ANEXO N° 10: Esterilización y Descontaminación





I. INTRODUCCIÓN

En la práctica de la medicina moderna es alarmante la generación de resistencia de los microorganismos a distintos antibióticos, esto crea la necesidad de encontrar nuevos compuestos que puedan actuar de forma directa sobre la actividad microbiana o inhibiendo los mecanismos de resistencia de los microorganismos, principalmente aquellos con importancia clínica. Las plantas medicinales representan una fuente muy importante para encontrar esta clase de compuestos.

Nicaragua es un país megadiverso, que conserva una gran cantidad de ecosistemas y especies de plantas vasculares de gran valor etnobotánico, por lo que el uso de plantas medicinales se ha consolidado como una alternativa viable en salud, pues contribuye de forma importante a la solución de problemas relacionados a ella (Mayorga, V., Gutiérrez, M., Rueda, R., 2007); pudiéndose utilizar de una misma planta las hojas, las flores, la raíz, el tallo, los frutos, además cada planta puede tener diferentes aplicaciones o propiedades curativas. (Botánica., 2009).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), reconoce y estimula el gran valor de las plantas medicinales en la atención primaria de millones de personas. Aunque muchos fármacos sintéticos han desplazado a las plantas, aun así, 30% de los medicamentos son obtenidos en forma directa o indirecta de los vegetales. Por ser plantas medicinales deben tener utilidad terapéutica, cabe destacar que, siendo sustancias biológicamente activas, con eficacia terapéutica, también poseen por extensión efectos tóxicos.

El Instituto Coreano de Investigación en Biociencia y Biotecnología (KRIBB) con sede en Corea del sur, en conjunto con la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua UNAN-León, se esfuerza por mejorar la salud pública y promover el desarrollo de la medicina natural con el fin de emprender futuras investigaciones esenciales y de esta manera aumentar nuestro conocimiento en el campo de la fitoterapia.



Hay una variedad de estudios relacionados a esta temática entre los que podemos mencionar:

Un estudio realizado en la Facultad de Ciencias Químicas de La UNAN-León sobre la "Evaluación de la actividad antimicrobiana en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* de 59 especies de plantas que fueron colectadas en la biodiversidad vegetal de la estación biológica Bartola-Río San Juan", concluyó que de las 59 especies estudiadas una especie mostró actividad antimicrobiana parcial (*Eugenia* sp. Familia *Myrtaceae*) y otra especie mostró actividad antimicrobiana total (*Talisia nervosa*, familia *Sapindaceae*) a través del bioensayo antimicrobiano de Mitscher (Herrera. G, Sotelo. A., 1999).

En el año 2000, se realizó otro estudio sobre la "Evaluación de la actividad antimicrobiana de 99 especies de plantas colectadas de la biodiversidad vegetal de las estaciones biológicas Bartola-San Juan y La Lupe-río San Juan con cepas de microorganismos *Shigella*, *Dysenteriae* y *Staphylococcus aureus*", el cual concluyó que dos especies presentaron actividad antimicrobiana total frente a microorganismos *Staphylococcus aureus* a 24, 48, 72 y 96 horas de exposición a una concentración de 1000 µg/ml, posteriormente se realizaron diluciones a concentraciones menores para determinar la CMI resultando así las especies *Dycterix oleifera benth* con una concentración de 900 µg/ml y *Otova novogranantensis mold* con una concentración de 60 µm/ml a través del método de Mitscher (Guido. E, Hernández. M, Nuñez. K., 2000).

Otro estudio en el 2004, sobre la "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". 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 (López. V., Ruiz. M.,2004).

En el año 2012, otro estudio sobre la "Evaluación de la Actividad Antibacteriana de los Aceites Esenciales de: Zacate de limón (*Cymbopogon Citratus* DC. Stapf), Eucalipto (*Eucalyptus* spp.)



y Clavo de olor (*Syzygium aromaticum* L), solos y en combinación, Contra *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, Septiembre 2011 a Junio 2012” indicó que respecto a las pruebas de actividad antibacteriana, el aceite esencial que mostró actividad antibacteriana contra la cepa *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, fue el de Eucalipto (*Eucalyptus* ssp) a un volumen de 10 μ L mostró una actividad intermedia y a 15 μ L mostró actividad positiva, con un halo de inhibición promedio de 13 mm (Rodríguez. S. & Benjamín. E, 2012).

Es de mucha frecuencia el uso de plantas medicinales por parte de nuestra población para tratar ciertas enfermedades infecciosas, usualmente en aquellos lugares donde no hay acceso a atención asistencial; siendo la Medicina Herbolaria un aspecto de gran relevancia para mantener la salud de estos.

Según un informe de la presidencia de la república de Nicaragua, indica que el 25% del territorio nicaragüense está conformado por bosques, aproximadamente 3.3 millones de hectáreas. Este dato nos da la pauta para continuar con investigaciones que nos ayuden a dilucidar las verdaderas características medicinales en esta gran variedad de especies, enfocando el estudio exclusivamente al porcentaje de especies localizadas en el norte de Nicaragua y de esta manera encontrar nuevos metabolitos contra enfermedades prevalentes en nuestro país.

El método de Mitscher es uno de los más utilizados en nuestra universidad dado el bajo costo de los materiales a utilizar, su fácil aplicación y resultados confiables, por esta razón lo utilizaremos para poner a prueba la actividad antimicrobiana de los extractos de las plantas recolectadas.



II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es necesario encontrar estrategias, alternativas o fuentes naturales eficaces contra cepas bacterianas que son actualmente difíciles de tratar. La búsqueda de nuevos antimicrobianos es una tarea incesante de muchos centros de investigación alrededor del mundo. Es necesario destacar que, en los albores de la terapéutica farmacológica, las plantas eran la principal fuente de principios activos de gran valor. Estas drogas naturales podrían representar un enfoque interesante para limitar la aparición y propagación de microorganismos, que originan problemas en la salud pública, dada la gran variedad de plantas históricamente efectivas ante diferentes microorganismos, por tal razón nos damos a la tarea como investigadores y profesionales de la salud a plantearnos lo siguiente:

¿Poseen actividad antimicrobiana las 20 muestras de especies vegetales procedentes del norte de Nicaragua sobre *Staphylococcus epidermides*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp* según el método Mitscher?



III. OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar mediante el método de Mitscher la actividad antimicrobiana de 20 muestras vegetales provenientes de la zona norte de Nicaragua, realizado en la Facultad de Ciencias Químicas, de UNAN-León octubre 2017- abril 2018.

Objetivos Específicos

- Desarrollar extractos alcohólicos de 20 muestras vegetales obtenidas de las colectas del proyecto KRIBB en la zona norte de Nicaragua.
- Aplicar el Método de Mitscher a las 20 muestras vegetales obtenidas de las colectas del proyecto KRIBB en la zona norte de Nicaragua.
- Comparar resultados mediante el método de Mitscher y resultados del control positivo de Clorhidrato de Ciprofloxacina 500 mg (tableta), de 20 muestras vegetales obtenidas de las colectas del proyecto KRIBB sobre *Staphylococcus epidermides*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*



IV. MARCO TEÓRICO

Los productos naturales tales como los extractos de las plantas y sus compuestos puros proveen oportunidades ilimitadas para el desarrollo de nuevas drogas que pueden ser utilizadas para el control antimicrobiano. Existen pruebas estandarizadas *in vitro* conocidas como ensayos de susceptibilidad antimicrobiana, las cuales son técnicas esenciales en la búsqueda de actividades biológicas de nuevos compuestos naturales.¹

Dentro de los principales métodos de evaluación preliminar de la actividad antimicrobiana se encuentran los métodos de difusión en disco y difusión del pozo en agar, mediante los cuales se determina en forma cualitativa el efecto antimicrobiano de los extractos de las plantas sobre los microorganismos de interés.¹

Por otro lado, los métodos de dilución son apropiados para la determinación cuantitativa de la actividad antimicrobiana, la técnica más utilizada es la denominada concentración mínima inhibitoria (CMI), con la cual se define la concentración mínima capaz de inhibir el crecimiento visible del microorganismo.¹

Una vez que se ha establecido de forma cualitativa y cuantitativa el efecto antimicrobiano de los extractos es conveniente determinar el compuesto responsable de dicha actividad.¹

Las metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de extractos de plantas son muy variadas, sin embargo, siempre aportan información muy valiosa para la búsqueda preliminar de compuestos con propiedades antimicrobianas.¹

Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son técnicas esenciales en la investigación y los resultados pueden variar dependiendo de una gran cantidad de factores involucrados en el desarrollo de estas. Desde la selección de las plantas, el tipo de extracción, la elección de bioensayos apropiados hasta detalles como la cantidad del inóculo y técnica utilizada para la



determinación de actividad antimicrobiana, pueden influir en los resultados de manera contundente.¹

Los ensayos de sensibilidad deben estar estandarizados y sujetos a procesos de control que aseguren su reproducibilidad. La mayoría de los métodos están basados para evaluar la resistencia o susceptibilidad a antibióticos. Los métodos para evaluar la actividad de extractos sobre bacterias y hongos suelen ser similares, variando la preparación del inóculo, medio de cultivo, temperatura, y el tiempo de incubación.¹

Métodos utilizados para la determinación de la actividad antimicrobiana

Existen diferentes métodos que incluyen las determinaciones de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), la eficacia antimicrobiana y la evaluación del espectro antimicrobiano, entre otros. El problema de utilizar un método u otro es la dificultad para comparar los resultados de diferentes investigaciones.¹

A continuación, se describen los métodos mayormente utilizados para evaluar la actividad antimicrobiana por medio de la concentración mínima inhibitoria (CMI)¹

Contacto directo

Los métodos de evaluación de los aceites esenciales mediante contacto directo han sido probablemente los más utilizados en los diversos estudios, ya que se busca remplazar a los conservadores sintéticos.¹

Dilución en agar

El método de dilución en agar es utilizado generalmente para determinar si el aceite esencial es letal contra un microorganismo. Además, se usa con microorganismos aeróbicos o microaerófilos con una velocidad variable de crecimiento. Para esta técnica se preparan diferentes diluciones de los aceites esenciales, posteriormente se añaden a los agares y estos son puestos en cajas Petri para su solidificación. Finalmente, los microorganismos en prueba



previamente diluidos son inoculados en los agares en incubados a su temperatura y tiempo óptimo.¹

Difusión en agar

El método de difusión en agar ha sido probablemente el más utilizado para determinar la actividad antimicrobiana contra microorganismos aeróbicos. En este método el agar solidificado se inocula con la suspensión requerida del microorganismo, un papel filtro es impregnado con una solución de concentración desconocida del aceite esencial, el cual es colocado en la superficie del agar.¹

Caja Petri invertida

La caja Petri invertida consiste en colocar los agares inoculados de forma separada de los aceites esenciales. Para ello el papel filtro impregnado con el aceite esencial previamente disuelto en acetato de etilo o en otro solvente, es colocado sobre la tapa de una placa Petri que contiene en la base el agar solidificado e inoculado y en la tapa el papel filtro y se coloca de manera invertida.¹

Con esto se espera una volatilización de los aceites esenciales con los microorganismos puestos en prueba.¹

Botánica de la Región (Zona norte de Nicaragua)

Esta zona cuenta con un clima templado alturas entre los mil y dos mil metros, una topografía variada con valles y mesetas, paisajes de trópicos secos, así como montañas con una riqueza de flora y fauna.²⁹

No obstante, el bosque tropical seco en la región norte de Nicaragua ha sufrido gran deterioro debido a la tala de árboles para el establecimiento de áreas para el cultivo de granos básicos, quedando solamente pequeños reductos de este tipo de vegetación.²⁹



Los bosques tropicales estacionalmente secos, contienen una alta riqueza estructural y funcional, es uno de los biomas, de mayor importancia en biodiversidad y por consiguiente tiene una alta prioridad de conservación a nivel mundial. Además, constituyen un modelo para la restauración ecológica y el estudio de la regeneración de los ecosistemas tropicales y así salvar la medicina natural procedente de esta flora tan diversa del norte de Nicaragua.²⁹

Fundamento teórico de la actividad antimicrobiana

Método Mitscher

La actividad antimicrobiana se cuantifica in Vitro para determinar la susceptibilidad o la resistencia de un microorganismo determinado a diferentes concentraciones de un extracto.

El Método consiste en colocar diferentes concentraciones del extracto en cajas de petri conteniendo agar Digerido de Caseína Soja, en los cuales se procede a marcar con una línea el sitio donde será rayado cada uno de los microorganismos de prueba y luego con un asa inoculación y/o aplicadores estériles, se toma una asada de la suspensión de cada microorganismo en turno. El asa con el microorganismo entonces es rayada en un patrón radial de cada caja de petri siguiendo una plantilla. Una vez inoculada se incuban y luego se examina cada una de las placas y se determina si hubo o no actividad antimicrobiana por la presencia o no de unidades formadoras de colonias (UFC).²

Concentración Mínima Inhibitoria (CIM).

La concentración mínima inhibitoria es la actividad que muestra el extracto puesto a prueba en el laboratorio y es expresada como la concentración más baja a la cual el extracto inhibe la multiplicación de microorganismos, la cual se expresa como CIM.²

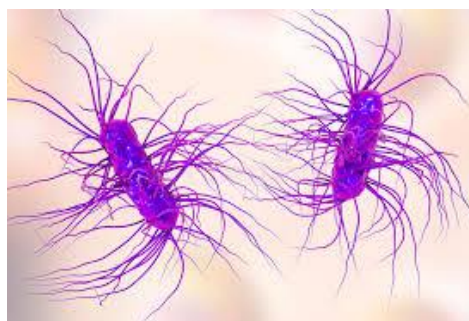
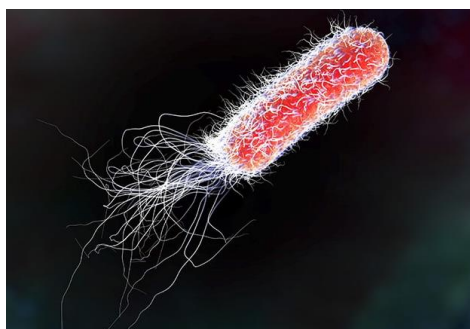
Concentración Mínima Bactericida (CBM).

La mínima cantidad de extracto capaz de destruir el 99,9% de una muestra inoculada en condiciones estandarizadas, la cual se expresa como CBM.²



Monografía de los microorganismos de ensayo

Escherichia Coli.



E. coli es la abreviatura de *Escherichia coli*, un tipo de bacteria que vive en el intestino. La mayoría de estas son inofensivas. Sin embargo, algunos tipos pueden producir enfermedades y causar diarrea. Es más, una variedad de estas, denominada *O157:H7*, causa una diarrea hemorrágica, y a veces puede provocar insuficiencia renal e incluso la muerte, especialmente en niños y en adultos con sistemas inmunológicos debilitados. En 1982 se identificó el primer brote de *Escherichia coli O157:H7* por comer carne de hamburguesas contaminadas con la bacteria.³

Se pueden adquirir infecciones al consumir alimentos que contienen la bacteria. Para ayudar a evitar la intoxicación por alimentos y prevenir infecciones, es preciso manipular la comida con seguridad, cocinar bien las carnes a alta temperatura, lavar las frutas y verduras antes de comerlas o cocinarlas, y evitar la leche sin pasteurizar. También se puede adquirir la infección al tragar agua en una piscina contaminada con desechos humanos.³

La mayoría de los casos de infección por *Escherichia coli* mejoran espontáneamente en 5 a 10 días.³

La *Escherichia coli* se caracteriza por poseer bacilos Gram negativos, no esporulante, producción de indol a partir de triptófano, no utilización de citrato como fuente de carbono y no producción de acetoina. Además, fermenta la glucosa y la lactosa con producción de gas.³



Como todas las bacterias Gram -, la cubierta de *Escherichia coli* consta de tres elementos: la membrana citoplasmática, la membrana externa y, entre ambas, un espacio periplásmico constituido por péptido-glucano. Esta última estructura confiere a la bacteria su forma y rigidez, y le permite resistir presiones osmóticas ambientales relativamente elevadas.³

Descripción

Escherichia coli es una bacteria mesófila, su óptimo desarrollo se encuentra en el entorno de la temperatura corporal de los animales de sangre caliente (35-43 °C). La temperatura límite de crecimiento se sitúa alrededor de 7 °C, lo que indica que un control eficaz de la cadena de frío en las industrias alimentarias es esencial para evitar el crecimiento de esta en los alimentos. La congelación tiene pocos efectos sobre la población en el alimento, y no garantiza la destrucción de un número suficiente de bacterias viables para asegurar su inocuidad. Sin embargo, la *Escherichia coli* es sensible a temperaturas superiores a 70 °C, a partir de la cual son fácilmente eliminadas; por ello, es muy importante la pasteurización de alimentos como la leche, zumos, etc., para garantizar su eliminación.³

Además de la temperatura, el pH y la actividad de agua pueden influir en la proliferación de *Escherichia coli* a condiciones óptimas de desarrollo para estos parámetros son de 7,2 y 0,99 respectivamente. El desarrollo de *Escherichia coli* se detiene a pH extremos (inferiores a 3,8, o superiores a 9,5), y valores de a_w inferiores a 0,94. Por ello, el grado de acidez de un alimento puede constituir un factor de protección y garantizar su seguridad.³

Cultivo

Puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7 °C y 50 °C, con una temperatura óptima de 37 °C. Algunas pueden proliferar en alimentos ácidos, hasta a un pH de 4,4, y en alimentos con una actividad de agua (a_w) mínima de 0,95.³

Patología

Las siguientes cepas de *Escherichia coli* pueden ser asociadas con diferentes patologías en el ser humano, como agentes patógenos, de gastroenteritis infantiles, *Escherichia coli*



enterotoxigénicas, enteroinvasivas, enteropatógenas, enterohemorrágicas, enteroagregativas, *Escherichia coli* de adhesión difusa y *Escherichia coli* patógenas.³

Las patologías asociadas a las cepas *E. coli* patógenas incluyen la infección urinaria, diarreas, gastroenteritis, infecciones urinarias, meningitis y septicemias.³

Escherichia coli es una cepa altamente patógena que produce una toxina que puede causar daños graves a las paredes del intestino, dañar los riñones o el cerebro. Esta cepa es potencialmente mortal.³

Factores de patogenicidad

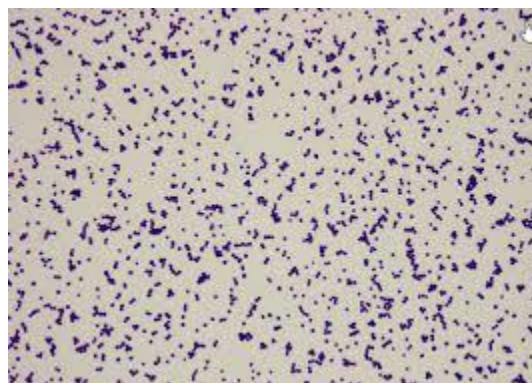
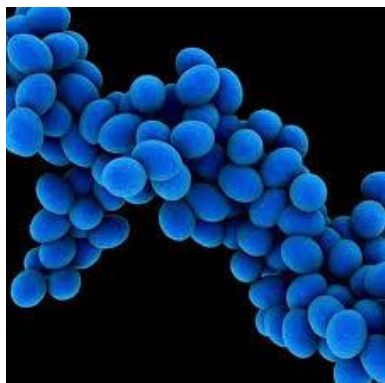
La patogenicidad es función de algunos antígenos superficiales y de las toxinas que generan. Así, las fimbrias actúan aportando su capacidad de adherencia, los antígenos O y K presentan propiedades anti fagocitarias e inhibitorias de las sustancias bactericidas del suero, y son responsables de la virulencia de las cepas invasivas, cuya síntesis está codificada por genes que se encuentran en plásmidos de elevado peso molecular. Presentan una endotoxina ligada al lipopolisacárido, en especial al lípido A, responsable de la acción pirógena y probablemente de las alteraciones vasculares que se producen en las infecciones generalizadas. Algunas cepas pueden producir exotoxinas responsables de la producción de diarreas, cuya síntesis está codificada por la presencia de plásmidos (plásmidos Ent), que a su vez pueden contener genes asociados con la capacidad de adherencia y otras propiedades (producción de colicinas, hemolisinas y resistencias a los antibióticos). Se conoce la existencia de una enterotoxina termolábil (TL) y antigénica semejante a la enterotoxina de *Vibrio cholerae*, que actúa activando la adenilciclase, la cual a su vez transforma el ATP en AMP cíclico produciendo un aumento de la secreción de agua y electrolitos. Puede existir, además, una toxina termoestable (TS), de bajo peso molecular y no antigénica, que también produce acumulación de líquidos en el intestino por un mecanismo distinto y poco conocido, probablemente por la vía de la guanilciclase. Estas toxinas no producen alteraciones tóxicas ni anatómicas del enterocito, pero sí de tipo funcional (enterotoxinas citotónicas), siendo una característica de las *Escherichia coli* enterotoxigénicas.³



Por otra parte, las cepas de *Escherichia coli* enteroinvasivas están caracterizadas por su capacidad de penetrar e invadir las células del epitelio intestinal. Se considera que la capacidad de penetración es debida a la presencia de antígenos superficiales, en especial de proteínas de la membrana externa, cuya síntesis está codificada por plásmidos, al igual que se ha demostrado en el género *Shigella*.³



Staphylococcus Epidermides



Staphylococcus epidermides una especie bacteriana del género *Staphylococcus*, consistente en cocos Gram-positivos arreglados en grupos. Es coagulasa-negativa, termonucleasa-negativo aunque a veces varía, y se presenta frecuentemente en la piel de humanos, animales y en membranas mucosas.⁴

Crece en grupos y vive generalmente en la piel humana. Fue descrita por Rosenbach en 1884 y fue originalmente llamada *Staphylococcus albus*. La bacteria *Staphylococcus epidermides* no mantiene el tinte violáceo cuando se tiñe con el método de Gram (bacterias gram-negativo) y casi todas las cepas de *Staphylococcus epidermides* no producen la enzima coagulasa que induce la coagulación (por ejemplo, produce un engrosamiento). La bacteria *Staphylococcus epidermides* crece por respiración aeróbica (convierte el oxígeno en dióxido de carbono) o por fermentación (divide compuestos orgánicos complejos en sustancias simples).⁴

Descripción

La mayoría de las cepas de *Staphylococcus epidermides* no son causa de enfermedad y es teoría de que algunas cepas pueden incluso tener un papel benéfico para los seres humanos. Cuando la bacteria *Staphylococcus epidermides* causa enfermedad, con frecuencia, ésta se adquiere en un hospital. Puede provocar una infección en biomateriales, como catéteres, prótesis de válvulas, derivaciones de líquido cefalorraquídeo, prótesis de miembros, vasculares, heridas postoperatorias y catéteres venosos.⁴



Es sensible al antibiótico novobiocina; un concepto que lo distingue de otros organismos comunes de coagulasa negativa como *S. saprophyticus*.⁴

Debido a contaminación, *Staphylococcus epidermidis* es probablemente la especie más común hallada en análisis de laboratorio.⁴

Es un microorganismo muy resistente, que consiste en cocos Gram positivos no móviles que crece en colonias de aproximadamente 1.2 milímetros de diámetro y no hemolíticas en agar sangre. Se clasifica catalasa positiva, coagulasa negativa y anaerobio facultativo que puede crecer mediante la respiración aeróbica o por fermentación.⁴

Cultivo

En cuanto a los requerimientos atmosféricos el género *Staphylococcus* aerobio-anaerobio facultativo, por tanto, su crecimiento en caldo tioglicolato se hará en toda la extensión del tubo. Desde el punto de vista nutricional es no exigente, por lo tanto, crece en medios de cultivos pobres, como agar simple, como en medios ricos y como el agar sangre ovina.⁴

Patología

Las bacterias poseen una capa externa de polisacáridos que se adhieren firmemente al plástico, lo que también contribuye a impedir la penetración de los antibióticos dificultando el tratamiento.⁴

Enfermedades por *Staphylococcus epidermidis*.

Debido a que la bacteria *Staphylococcus epidermidis* puede causar una infección en una gran variedad de lugares del cuerpo, los síntomas de la infección son parcialmente dependientes a la infección.⁴

Algunos síntomas que pueden ser comunes a todas las infecciones por *Staphylococcus epidermidis* incluyen fiebre, fatiga, dolor o sensibilidad en el lugar del implante, respiración rápida, latidos rápidos del corazón y sudoración.⁴



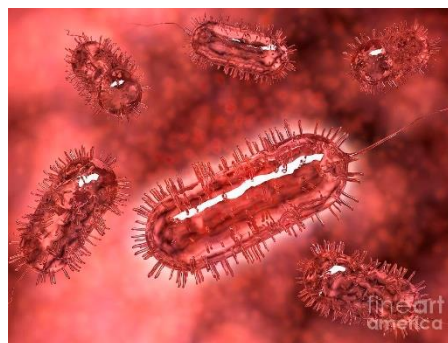
Como se mencionó anteriormente, *Staphylococcus epidermides* causa biopelículas que crecen en los dispositivos de plástico que se colocan dentro del cuerpo. Esto ocurre más comúnmente en los catéteres intravenosos y prótesis médicas. La infección también puede ocurrir en pacientes sometidos a diálisis o a cualquier persona con un dispositivo plástico implantado que puede haber sido contaminado. Otra enfermedad que causa es la endocarditis en pacientes con válvulas cardíacas.⁴

Muchas cepas de bacteria *Staphylococcus epidermides* que causan enfermedades producen un lodo que puede formar una biopelícula. Esta permite que las bacterias permanezcan en los biomateriales y las ayuda a resistir el sistema inmune, muchos antibióticos y antimicrobianos.⁴

La bacteria *Staphylococcus epidermides* es resistente a muchos antibióticos incluyendo la meticilina, a todas las penicilinas, penems, carbapanems y a las cefalosporinas. Esta resistencia a menudo resulta en biomateriales mencionados bajo la "enfermedad" que necesites eliminar.⁴



Salmonella spp



Salmonella spp es un género bacteriano perteneciente a la familia *Enterobacteriáceae* constituido por bacilos gramnegativos intracelulares anaerobios facultativos con flagelos peritricos.⁵

Descripción

Son bacterias Gram negativas no esporuladas, anaerobias facultativas, mesófilas con una temperatura óptima de crecimiento de 35 – 37 grados Celsius.⁵

Es uno de los principales agentes causales de intoxicaciones alimentarias a nivel mundial, coloniza la mayor parte de los animales y el ser humano. No es detectable en bajo número de células y los métodos para su aislamiento tienen baja especificidad, baja sensibilidad y consumen mucho tiempo.⁵

La carga de las enfermedades de transmisión alimentaria es considerable: cada año, aproximadamente una de cada 10 personas contrae la enfermedad y se pierden 33 millones de años de vida sana. Las enfermedades de transmisión alimentaria pueden ser graves, en especial cuando afectan a los niños pequeños. Los alimentos insalubres son la causa más común de las enfermedades diarreicas. Cada año enferman 550 millones de personas, de las cuales 220 millones son niños menores de 5 años. *Salmonella spp* es una de las cuatro causas principales de enfermedades diarreicas a nivel mundial.⁵



Salmonella spp es un género de bacilos gramnegativos que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Hasta la fecha se han identificado más de 2500 serotipos o serovares diferentes en dos especies, a saber, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*. *Salmonella* es una bacteria omnipresente y resistente que puede sobrevivir durante varias semanas en un ambiente seco y varios meses en agua.⁵

Si bien todos los serotipos pueden causar la enfermedad en el ser humano, unos pocos son específicos de algunos huéspedes y pueden alojarse solo en una o en unas pocas especies animales, por ejemplo, *Salmonella enterica* serotipo *Dublin* en vacunos, y *Salmonella enterica* serotipo *Choleraesuis* en porcinos. Cuando esos serotipos particulares provocan la enfermedad en las personas suelen ser invasivos y pueden ser mortales.⁵

Cultivo

La detección está basada en el empleo de medios de cultivo selectivos y posterior caracterización de las colonias mediante pruebas bioquímicas y serológicas. El método estándar o prueba de oro en clínica es el croprocultivo, el cual tiene gran valor en estudios epidemiológicos.⁵

Para su crecimiento no requieren de cloruro de sodio, pero pueden crecer en concentraciones que van del 0 por ciento al 4 por ciento. La mayoría de los serotipos de *Salmonella* crecen en un rango de temperatura de 5 grados c a 47 grados c, con una temperatura óptima de 35 – 37 grados c. algunas pueden llegar a crecer a 2 grados c o 4 grados c y hasta 54 grados c. El pH de crecimiento oscila entre 4- 9. Con un óptimo entre 6.5 y 7.5. Se desarrollan bien a una actividad de agua de 0.99 a 0.94 y pueden llegar a sobrevivir en alimentos secos. Su crecimiento se inhibe completamente a temperaturas inferiores a 7 grados c. se caracteriza por su amplia distribución, altamente patógenos y difícil aislamiento.⁵

Patología

Puede provocar enteritis salmonelósica con una duración comprendida entre 6-48 horas. Síntomas principales: fiebre ligera, náusea y vómito, dolor abdominal y diarrea durante unos días o una semana.⁵



Una vez que la salmonella ha alcanzado el intestino, es capaz de persistir en la mucosa, evadiendo los mecanismos bactericidas de las enzimas digestivas, las sales biliares, inmunoglobulina A secretoria, péptidos antimicrobianos y otros mecanismos defensivos y puede llegar a ser crónica.⁵

S. typhi y *S. paratyphi* A, B y C producen el tifo y la fiebre tifoidea en los humanos. A consecuencia de ello, muchos de los órganos pueden ser infectados, ocasionándose lesiones. La tasa de mortalidad de la fiebre tifoidea es del 10% comparada con menos del 1% para la mayoría de las formas de salmonelosis.⁵

Por su parte, *S. dublin* tiene una tasa de mortalidad del 15% cuando se presenta septicemia en los ancianos, mientras que la de *S. enteritidis* es de aproximadamente 3.6% en los brotes ocurridos en los hospitales y las guarderías, siendo los ancianos los más afectados.⁵

La septicemia causada por *Salmonella spp* se ha asociado con una subsecuente infección de casi todos los órganos del sistema.⁵

También se ha reportado que la artritis reactiva postentérica y el síndrome de Reiter, ocurren generalmente después de 3 semanas. La artritis reactiva puede ocurrir con una frecuencia del 2% de los casos probados en cultivos. Por otro lado, la artritis séptica ocurre posterior o simultáneamente con la septicemia, y puede ser difícil tratarla.⁵

Los síntomas de la enfermedad comienzan a manifestarse entre 6 y 72 horas (generalmente 12 a 36 horas) después de la ingesta de *Salmonella spp*, y la enfermedad dura entre 2 y 7 días.⁵

En la mayoría de los casos, los síntomas de salmonelosis son relativamente leves y los pacientes se recuperan sin tratamiento específico. Sin embargo, en algunos casos, particularmente en niños pequeños y en ancianos, la deshidratación causada por la enfermedad puede ser grave y poner en peligro la vida.⁵



Si bien los grandes brotes de *Salmonella spp* suelen atraer la atención de los medios informativos, entre el 60% y el 80% de los casos de salmonelosis no se registran como parte de un brote conocido y se clasifican como casos esporádicos, o ni siquiera se diagnostican.⁵

Procedimiento de Recolección del Material Vegetal

Antes de iniciar la recolección del material vegetal, el Herbario Hule en conjunto con el proyecto KRIBB, por medio de la base de datos llamada Flora y Fauna se analiza con que familia, género o especies no cuentan para sus posteriores colectas en las que identifican las especies por fotos.²⁸

Una vez en la zona de recolección es imprescindible para los herbarios coleccionar material que le sea útil para diversos fines. Se toman muestras de 30 cm de largo, con flores y/o frutos. Posteriormente se colocan sobre papel periódico estirando las hojas y rociándole alcohol, se coloca un papel periódico encima y se rocía nuevamente con alcohol.²⁸

El papel periódico junto con la planta es colocado en láminas metálicas simulando una prensa.²⁸

Una vez recolectada cierta cantidad de cada planta se agrupan y se amarran por los lados con un nudo en el centro, hasta su posterior secado.²⁸

Secado

Se ponen sobre el papel periódico rotulado, antes de montar las plantas se meten todos sus datos en el cuaderno de campo y luego se procede a montar las muestras, en aquellos casos en que los ejemplares son de gran tamaño se tienen el cuidado de doblar adecuadamente la muestra para no dañarla, se doblan en forma de N o Z. Luego se empacan con el periódico libre de paquetes de 20 muestras, se meten en bolsas plásticas y luego se alcoholiza, agregando alcohol al 90% hasta que se observe el periódico húmedo.⁶

La muestra dentro del periódico doblado se pone en cartón corrugado, este cartón debe estar encima de la tapadera de la prensa, papel secante, seguido del aluminio corrugado nuevamente cartón corrugado y luego la otra trapa de la prensa. En el caso de muestras que tienen frutos



grandes se debe usar papel periódico o esponjas hasta que las hojas queden al mismo nivel del fruto, para que las hojas queden lisas y evitar que se arruguen. Una vez preparada la prensa se procede a meterlas en la secadora.⁶

El tiempo de secado depende del material colectado y la cantidad de muestra que tiene la prensa, si el material no tiene estructuras suculentas o frutos carnosos, puede durar entre 4 a 5 días, después de 5 días se tiene que hacer revisión para sacar el material ya seco y separar el material carnosos para secarlo por separado. Las muestras deben secarse adecuadamente, pero sin que se destruyan, debido al exceso de secado, pero no deben de quedar húmedas porque son atacadas por hongos.⁶



Monografía de las especies en estudio

1. *Marcgravia nepenthoides* seem (C7576)₇



Taxonomía

- **Clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **Subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **Superorden:** Asteranae Takht.
- **Orden:** Ericales Bercht. & J. Presl
- **Familia:** Marcgraviaceae Bercht. & J. Presl
- **Género:** *Marcgravia* L.

• Descripción

Hojas oblongas a elípticas o ampliamente lanceoladas, 10–15 (–20) cm de largo y 3–5 (–7) cm de ancho, ápice acuminado, base obtusa a redondeada, cactáceas a coriáceas, nervios laterales principales obvios. Inflorescencia una umbela con 20–40 flores y 4–6 nectarios; flores insertadas perpendicularmente o en ángulos agudos en los pedicelos.

- **Origen y distribución:** Localmente común en bosques siempre verdes muy húmedos, en todo el país; 0–1000 m durante todo el año.
- **Química:** No se encontró
- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró



2. *Quercus oleoides* Schltdl. and Cham (C7589)₈



Taxonomía

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Fagales Engl.
- **familia:** Fagaceae Dumort.
- **Género:** *Quercus* L.

• Descripción

Arboles 5–10 (–25) m de alto, ocasionalmente arbustos 1–3 m de alto, corteza áspera, gris oscuro a negra; tallos densamente tomentulosos en el primer año, glabros en el segundo año, grises, frecuentemente con rayas café-rojizas y prominentes lenticelas blancas; yemas subglobosas a ovadas, 1.5–3 mm de largo y 1–1.5 mm de ancho. Hojas elípticas a obovadas, 4–12 cm de largo y 2–6 (–8) cm de ancho, ápice redondeado a agudo, base obtusa a cuneada, margen entero o irregular y gruesamente dentado en los 3/4 distales, dientes formados por el nervio marginal y los secundarios.

• Origen y Distribución

Localmente abundante y frecuentemente dominante en sabanas de pinos, vegetación playera y bosques de galería, a lo largo de la costa atlántica. Esta especie es común en Guanacaste (Costa Rica) y podría encontrarse en las sabanas de jícaros de la zona pacífica. *Q. oleoides* forma parte de la serie *Virentes* con 7 especies estrechamente emparentadas de Texas (Estados Unidos), el sur de Baja California (México) y Cuba.

- **Química:** No se encontró
- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró



3. *Tillandsia juncea* Ruiz and Pav. Poir (C7607)⁹



Taxonomía

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Liliales Takht.
- **orden:** Poales Small
- **familia:** Bromeliaceae Juss.
- **género:** *Tillandsia* L.

• **Descripción**

Acaulescentes, 20–40 cm de alto. Hojas 20–35 cm de largo; vainas 1–1.5 cm de ancho, café pálidas; láminas triangulares tornándose involuto-filiformes distalmente, 0.2–0.6 cm de ancho, flores, erectas o ascendentes, complanadas o polísticas en las inflorescencias simples, brácteas florales 1–2.5 cm de largo, más largas que los sépalos; pétalos morados. Cápsulas 2.5–3.5 cm de largo.

• **Origen y distribución**

Común en bosques perennifolios, en todo el país; 0–1800 (–2400) m; la mayor parte del año; centro de México al norte de Sudamérica, también en las Antillas.

- **Química:** No se encontró
- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró



4. *Jatropha Stevensii* G.L Webster (C7609)¹⁰

Taxonomía



- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Malpighiales Juss. ex Bercht. & J.
- **familia:** Euphorbiaceae Juss.
- **género:** *Jatropha* L.

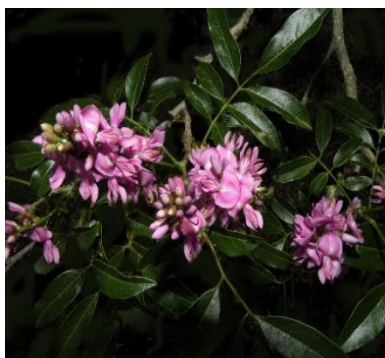
• **Descripción**

Arbustos, hasta 3 m de alto; plantas monoicas. Hojas ovadas, enteras, 2–4 cm de largo y 1–2 cm de ancho, ápice acuminado, cordadas en la base, glabras o tomentulosas; pecíolos 0.5–2.5 cm de largo, estípulas obsoletas. Dicasio 3–5 cm de largo; sépalos enteros; pétalos cohesionados en el 1/3 inferior, oblongos o adelgazados en el ápice, 5.5–6 mm de largo, densamente hirsútulos por dentro, verdes pálidos; estambres 10, anteras 1–1.4 mm de largo; ovario glabro. Fruto ca 1.5 cm de diámetro, rigurosamente carinado; semillas con 9 mm de largo.

- **Origen y distribución:** Rara en matorrales basálticos, Boaco y Managua; 100–200 m y en el sur de México.
- **Química:** No se encontró
- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró



5. *Lonchocarpus acuminatus* Schltdl. M Sousa (C7611)¹¹



Taxonomía

- **Clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Fabales Bromhead
- **familia:** Fabaceae Lindl.
- **género:** *Lonchocarpus* Kunth

- **Descripción**

Arbustos a árboles pequeños, hasta 8 m de alto, la corteza interior sin fluido resinoso al corte; ramas esparcidamente seríceas, glabrescentes. Folíolos (5–) 7 (–9), elípticos, ovados a obovados, (2.5–) 5–11 cm de largo y (1.7–) 3–4.5 (–5.5) cm de ancho, ápice acuminado a caudado, haz brillante a opaca. Legumbres elípticas a oblongas, 4.5–7 cm de largo y 2.3–2.6 cm de ancho, rostradas en el ápice, brevemente estipuladas a atenuadas en la base, planas, lateralmente comprimidas.

- **Origen y distribución:** Común en bosques caducifolios, zona pacífica; 30–700 m;
- **Química:** No se encontró
- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró

6. *Homalium racemosum* Jacq (C7616)¹²**Taxonomía**

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl
- **familia:** Salicaceae Mirb.
- **género:** *Homalium* Jacq.

- **Descripción**

Arboles siempre verdes, 5–25 m de alto, inermes; plantas hermafroditas. Hojas alternas, dísticas, elípticas o lanceoladas, 6.5–21 cm de largo y 2.5–7.5 cm de ancho, ápice acuminado, base caudada a redondeada, margen serrado- o undulado-glandular, sin marcas pelúcidas, glándulas basales ausentes, pinnatinervias; pecíolo 0.3–1 cm de largo, estípulas no observadas. Inflorescencias de racimos (a veces ligeramente ramificados) axilares o terminales, 5–9 (–17) cm de largo y 1–2 cm de ancho, con 8–20 flores, pedúnculo 2–3.5 cm de largo, brácteas pequeñas, tempranamente caducas; tubo del cáliz 1–3 mm de largo, semillas 1 ó 2, 2.5 mm de largo, glabras, sin arilo.

- **Origen y distribución**

Común, áreas alteradas, en todo el país; 5–1200 m; hasta Perú y Brasil y también en las Antillas. Género pantropical con 200 especies, 3 de ellas en América tropical.

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró



7. *Inga laurina* Sw. Willd. (C7617)¹³



Taxonomía

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Fabales Bromhead
- **familia:** Fabaceae Lindl.
- **género:** *Inga* Mill.

• **Descripción**

Árbol: De 5 a 20 m de alto. Copa umbelada o redondeada. Tronco con la corteza exterior negra y lenticelada. Ramitas terminales con lenticelas blancas.

Hojas los nuevos son de color rojizo o rosado. Estípulas persistentes. Raquis acanalado o ligeramente alado en el extremo apical. Glándulas interfoliolares sésiles y en forma de copa.

Flores y frutos: Florece y fructifica de enero a julio. Flores blancas en espigas axilares. Frutos en legumbres aplanadas, de 6 a 12 cm de largo, verdes, tornándose un poco globosos y amarillos al madurar. Semillas envueltas de un arilo blanco.

- **Distribución:** Crece a orillas de ríos y riachuelos.
- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** Madera empleada para leña y postes de cercas. El arilo que envuelve las semillas es comestible.

8. *Ochroma pyramidale* Cav. Ex Lam. Urb (C7619)¹⁴**Taxonomía**

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Malvales Juss.
- **familia:** Malvaceae Juss.
- **género:** *Ochroma* Sw.

- **Descripción**

Son árboles que pueden alcanzar hasta 30 m de altura, siempre verdes, aunque pueden comportarse como caducifolios si la estación seca es muy larga. Poseen tronco liso de madera muy suave. Las hojas son simples, ampliamente ovadas, frecuentemente 3-sublobadas, hasta 38 cm de largo y 30 cm de ancho, ápice redondeado a agudo, base más o menos cordada, con densa pubescencia café-amarillenta en el envés. Grandes flores (7–11 cm de largo) blancas o color crema en forma de trompeta. El cáliz es infundibuliforme-campanulado, pentalobulado de 5,5–7 cm de largo, más o menos puberulento; la parte expuesta de los pétalos mide 3,8–4,8 cm de largo, velutina; con filamentos numerosos formando una columna estaminal pentalobulada en el ápice; estilo espiralmente 5-sulcado. El fruto es una cápsula irregularmente angulada con crestas y surcos de 13–20 cm de largo, las valvas son coriáceas con semillas pequeñas, numerosas y envueltas en kapok. Es de color verde cuando está inmaduro pasando al negro y dehiscentes al madurar.

- **Distribución y origen**

Especie común, se encuentra en bosques bajos perennifolios de crecimiento secundario, ocasional en bosques secos y húmedos, zonas pacífica y atlántica; a una altitud de 30–830 metros procedentes de México, Bolivia y en las Antillas.

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró



- **Usos**

Su madera recién cortada era materia prima para construir balsas de navegación, boyas para redes y para anzuelos de pesca. La corteza viva es una buena fibra de amarre para construcción y para asegurar paquetes. Actualmente su madera tiene un amplio uso en arquitectura y aeronáutica.

- **Toxicidad:** No se encontró

9. *Inga desinflora* benth (C7624)₁₅**Taxonomía**

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Fabales Bromhead
- **familia:** Fabaceae Lindl.
- **género:** *Inga* BENTH.

- **Descripción**

Árboles, 6–18 m de alto, ramas teretes, café-amarillento tomentosas cuando jóvenes, glabrescentes. Folíolos 4–6 pares, los del par basal lanceolados, en ocasiones falcados, 3–6.5 cm de largo y 1–2.5 cm de ancho, los del par apical lanceolados a lanceolado-elípticos, angostamente elípticos, 7–15 cm de largo y 2.3–6 cm de ancho, ápice acuminado a cuspidado, base asimétrica a ligeramente asimétrica, obtusa, subcordada a aguda, haz brillante, esparcidamente pilosa, Fruto oblongo a linear-oblongo, 10–22 cm de largo, 3–6 cm de ancho y 0.8–1 cm de grueso, aplanado, recto a curvado, apiculado en el ápice.

- **Distribución y origen**

Común, especie muy variable de los bosques altos perennifolios, vegetación secundaria, bosques húmedos de montaña, zonas atlántica y norcentral; 100–1400 m, Nicaragua a Venezuela, Ecuador y Perú. "Guava blanca".

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró

10. *Inga spectabilis* Vahl Willd.(C7626)₁₆**Taxonomía**

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Fabales Bromhead
- **familia:** Fabaceae Lindl.
- **género:** *Inga* Mill.

- **Descripción**

Árboles, 6–15 (–30) m de alto, ramas anguladas a cuadrangulares, glabrescentes. Folíolos 2 pares, los del par basal ovados a ampliamente elípticos, 10–15 cm de largo y 6–9 cm de ancho, los del par apical ampliamente elípticos a obovados, 18–28 cm de largo y 7–17 cm de ancho, ápice obtuso, apiculado, en ocasiones acuminado, base generalmente asimétrica, subcordada a cordada, haz brillante, glabra, envés brillante, glabrescente excepto estriguloso sobre la nervadura, nervadura primaria eglandular, subcoriáceos a coriáceos, rugosos, frecuentemente abollados, casi concoloros, glándulas interfoliolares pateniformes, sésiles, el cuerpo glandular 3–4 mm de diámetro, apéndice acicular, 10–15 mm de largo; raquis foliar angulado a cuadrangular, 4.5–9 cm de largo, ocasionalmente alado sólo en la 1/2 superior, el ala oblanceolada u obtriangular, hasta 20 mm de ancho, pecíolos subteretes a alados, hasta 1.5 cm de largo, estípulas lanceoladas a linear-lanceoladas, 8–11 mm de largo, caducas. Inflorescencias espigas, 1–2-fasciculadas, pedúnculos aplanados, 2.5–6 cm de largo, sulcados, café-amarillento tomentulosos, raquis floral 1.5–3.5 cm de largo, las flores amontonadas, las brácteas homomorfas, foliáceas, obovadas a ovadas, oblongas, 9–13 mm de largo, caducas, flores sésiles, yemas florales con el cáliz cerrado, apiculadas; cáliz tubular, 8–9 mm de largo, estriado, moderadamente café-amarillento seríceo, con escotaduras profundas, los lobos 3–4 mm de largo; corola subturbinada, 18–24 mm de largo, canescente-seríceo, blanca; tubo estaminal inserto. Fruto linear-oblongo, 20–80 cm de largo, 3.5–5 cm de ancho y 2–3 cm de grueso, leñoso, aplanado, recto a curvado, apiculado en el



ápice, glabro, las valvas aplanadas, las suturas redondeadas, los márgenes de las suturas aplanados, lenticelados, sésil a atenuado.

- **Distribución y origen**

Poco frecuente, bosques altos perennifolios, zona atlántica; 0–800 m; fl jul, fr sep–feb; Araquistain 3239, Moreno 25976; México (Oaxaca) a Ecuador. "Guavo".

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró



11. *Luehea seemannii* Triana and Planch (C7630)¹⁷



Taxonomía

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Malvales Juss.
- **familia:** Malvaceae Juss.
- **género:** *Luehea* Willd.

• **Descripción**

Arboles 1–24 (–40) m de alto; ramas jóvenes con indumento café-amarillento a dorado de tricomas estrellados dispersos, de brazos medianos sobre tricomas furfuráceos. Hojas oblongo-elípticas a oblongo-obovadas, 7.6–24 cm de largo y 3–12.5 cm de ancho, ápice acuminado (agudo), base obtusa a subcordada o redondeada, frecuentemente asimétrica, haz con tricomas estrellados dispersos de brazos largos y medianos, glabrescente tempranamente, envés con indumento dorado de dispersos tricomas estrellados de brazos largos, sépalos 7–15 mm de largo y 2–4 mm de ancho, pétalos angostamente espatulados, 6.5–11 mm de largo y 2–4 mm de ancho, Frutos elípticos, 16–30 mm de largo y 7–15 mm de ancho.

• **Distribución y origen**

Común, en bosques húmedos y secos y áreas perturbadas, zonas atlántica y pacífica; Belice hasta Colombia y Venezuela. "Guácimo macho".

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** Como árboles dispersos en potreros (sombra y refugio para el ganado) (usos potenciales).



- ❖ **Ecológicos:** En estabilización de cauces fluviales y protección de mantos acuíferos.

- ❖ **Industriales:** De la corteza se extraen fibras para hacer cordeles. La madera se emplea en construcciones livianas, carpintería en general (muebles, gabinetes), como formaleta para encofrados, pulpa para papel, contrachapados, cajas de embalaje, mangos de cerillas, postes para cercas y también como combustible (leña). El mucílago de los brotes tiernos se emplea para depurar los jugos calientes de la caña en los ingenios. Los árboles de esta especie son usados en proyectos de maricultura.

- ❖ **Medicinales:** Datos ignotos.

- **Toxicidad**
No se encontró



12. *Indigofera sufruticosa* mill. (C7634)₁₈



Taxonomía

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Fabales Bromhead
- **familia:** Fabaceae Lindl.
- **género:** *Indigofera* L.

• **Descripción**

Arbustos, hasta 3 m de alto, erectos, muy ramificados. Folíolos mayormente (9–) 11–17, elípticos a oblanceolados, ocasionalmente obovados, 2–3 cm de largo. Inflorescencias más cortas que las hojas, 3–4 cm de largo, flores densas, ca 5 mm de largo, en tonos rojos; cáliz ca 1.5 mm de largo, lobos agudos, ligeramente más largos que el tubo, tubo y estandarte densamente estrigosos por fuera. Legumbres oblongas, 1.5–2 cm de largo, algo teretes, marcadamente curvadas, estrigosas, con rostro corto; semillas 3–7.

Común, en todo tipo de vegetación, frecuente en terrenos baldíos, en todo el país; 0–1400 m; fl y fr durante todo el año; *Araquistain 475, Moreno 4398*; sureste.

• **Distribución y origen**

Estados Unidos a Argentina y en las Antillas, introducidas y naturalizadas en los trópicos del Viejo Mundo y en Australia. "Añil".

• **Actividad farmacológica**

No se encontró

• **Química:**

No se encontró



- **Usos:**
No se encontró

13. *Inga leiocalycina* benth (7646)¹⁹



Taxonomía

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Fabales Bromhead
- **familia:** Fabaceae Lindl.
- **género:** *Inga* Mill.

- **Descripción**

Árboles, (7–) 20–30 m de alto, ramas teretes a subteretes, esparcidamente café-amarillento seríceas a densamente tomentulosas cuando jóvenes, posteriormente glabras. Ápice acuminado a cuspidado, base algo asimétrica, cuneada a aguda, haz brillante, glabra excepto en ocasiones tomentulosa sobre la nervadura primaria, envés brillante, piloso a glabrescente, con diminutos tricomas glandulares anaranjados,

- **Distribución y origen**

En bosques altos perennifolios, zona atlántica; 0–400 m; fl ago–nov, fr feb–may; Moreno 25549, Shank 4743; sur de México al norte de Perú. Ha sido confundida con *I. punctata*.

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró



14. *Ficus maxima mill* (R20681)₂₀



Taxonomía

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Rosales Bercht. & J. Presl
- **familia:** Moraceae Gaudich.
- **género:** *Ficus L.*

• **Descripción**

Hojas elípticas a obovadas, 8–15 (–21) cm de largo y (3.5–) 5–7 (–9) cm de ancho, agudas a acuminadas en el ápice, cuneadas a redondeadas en la base, glabras, escabrosas y rígidamente subcoriáceas cuando secas, 8–11 pares de nervios secundarios, nervios terciarios ligeramente prominentes en el envés; pecíolos 1–3 cm de largo, escamosos, café-rojizos, estípulas 1.5–2 cm de largo, glabras.

• **Distribución y origen**

Común, bosques secos estacionales y perennifolios, bosques de galería, zonas pacífica y sur de México a Perú y Brasil, también en las Antillas Mayores. Se reconoce por las hojas y los higos escabrosos, los pecíolos y las ramitas rojizo-escamosos y los higos grandes y solitarios.

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró.

15. *Tephrosia nicaraguensis* oerst (R20681)²¹**Taxonomía**

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Fabales Bromhead
- **familia:** Fabaceae Lindl.
- **género:** *Tephrosia* Pers.

- **Descripción**

Herbáceas perennes, erectas, 0.2–0.5 m de alto; tallos, pecíolos, raquis y ejes de las inflorescencias densamente cinéreo-hirsutos, con apariencia lanosa. Hojas 10–18 cm de largo; folíolos 9–21, angostamente oblongos a oblongos, 1–3.5 cm de largo y 0.7–1.5 cm de ancho, ápice y base generalmente redondeados, densamente cinéreo-hirsutos, con apariencia velutina, sedosos; pecíolos 10–30 mm de largo, estípulas lineares, 8–12 mm de largo, persistentes. Inflorescencias terminales y axilares, las primeras mejor desarrolladas, 10–20 cm de largo, flores 15 mm de largo; cáliz 5 mm de largo; pétalos rosados, tornándose carmín en la madurez, estandarte 14–15 mm de largo, a los 14–15 mm de largo, quilla 15–16 mm de largo; tubo estaminal 11–12 mm de largo; óvulos 4–8, estilo barbado, estigma glabro. Legumbres 4–4.5 cm de largo y 5–6 mm de ancho, esencialmente rectas, densamente cinéreo o ferrugíneo-hirsutas, con apariencia lanosa; semillas 4–6, 3–4 mm de largo, 2–3 mm de ancho y de grueso, cafés variegados con negro.

- **Distribución y origen:**

Escasa, bosques de encinos y pino-encinos, zonas pacífica y norcentral, del norte de México a Nicaragua.

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró

16. *Triumfetta calderonii* StandL (R20706)²²**Taxonomía**

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Malvales Juss.
- **familia:** Malvaceae Juss.
- **Género:** *Triumfetta* L.

- **Descripción**

Arboles pequeños o arbustos grandes 6–8 m de alto; ramas jóvenes e inflorescencias dispersamente pilosas con tricomas simples largos sobre una capa tomentosa de tricomas pequeños fasciculado-estrellados y tomento furfuráceo adpreso; plantas dioicas.

Hojas ampliamente ovadas, base redondeada o subcordada, margen irregular y gruesamente serrado con dientes glandulares basales, haz con numerosos tricomas simples y estrellados de brazos largos, pecíolos 2.5–4 cm de largo. Inflorescencias terminales con muchas hojas y brácteas reducidas, yemas ampliamente ovoides, contraídas cerca de la base, con 3–5 mm de largo; sépalos 5–7 mm de largo, con Fruto globoso, cuerpo 2–3 mm de diámetro, densa y persistentemente vellosa, espínulas delgadamente flexuosas, con 50, 4–5 mm de largo, densamente blanco-plumosas, ápice hialino ligeramente deflexo; semillas 1 mm de largo.

- **Distribución y origen**

Común en bosques alterados deciduos y laderas rocosas, zona norcentral; Chiapas hasta Costa Rica. Investigaciones futuras probablemente mostrarán que esta especie y *T. dioica* Brandegees son sinónimos de *T. arborescens* (Seem.) Sprague, extendiéndose así el área de distribución desde el sur de México hasta Panamá.

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró



- **Toxicidad:** No se encontró

17. *Inga samanensis* L. URIBE(R20709)²³



Taxonomía

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **order:** Fabales Bromhead
- **familia:** Fabaceae Lindl.
- **género:** *Inga* Mill.

- **Descripción**

Árboles, 8–25 m de alto, ramas subteretes a anguladas, café-amarillento a ferrugíneo-tomentulosas cuando jóvenes, posteriormente glabrescentes. Folíolos 5–6 pares, los del par basal lanceolados, en ocasiones ovados, 3.2–9 cm de largo y 1.5–3 cm de ancho, los del par apical elípticos, en ocasiones obovados, 6–14 cm de largo y 2.1–6 cm de ancho, ápice acuminado a cuspidado, base marcadamente asimétrica, cuneada a obtusa, pecíolos subteretes a marginados, 1.5–2.5 cm de largo.

- **Distribución y origen**

Común, áreas pantanosas a lo largo de ríos, bosques altos perennifolios, zona atlántica Nicaragua a Colombia. "Guavo".

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró
- **Toxicidad:** No se encontró



18. *Albizia adinocephala* donn. SM Britton and Rose ex record (R20717)²⁴



Taxonomía

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Fabales Bromhead
- **familia:** Fabaceae Lindl.
- **género:** *Albizia* Durazz.

- **Descripción**

Árbol: De 10 a 20 m de alto. Tronco con la corteza exterior grisácea.

Hojas: Bipinnadas y alternas. Folíolos de 3 a 5.5 cm de largo y de 1.5 a 3 cm de ancho, elípticos, con ápice agudo, bordes enteros y base aguda. Estípulas deciduas. Pecíolos con una glándula circular entre la base y el primer par de pinnas.

Flores y frutos: Florece y fructifica entre septiembre y abril. Flores blancas. Frutos en legumbres aplanadas, de 8 a 12 cm de largo, verdes, tornándose marrón o amarillentos al madurar.

- **Distribución y origen:** No se encontró
- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** Madera empleada para leña y postes de cercas. También se emplea como ornamental y árbol de sombra.
- **Toxicidad:** No se encontró

19. *Zygia latifolia* L. Fawc. and Rendle (R20728)²⁵**Taxonomía**

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase:** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Rosanae Takht.
- **orden:** Fabales Bromhead
- **familia:** Fabaceae Lindl.
- **género:** *Zygia* P. Browne

- **Descripción:**

Árboles, hasta 15 m de alto, ramas y tallos glabrescentes. Hojas hasta 13 cm de largo, pinnas hasta 12 cm de largo, glabras; folíolos (2–) 3 (–5) por pinna, elípticos o ampliamente elípticos, 7–11.5 cm de largo y ca 5 cm de ancho, ápice agudo, base ligeramente oblicua, glabros, nervadura broquidódroma, nervio principal inequilátero especialmente en la base del par de folíolos terminales, una glándula circular de 1 mm de diámetro entre cada par de folíolos; pecíolos 3–5 mm de largo, generalmente glabros, con una glándula circular de ca 3 mm de diámetro entre el par de pinnas, estípulas triangulares, 2 mm de largo, estriadas, fugaces. Inflorescencias espigas 0.5–1 cm de largo, caulifloras, pedúnculos hasta 4 mm de largo, glabros, bráctea floral triangular, 0.5 mm de largo, pubescente, flores blanquecinas, rosadas hacia el ápice; cáliz campanulado, 1.5--2.5 (–3) mm de largo, ligeramente pubescente, con 5 lobos asimétricos, to 1/3--1/2 length of calyx; corola tubular, 7–8 mm de largo, 5-lobada en 1/5 de su longitud, estriada; tubo estaminal exerto, 9–10 mm de largo; ovario 1.3–1.7 mm de largo, glabrescente, sésil; nectario intrastaminal menos de 0.5 mm de largo. Fruto plano o ligeramente curvo, hasta 20 cm de largo y 3.3 cm de ancho, dehiscente, las valvas cartáceas, glabras, café oscuras, márgenes generalmente no constrictos, sésil; semillas 6–10, ampliamente elípticas, 25–30 mm de largo, 20–25 mm de ancho y 5 mm de grueso.



- **Distribución y origen:**

En los márgenes de ríos, zona atlántica; 0–50 m; fl abr, fr abr–may; *Molina 2079, Moreno 12410*; sureste de México a Sudamérica (Amazonia) y norte de Bolivia. Es característica por sus peciólulos casi negros y la nervadura inequilátera de la base de los folíolos.

- **Actividad farmacológica:** No se encontró
- **Química:** No se encontró
- **Usos:** No se encontró



20. *Tournefortia bicolor* SW (R20736)²⁶



Taxonomía

- **clase:** Equisetopsida C. Agardh
- **subclase** Magnoliidae Novák ex Takht.
- **superorden:** Asteranae Takht.
- **orden:** Boraginales Juss. ex Bercht. & J.I
- **familia:** Boraginaceae Juss.
- **género:** *Tournefortia* L.

• **Descripción**

Arbustos o árboles pequeños hasta 3 (–7) m de alto o a veces trepadoras leñosas, las ramitas glabras o escasa y cortamente estrigulosas. Hojas elípticas u ovadas a angostamente elípticas o lanceolado-ovadas, ápice acuminado a agudo, base obtusa a aguda, pecíolos (0.8–) 1–2 cm de largo, glabros o muy escasamente estrigosos. Inflorescencias densas cimas terminales, pedúnculos hasta 3 mm de largo, glabros a escasamente estrigulosos, las ramas fértiles 2–5 cm de largo, flores sésiles y densas, generalmente distantes menos de 2 mm; sépalos lanceolados, 1.5–2 mm de largo.

• **Distribución y origen**

Común, en bosques siempre verdes, en las zonas norcentral y atlántica durante todo el año; México a Sudamérica. Esta es una de las especies más ampliamente distribuidas en América tropical.

• **Actividad farmacológica:** No se encontró

• **Química:** No se encontró

• **Usos:** No se encontró.



V. DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio: Analítico, experimental.

Área de Estudio: Laboratorio de Microbiología y en el Área de Productos Naturales del Departamento de Farmacia Industrial ubicados en la Facultad de Ciencias Químicas, del complejo Docente de la Salud (Campus Médico).

Unidad de análisis: Extractos alcohólicos de especies vegetales.

Universo: Especies vegetales pertenecientes a las familias:

- *Marcgraviaceae*
- *Fagaceae*
- *Bromeliaceae*
- *Malvaceae*
- *Moraceae*
- *Boraginaceae*

Muestra: En la siguiente tabla se muestran las diferentes plantas utilizadas:

Nº	CÓDIGO	FAMILIA	ESPECIE
1	C7576	Marcgraviaceae	<i>Marcgravia nepenthoides</i> Seem
2	C7589	Fagaceae	<i>Quercus oleoides</i> Schltld. & Cham.
3	C7607	Bromeliaceae	<i>Tillandsia juncea</i> (Ruiz. & Pav.) Poir.
4	C7609	Euphorbiaceae	<i>Jatropha stevensii</i> G.L Webster
5	C7611	Fabaceae	<i>Lonchocarpus acuminatus</i> (Schittdl.) M. Sousa
6	C 7616	Salicaceae	<i>Homalium racemosum</i> Jacq.
7	C7617	Fabaceae	<i>Inga laurina</i> (Sw.) Willd.
8	C7619	Malvaceae	<i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. Ex Lam) Urb.
9	C7624	Fabaceae	<i>Inga densiflora</i> Benth
10	C7626	Fabaceae	<i>Inga spectabilis</i> (Vahl) Willd.
11	C7630	Malvaceae	<i>Luehea seemannii</i> Triana & Planch.
12	C7634	Fabaceae	<i>Indigofera suffruticosa</i> Mill.
13	C7646	Fabaceae	<i>Inga leiocalycina</i> Benth.
14	R20681	Moraceae	<i>Ficus maxima</i> Mill.



15	R20691	Fabaceae	<i>Tephrosia nicaraguensis</i> Oerst.
16	R20706	Malvaceae	<i>Triumfetta calderonii</i> Standl.
17	R20709	Fabaceae	<i>Inga samanensis</i> L. Uribe
18	R20717	Fabaceae	<i>Albizia adinocephala</i> (Donn. Sm.) Britton & Rose ex Record
19	R20728	Fabaceae	<i>Zygia latifolia</i> (L.) Fawc. & Rendle
20	R20736	Boraginaceae	<i>Tournefortia bicolor</i> Sw.

Crterios:

Inclusión:

- Muestras vegetales obtenidas de las colectas del proyecto KRIBB.
- Muestras vegetales obtenidas de las colectas del proyecto KRIBB pertenecientes a las familias anteriormente mencionadas.

Exclusión:

- Muestras vegetales que no son obtenidas de las colectas del proyecto KRIBB en la zona norte de Nicaragua.
- Muestras vegetales obtenidas de las colectas del proyecto KRIBB no pertenecientes a las familias anteriormente mencionadas.

Variables:

- Extractos Alcohólicos.
- Actividad antimicrobiana.
- Concentración Mínima Inhibitoria



Operacionalización de Variables

Variable	Definición	Indicadores	Escala de Medida
Extractos	El producto obtenido a partir de plantas o parte de ellas con varios procedimientos y con varios solventes.	-Peso -Volumen	-mg/g -ml/l
Actividad Antimicrobiana	Capacidad de matar, destruir, inactivar microorganismos, impedir su proliferación y/o Impedir su acción patógena.	-Actividad	-Positivo -Negativo
CMI (Concentración Mínima Inhibitoria)	Concentración menor de antibiótico capaz de inhibir el crecimiento de 10 ⁵ bacterias en 1 ml de medio de cultivo tras 18-24 horas de incubación.	-Peso -Volumen	ppm

Procedimientos para la recolección de información: La información de las especies vegetales fue obtenida a través del Herbario de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua - León (HULE), procediendo a realizar investigaciones bibliográficas en diferentes fuentes tales como libros, tesis e internet.

Método de recolección de datos:

Cálculos requeridos para la aplicación del método Mitscher y la posterior observación del crecimiento de las bacterias en las placas.

Forma de analizar los datos:

La información se analizó mediante la observación del crecimiento de los microorganismos en las placas. Posteriormente se trataron los datos por medio de tablas realizadas en el paquete estadístico Office 2016, facilitando su interpretación.



Materiales

- 1- Guantes.
- 2- Nasobuco.
- 3- Gorro.
- 4- Gabacha.
- 5- Algodón.
- 6- Mantas de pañal
- 7- Papel de Aluminio.
- 8- Papel filtro.
- 9- Probeta 100 ml, 1000ml.
- 10- Pana para baño maría.
- 11- Beaker 50ml, 250 ml, 600 ml y 1000 ml.
- 12- Pipetas de 1 ml, 5 ml y 10 ml.
- 13- Puntas de 0.5 μ L
- 14- Balón 50 ml, 100 ml y 1000 ml ámbar de vidrio PYREX®, USA.
- 15- Erlenmeyer 50 ml, 250 ml, 600ml ámbar de vidrio PYREX®, USA.
- 16- Tubos de ensayos y Gradillas.
- 17- Vidrio reloj.
- 18- Espátula metálica.
- 19- Embudo.
- 20- Soporte de madera.
- 21- Asa de inoculación estéril
- 22- Encendedor
- 23- Frascos con tapa.
- 24- Placas petri con tapaderas de vidrio
- 25- Agitadores manuales de vidrio
- 26- Gradilla
- 27- Micropipetas de 500 μ l.
- 28- Tubos de vidrio
- 29- Recipientes de vidrio para extracto seco.



Equipos

1. Balanza analítica: (GIBERTINI Europea)
2. Agitador Vórtex: VORTEX (Industrias Científica INC))
3. Cocina CORNIT
4. Mecheros Bunsen
5. Incubadora: Precisión Mecánica (Convección Incubador Precision Scientific)
6. Freezer
7. Ph-meter CRISON
8. Espectrofotómetro SPPECTRONIC 20 (Baush & Lomb)
9. Autoclave: Modelo 25X-1 (ALL AMERICAN)
10. Horno: Gravity Convection Oven PRECISION (GCA Corporation)
11. Baño maría: Coliforme Incubadora (BATH GCA Corporation)
12. Balanza de brazo metálico (TRIPLE BEAM BALANCE OHA US)
13. Contador de colonias: Leica Quebec Darkfield (COLON COUNTER)

Reactivos y Medios

- Agar digerido de caseína soya (DCS)
- Dimetilsulfóxido (DMSO)
- Clorhidrato de ciprofloxacina
- Agua destilada estéril
- Cloruro de sodio (S); Solución de Cloruro Sodio 0.9%.
- Alcohol 75, 100%
- Cloro puro

Microorganismos:

Cepas de microorganismos hospitalarios:

- *Staphylococcus epidermides*,
- *Salmonella spp*
- *Escherichia coli*



PARTE EXPERIMENTAL

Método de Extracción

El método de extracción a utilizar es por maceración.

Procedimiento para la elaboración de extractos alcohólicos. (Ver ANEXO N°2)

1. Se pesó 200g de cada especie vegetal en la balanza de brazo y se depositaron a un Beaker de 1000mL.
2. Se maceró por aproximadamente una semana con Alcohol y agitando 1 vez por día.
3. Se filtraron los extractos con una manta de pañal para eliminar los residuos de la planta y luego con papel filtro respectivamente para eliminar partículas más pequeñas utilizando embudos y soportes adecuados.
4. Se evaporaron los extractos alcohólicos a temperatura ambiente, hasta obtener un extracto seco.
5. Se vertió el sólido obtenido en recipientes de vidrio previamente pesadas, se identificaron y se envuelven en papel aluminio.
6. Se pesaron los recipientes de vidrio nuevamente con los extractos secos para obtener el peso real exacto.

Determinación de actividad antimicrobiana (Método de Mitscher)

La determinación de la actividad antimicrobiana se realizó mediante el Método Mitscher (Método de dilución en agar). Utilizando los siguientes microorganismos: *Staphylococcus epidermides*, *Salmonella spp* y *Escherichia coli*.

Cultivo de microorganismos

En el caso de bacterias aisladas de material clínico e identificado por los procedimientos estándar, deben ser cepas recientes, las cuales obtuvimos del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Arguello (HEODRA). *Staphylococcus epidermides*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp*.



Preparación de la solución salina de cloruro de sodio

Se preparó 100ml de solución salina al 0.9% y se repartieron 10ml en tubos de ensayo tapándolos con algodón, se autoclavaron a 121 °C por 15 minutos, los tubos de ensayo con solución salina deben mantenerse en refrigeración hasta el momento de usar.

Preparación de la suspensión de microorganismo. (Ver ANEXO N° 7)

1. Se tomó una asada de las cepas de microorganismo.
2. Esta se llevó a un tubo de ensayo que contenía una pequeña cantidad de solución salina 0.9%.
3. Se procedió agitar, para homogenizar la solución.
4. Una vez calibrado el Espectrofotómetro (Spectronic 20), se traspasó la solución a la celda de vidrio leyendo en el equipo a 580nm hasta alcanzar 25% de transmitancia, teniendo en cuenta que a mayor % de transmitancia menor concentración de microorganismos.

Tabla N°1 Preparación de las diluciones del extracto natural para ensayo.

N°	PESO	DMSO	ALÍCUOTA	CONCENTRACIÓN FINAL
1	285 mg	3 ml	0.5 ml	5000ppm
2	228 mg	3 ml	0.5 ml	4000ppm
3	171 mg	3 ml	0.5 ml	3000ppm
4	114 mg	3 ml	0.5ml	2000ppm
5	57 mg	3 ml	0.5 ml	1000ppm
6	28.5 mg	3 ml	0.5 ml	500ppm
7	14.25 mg	3 ml	0.5 ml	250ppm
8	5.7 mg	3 ml	0.5 ml	100ppm
9	2.85 mg	3 ml	0.5 ml	50ppm
10	1.42 mg	3 ml	0.5 ml	25ppm

**Concentración 5000 ppm.**

Para preparar la concentración de 5000.0 $\mu\text{g/mL}$ se pesan 285.0 mg de preservante y se disuelven con 3.0 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) obteniendo una concentración de 95.0 mg/mL, de esta dilución se toma una alícuota de 0.5 mL con pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo de ensayo que contenga 9.5 mL de Agar estéril Digerido de Caseína y Soja (DCS) fundido, obteniendo una concentración final de 5000.0 $\mu\text{g/mL}$, se agita para homogenizar y se vierte en una placa de petri estéril para dejar solidificar. Rotular las placas con la concentración correspondiente.

Concentración 4000 ppm.

Para preparar la concentración de 4000.0 $\mu\text{g/mL}$ se pesan 228 mg de preservante y se disuelven con 3.0 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO), obteniendo una concentración de 76 mg/ml, de esta dilución se toma una alícuota de 0.5 mL con pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo de ensayo que contenga 9.5 mL de Agar estéril Digerido de Caseína y Soja (DCS) fundido, obteniendo una concentración final de 4000.0 $\mu\text{g/mL}$, se agita para homogenizar y se vierte en una placa de petri estéril para dejar solidificar. Rotular las placas con la concentración correspondiente.

Concentración 3000 ppm.

Para preparar la concentración de 3000.0 $\mu\text{g/mL}$ se pesan 171.0 mg de preservante y se disuelven con 3.0 mL de DMSO obteniendo una concentración de 57.0 mg/mL, de esta dilución se toma una alícuota de 0.5 mL con pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo de ensayo que contenga 9.5 mL de agar estéril DCS fundido, obteniendo una concentración final de 3000.0 $\mu\text{g/mL}$, se agita para homogenizar y se vierte en una placa de petri estéril para dejar solidificar. Rotular las placas con la concentración correspondiente.

Concentración 2000 ppm.

Para preparar la concentración de 2000.0 $\mu\text{g/mL}$ se pesan 114 mg de preservante y se disuelven con 3.0 mL de DMSO, obteniendo una concentración de 38mg/ml, de esta dilución se toma una alícuota de 0.5 mL con pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo de ensayo que contenga 9.5



mL de agar estéril DCS fundido, obteniendo una concentración final de 2000.0 $\mu\text{g/mL}$, se agita para homogenizar y se vierte en una placa de petri estéril para dejar solidificar. Rotular las placas con la concentración correspondiente.

Concentración 1000 ppm.

Para la preparación de la concentración de 1000.0 $\mu\text{g/mL}$ se pesan 57.0 mg del preservante y se disuelven con 3.0 mL de DMSO, obteniendo una concentración de 19.0 mg/mL, de esta dilución se toma una alícuota de 0.5 mL con pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo de ensayo que contenga 9.5 mL de agar estéril DCS fundido, obteniendo una concentración final de 1000.0 $\mu\text{g/mL}$, se agita para homogenizar y se vierte en una placa de petri estéril para dejar solidificar. Rotular las placas con la concentración correspondiente.

Concentración 500 ppm.

Para la preparación de la concentración de 500.0 $\mu\text{g/mL}$ se pesan 28.5 mg del preservante y se disuelven con 3.0 mL de DMSO, obteniendo una concentración de 9.5 mg/mL, de esta dilución se toma una alícuota de 0.5 mL con pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo de ensayo que contenga 9.5 mL de agar estéril DCS fundido, obteniendo una concentración final de 500 $\mu\text{g/mL}$, se agita para homogenizar y se vierte en una placa de petri estéril para dejar solidificar. Rotular las placas con la concentración correspondiente.

Concentración 250 ppm.

Para la preparación de la concentración de 250.0 $\mu\text{g/mL}$, se pesan 14.25 mg de la muestra y se disuelven con 3 mL de DMSO, obteniendo una concentración de 4.75mg/ml, de esta dilución se toma una alícuota de 0.5 mL con pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo de ensayo que contenga 9.5 mL de agar estéril DCS fundido, obteniendo una concentración final de 250 $\mu\text{g/mL}$, se agita para homogenizar y se vierte en una placa de petri estéril para dejar solidificar. Rotular las placas con la concentración correspondiente.



Concentración 100 ppm.

Para la preparación de la concentración de $100.0 \mu\text{g/mL}$, se pesan 5.7mg de la muestra y se disuelven con 3 mL de DMSO, obteniendo una concentración de 1.9mg/ml , de esta dilución se toma una alícuota de 0.5 mL con pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo de ensayo que contenga 9.5 mL de agar estéril DCS fundido, obteniendo una concentración final de $100 \mu\text{g/mL}$, se agita para homogenizar y se vierte en una placa petri estéril para dejar solidificar. Rotular las placas con la concentración correspondiente.

Concentración 50 ppm.

Para la preparación de la concentración de $50.0 \mu\text{g/mL}$, se pesan 2.85mg de la muestra y se disuelven con 3 mL de DMSO, obteniendo una concentración de 0.95 mg/mL , de esta dilución se toma una alícuota de 0.5 mL con pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo de ensayo que contenga 9.5 mL de agar estéril DCS fundido, obteniendo una concentración final de $50 \mu\text{g/mL}$, se agita para homogenizar y se vierte en una placa de petri estéril para dejar solidificar. Rotular las placas con la concentración correspondiente.

Concentración 25 ppm.

Para la preparación de la concentración de $25.0 \mu\text{g/mL}$, se pesan 1.42 mg de la muestra y se disuelven con 3 mL de DMSO, obteniendo una concentración de 0.47mg/ml , de esta dilución se toma una alícuota de 0.5 mL con pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo de ensayo que contenga 9.5 mL de agar estéril DCS fundido, obteniendo una concentración final de $25 \mu\text{g/mL}$, se agita para homogenizar y se vierte en una placa de petri estéril para dejar solidificar. Rotular las placas con la concentración correspondiente.



Preparación de los medios

Agar estéril Digerido Caseína Soja (DCS)

Para preparar el agar DCS: 8g en 200ml de agua.

- 1- Se pesó una cantidad necesaria de Agar Digerido Caseína y Soja.
- 2- Se transfirió a un Erlenmeyer.
- 3- Se disolvió con cantidad necesaria de agua hirviendo y agitar a temperatura para facilitar la disolución de los grumos y alcanzar la transparencia.
- 4- Se hizo una medición inicial de pH garantizando que este sea 7.3 ± 0.2
- 5- Se transfirió 9.5 ml de agar a cada tubo de ensayo.
- 6- Colocar los tubos de ensayo en un Beaker y retapar.
- 7- Se autoclavó a 121°C durante 15 minutos.
- 8- Se hizo una medición final de pH verificando que no haya variabilidad.

Preparación del control positivo de clorhidrato de ciprofloxacina 500 mg tableta

Dada la ausencia de un estándar puro, se utilizó una muestra de farmacia procedente de un laboratorio de referencia (MK) el cual cumple con altos estándares de calidad que proporcionan fiabilidad a los resultados.

- Se pesaron 10 tabletas de Clorhidrato de Ciprofloxacina 500mg, obteniendo un peso promedio de 768.96mg.
- Se trituraron en un mortero y pilón hasta obtener polvo fino de las tabletas.
- Se realizaron los cálculos correspondientes para pesar la cantidad de polvo equivalente a la cantidad de principio activo a pesar.
- Obtenidos los cálculos, pesamos del polvo de las tabletas 438.31 mg, 350.57 mg, 262.93mg, 175.28mg, 87.64mg, 43.82mg, 21.91mg, 8.76mg, 4.38mg y 2.19mg, lo disolvimos en 3 ml de Dimetilsulfóxido (DMSO) se agitó hasta completa disolución.
- Se tomó una alícuota de 0.5ml y se llevó a un tubo de ensayo que contenía 9.5ml de agar estéril DCS.



- Se vertió en los platos y se agitó delicadamente hasta homogenizar y esperando su solidificación.
- De esta manera se obtuvieron las concentraciones de 5000ppm, 4000ppm, 3000ppm, 2000ppm, 1000ppm, 500ppm, 250ppm, 100ppm, 50ppm, 25 ppm, respectivamente.

Preparación de los platos

Después de esterilizar en el agar dejar enfriar en baño maría a 55 °C asépticamente.

Una vez identificado los platos según su número de muestra, número de concentración y plantilla para rayado de los microorganismos, vertimos en cada plato Petri 9.5 ml y 0.5 ml de la mezcla de la muestra con el solvente correspondiente y agitar suavemente la mezcla para homogenizar, y esperar que el agar se solidifique.

Rayado de microorganismos

Cuando los platos Petri se preparan se inoculan mediante rayado horizontal con el microorganismo en turno con el aplicador previamente esterilizado o un asa de inoculación.

Cuando todos los platos han sido rayados con los microorganismos se deben incubar a 37 °C por 48 horas; estos platos se incuban de forma invertida para evitar que las gotas de agua condensada puedan caer sobre los microorganismos y afectar su crecimiento.



VI. RESULTADOS

Las concentraciones de las muestras y control positivo se trabajaron en los siguientes rangos:

Muestra: 5000ppm, 4000ppm, 3000ppm, 2000ppm, 1000ppm, 500ppm, 250ppm, 100 ppm, 50ppm, 25ppm.

A estas concentraciones se trabajaron todos los microorganismos y así mismo para el control positivo de Clorhidrato de Ciprofloxacina 500mg tableta.

Para términos de interpretación de resultados en los diferentes cuadros se utilizó la siguiente simbología:

(+) crecimiento de bacteria

(-) no crecimiento de bacteria

(SS) *Salmonella spp*

(ST) *Staphylococcus epidermides*,

(EC) *Escherichia coli*

Los resultados fueron interpretados por triplicado para evitar resultados ineficaces o inválidos, producto de un error humano y a diez concentraciones diferentes con el propósito de encontrar la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) y la Concentración Mínima Bactericida en una sustancia que diera positiva su actividad antimicrobiana ante las bacterias en estudio.

A continuación, presentamos los resultados de las lecturas obtenidas del ensayo contra las bacterias.



TABLA N° 2 Resultado de Clorhidrato de Ciprofloxacina 500mg tableta contra *Staphylococcus epidermides*. (Ver ANEXO N°6)

		<i>Staphylococcus epidermides</i>																			
Lab.	MUESTRA	5000 ppm	4000 ppm	3000 ppm	2000 ppm	1000 ppm	500 ppm	250 ppm	100 ppm	50 ppm	25 ppm										
MK	Clorhidrato de Ciprofloxacina 500mg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TABLA N°3. Resultado de Clorhidrato de Ciprofloxacina 500mg tableta contra *Escherichia coli*. (Ver ANEXO N°6)

		<i>Escherichia coli</i>																			
Lab.	MUESTRA	5000 ppm	4000 ppm	3000 ppm	2000 ppm	1000 ppm	500 ppm	250 ppm	100 ppm	50 ppm	25 ppm										
MK	Clorhidrato de Ciprofloxacina 500mg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

TABLA N°4. Resultado de Clorhidrato de Ciprofloxacina 500mg tableta contra *Salmonella spp.* (Ver ANEXO N°6)

		<i>Salmonella spp</i>																			
Lab.	MUESTRA	5000 ppm	4000 ppm	3000 ppm	2000 ppm	1000 ppm	500 ppm	250 ppm	100 ppm	50 ppm	25 ppm										
MK	Clorhidrato de Ciprofloxacina 500mg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



TABLA N°5. RESULTADO PARA BACTERIA *Staphylococcus epidermides*.

N°	CÓDIGO	ESPECIE	<i>Staphylococcus epidermides</i>																																			
			5000 ppm			4000 ppm			3000 ppm			2000 ppm			1000 ppm			500 ppm			250 ppm			100 ppm			50 ppm			25 ppm								
1	C7576	<i>Marcgravia nepenthoides Seem</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
2	C7589	<i>Quercus oleoides Schltld. & Cham.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3	C7607	<i>Tillandsia juncea (Ruiz & Pav.) Poir.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4	C7609	<i>Jatropha stevensii G.L Webster</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5	C7611	<i>Lonchocarpus acuminatus (Schittdl.) M. Sousa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6	C7616	<i>Homalium racemosum Jacq.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
7	C7617	<i>Inga laurina (Sw.) Willd.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
8	C7619	<i>Ochroma pyramidale (Cav. Ex Lam) Urb.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
9	C7624	<i>Inga densiflora Benth</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
10	C7626	<i>Inga spectabilis (Vahl) Willd.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
11	C7630	<i>Luehea seemannii Triana & Planch.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
12	C7634	<i>Indigofera suffruticosa Mill.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
13	C7646	<i>Inga leiocalycina Benth.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
14	R20681	<i>Ficus maxima Mill.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
15	R20691	<i>Tephrosia nicaraguensis Oerst.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
16	R20706	<i>Triumfetta calderonii Standl.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
17	R20709	<i>Inga samanensis L. Uribe</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	R20717	<i>Albizia adinocephala (Donn. Sm.) Britton & Rose ex Record</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
19	R20728	<i>Zygia latifolia (L.) Fawc. & Rendle</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	R20736	<i>Tournefortia bicolor Sw.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



TABLA N°6. RESULTADO PARA BACTERIA *Escherichia coli*

N°	CÓDIGO	ESPECIE	<i>Escherichia coli</i>																				
			5000 ppm	4000 ppm	3000 ppm	2000 ppm	1000 ppm	500 ppm	250 ppm	100 ppm	50 ppm	25 ppm											
1	C7576	<i>Marcgravia nepenthoides</i> Seem	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	C7589	<i>Quercus oleoides</i> Schlttdl. & Cham.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	C7607	<i>Tillandsia juncea</i> (Ruiz & Pav.) Poir.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	C7609	<i>Jatropha stevensii</i> G.L Webster	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	C7611	<i>Lonchocarpus acuminatus</i> (Schittdl.) M. Sousa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	C7616	<i>Homalium racemosum</i> Jacq.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	C7617	<i>Inga laurina</i> (Sw.) Willd.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	C7619	<i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. Ex Lam) Urb.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	C7624	<i>Inga densiflora</i> Benth	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	C7626	<i>Inga spectabilis</i> (Vahl) Willd.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	C7630	<i>Luehea seemannii</i> Triana & Planch.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	C7634	<i>Indigofera suffruticosa</i> Mill.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	C7646	<i>Inga leiocalycina</i> Benth.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	R20681	<i>Ficus maxima</i> Mill.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	R20691	<i>Tephrosia nicaraguensis</i> Oerst.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	R20706	<i>Triumfetta calderonii</i> Standl.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	R20709	<i>Inga samanensis</i> L. Uribe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	R20717	<i>Albizia adinocephala</i> (Donn. Sm.) Britton & Rose ex Record	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	R20728	<i>Zygia latifolia</i> (L.) Fawc. & Rendle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	R20736	<i>Tournefortia bicolor</i> Sw.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



TABLA N°7. RESULTADO PARA BACTERIA *Salmonella spp*

N°	CÓDIGO	ESPECIE	<i>Salmonella spp</i>																				
			5000 ppm	4000 ppm	3000 ppm	2000 ppm	1000 ppm	500 ppm	250 ppm	100 ppm	50 ppm	25 ppm											
1	C7576	<i>Marcgravia nepenthoides</i> Seem	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	C7589	<i>Quercus oleoides</i> Schltdl. & Cham.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	C7607	<i>Tillandsia juncea</i> (Ruiz & Pav.) Poir.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	C7609	<i>Jatropha stevensii</i> G.L Webster	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	C7611	<i>Lonchocarpus acuminatus</i> (Schittld.) M. Sousa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	C 7616	<i>Homalium racemosum</i> Jacq.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	C7617	<i>Inga laurina</i> (Sw.) Willd.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	C7619	<i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. Ex Lam) Urb.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9	C7624	<i>Inga densiflora</i> Benth	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	C7626	<i>Inga spectabilis</i> (Vahl) Willd.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	C7630	<i>Luehea seemannii</i> Triana & Planch.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	C7634	<i>Indigofera suffruticosa</i> Mill.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	C7646	<i>Inga leiocalycina</i> Benth.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	R20681	<i>Ficus maxima</i> Mill.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	R20691	<i>Tephrosia nicaraguensis</i> Oerst.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	R20706	<i>Triumfetta calderonii</i> Standl.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	R20709	<i>Inga samanensis</i> L. Uribe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	R20717	<i>Albizia adinocephala</i> (Donn. Sm.) Britton & Rose ex Record	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	R20728	<i>Zygia latifolia</i> (L.) Fawc. & Rendle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	R20736	<i>Tournefortia bicolor</i> Sw.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



VII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Estándar de Clorhidrato de Ciprofloxacina 500mg tableta.

Se realizó un estándar de referencia de Clorhidrato de Ciprofloxacina, con el objetivo de garantizar que los resultados obtenidos de las 20 especies vegetales sean comparados y tengan una base de referencia que asegure la confiabilidad de los resultados. (Ver Anexo N°6)

En las tablas 2, 3 y 4 respecto a los resultados obtenidos podemos observar la inhibición total del crecimiento de las bacterias (SP, EC, SS) siendo la base principal para la comparación y exactitud de los resultados con referente a las muestras.

Se realizó un control positivo para cada microorganismo y un control negativo para el medio.

TABLA N°5. RESULTADO PARA BACTERIA *Staphylococcus e.*

En esta tabla se reflejan los resultados obtenidos de las 20 especies vegetales en la aplicación del Método Mitscher contra el microorganismo *Staphylococcus epidermides*, en concentraciones que van de los 5000ppm – 25ppm por triplicado garantizando la precisión y confiabilidad de los resultados obtenidos.

Esta tabla indica la capacidad de potencia microbiana para cada especie en estudio, dando positivo el crecimiento de las bacterias en la totalidad de concentraciones y réplicas realizadas. Es decir, que ninguna especie cuenta con la Cantidad Mínima Inhibitoria o Máxima Bactericida para evitar el crecimiento de el microorganismo Gram Positivo como *Staphylococcus e.*

**TABLA N°6. RESULTADO PARA BACTERIA *Escherichia coli***

En esta tabla se reflejan los resultados obtenidos de las 20 especies vegetales en la aplicación del Método Mitscher contra el microorganismo *Escherichia coli*, en concentraciones que van de los 5000ppm – 50ppm por triplicado garantizando la precisión y confiabilidad de los resultados obtenidos.

Esta tabla indica la capacidad de potencia microbiana para cada especie en estudio, dando positivo el crecimiento en la totalidad de concentraciones y réplicas realizadas. Es decir, ninguna especie cuenta con la Cantidad Mínima Inhibitoria o Máxima Bactericida para evitar el crecimiento de el microorganismo Gram negativo como *Escherichia coli*.

TABLA N°7. RESULTADO PARA BACTERIA *Salmonella spp*

En esta tabla se reflejan los resultados obtenidos de las 20 especies vegetales en la aplicación del Método Mitscher contra el microorganismo *Salmonella spp*, en concentraciones que van de los 5000ppm – 50ppm por triplicado garantizando la precisión y confiabilidad de los resultados obtenidos.

Esta tabla indica la capacidad de potencia microbiana para cada especie en estudio, dando positivo el crecimiento en la totalidad de concentraciones y réplicas realizadas. Es decir, ninguna especie cuenta con la Cantidad Mínima Inhibitoria o Máxima Bactericida para evitar el crecimiento de el microorganismo Gram negativo como *Salmonella spp*.



VIII. CONCLUSIÓN

El método de Mitscher es el más utilizado en nuestra universidad por ser garante de datos fidedignos mediante su facilidad de aplicación y su bajo coste.

La utilización de clorhidrato de ciprofloxacina 500mg tableta como referencia, se da tomando en cuenta que es un antibiótico perteneciente a la segunda generación de las quinolonas, la sensibilidad que muestran los microorganismos aplicados ante éste y su amplio espectro de acción.

Se evaluó la actividad antimicrobiana de 20 especies vegetales mediante la aplicación del Método Mitscher, preparando diez concentraciones por triplicado de las muestras vegetales en medio DCS que van desde 5000ppm – 25ppm, para su posterior rayado e incubación, los resultados obtenidos de las 20 muestras vegetales se compararon con los resultados obtenidos del control positivo de clorhidrato de ciprofloxacina de 500mg tableta, logrando evidenciar que ninguna muestra de las especies vegetales recolectadas presentaron actividad antimicrobiana contra los microorganismos *Staphylococcus epidermides*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*



IX. RECOMENDACIONES

I. Aplicación del método de Mitscher:

- Realizar las Buenas prácticas de laboratorio entre esas se encuentra el uso de bata bien abrochada, guantes, nasobuco, jabón líquido y alcohol antes y después de la manipulación del equipo y los materiales, también mantener el área de trabajo siempre limpia, ordenada y estéril.
- Utilización de micropipetas para obtener las cantidades correctas y así evitar margen de errores al momento de la medición.
- Las incubaciones deben realizarse en el tiempo establecido del sembrado para hacer las suspensiones entre 18 y 24 horas a una temperatura de 37 grados C°.
- Realizar el rayado de placas por triplicado para minimizar errores al momento de comparar las placas.
- Realizar evaluaciones de la actividad antimicrobiana, siempre utilizando el método Mitscher, sobre otros tipos de bacterias que no se abordaron en este estudio, así como también en hongos.
- Incluir el método de Mitscher para la determinación de la actividad antimicrobiana dentro de los programas de estudio del componente de farmacognosia y microbiología en la carrera de licenciatura en Química y Farmacia, por ser un método fácil, rápido y reproducible, permite procesar gran número de muestras a la vez y produce datos valiosos.



X. BIBLIOGRAFÍA

- 1- García, E., Hernández, L. & García, P. (2016). Investigación en plantas de importancia médica. 2018, de OmniaScience Sitio web: <http://www.omniascience.com/monographs/index.php/monograficos/article/viewFile/334/247>
- 2- Cañas, C., Rivera, N. & Verence, M. (2012). Aplicación del método Mitscher en la determinación de la actividad antimicrobiana de un preservante natural patentado sobre Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Candida albicans. 2014, de Repositorio Institucional Universidad de El Salvador Sitio web: <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2534>
- 3- Instituto Nacional de Alergias y Enfermedades Infecciosas. (2012). Infecciones por Escherichia coli. 2018, de MedlinePlus Sitio web: <https://medlineplus.gov/spanish/ecoliinfections.html>
- 4- Pinilla, G. & Muñoz, L. (2009). Aislamiento de Staphylococcus epidermidis portador de integrón clase 1 en un paciente con sepsis neonatal. 2018, de ASOCIACIÓN COLOMBIANA DE INFECTOLOGÍA Sitio web: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v13n3/v13n3a07.pdf>
- 5- Fuentes, L. & Moreno, E. (2011). Perfil de riesgo Salmonella spp. 2018, de Unidad de Evaluación de Riesgos para la Inocuidad de los Alimentos UERIA Instituto Nacional de Salud INS Sitio web: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/perfil-salmonella-spp.pdf>
- 6- Herrera, G., Sotelo, A., (1999). "Evaluación de la actividad antimicrobiana en cepas de Pseudomonas aeruginosa y Klebsiella pneumoniae de 59 especies de plantas que



fueron colectadas en la biodiversidad vegetal de la estación biológica Bartola-Río San Juan". 2018.

- 7- J. Bot. (1870). Journal of Botany, British and Foreign. 2018, de Trópicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/19800082?projectid=7>
- 8- Schltld. & Cham.. (Jan 1830). Quercus oleoides. 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13100316?projectid=7>
- 9- Poirlet, J. & Louis, M. . (1817). Tillandsia juncea. 2018, de trópicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/4300724?projectid=7>
- 10- Missouri, A. & Gard, N.. (1987). Jatropha stevensii. 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/12805913?projectid=7>
- 11- Missouri, A. & Gard, N.. (1987). Lonchocarpus acuminatus. 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13069136?projectid=7>
- 12- Nicolaus, J. & Von, J. . (1760). Homalium racemosum. 2018, de Trópicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13200438?projectid=7>
- 13- Willdenow, C. & Ludwig, Von. . (1806). Inga laurina. 2018, de Tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13021281?projectid=7>
- 14- Repert, S, Nov, R. & Veg, B.. (30 Jun 1920). Ochroma pyramidale. 2018, de Trópicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/3900204?projectid=7>
- 15- Trans, L & Soc, L.. (1875). Inga desinflora . 2018, de Tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13006216?projectid=7>
- 16- Carl, L.. (1806). Inga spectabilis. 2018, de Tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13021384?projectid=7>



- 17- Ann. M & Nat. & Bot., & G.. (1853). *Luehea seemanii*. 2018, de Tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/32200236?projectid=7>
- 18- Gard.D. (1806). *Indigofera suffruticosa* . 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13021076?projectid=7>
- 19- London., J. Bot.. (1845). *Inga leiocalycina* Benth. 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13008789?projectid=7>
- 20- Gard.& Dict. . (1768). *Ficus maxima* Mill. 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/21300608?projectid=7>
- 21- Vidensk.& M.& Dansk., Naturhist. Foren. Kjøbenhavn) Name publication detailView in Biodiversity Heritage Library . (1853). *Tephrosia nicaraguensis* Oerst. 2018, de Tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13003471?projectid=7>
- 22- J. Wash.& Acad. S.. (1924). *Triumfetta calderonii* Standl. 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/32200477?projectid=7>
- 23- Mutisia. (1952). *Inga samanensis*. 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13008945?projectid=7>
- 24- Trop. Woods. (1927). *Albizia adinocephala*. 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13007698?projectid=7>
- 25- Fl. Jamaica. (1920). *Zygia latifolia* . 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/13013104?projectid=7>
- 26- Prodr. (1788). *Tournefortia bicolor* Sw. 2018, de tropicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/Name/4000609?projectid=7>
- 27- Missouri Botanical Garden. (2012). Flora de Nicaragua. 2018, de Trópicos Sitio web: <http://www.tropicos.org/projectwebportal.aspx?pagename=Home&projectid=7>



- 28- Missouri Botanical Garden. (2012). HULE. 2018, UNAN-León. Sitio web:
<http://www.herbario.unanleon.edu.ni/Taxa.html>
- 29- Blandon, S. & Ordeñana, Y. Caracterización de las especies arbóreas presentes en el bosque seco tropical en el norte de Nicaragua del paisaje terrestre Miraflores-Moropotente. (2012). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. UNAN-MANAGUA.
- 30- Robbins. R.L; Familia; Sapindaceae, en Flora de Nicaragua; Rueda, R; Universidad Nacional autónoma de León, Pág. 26.
- 31- BRUNENTON, J. 1999 Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants. 2ed. París FR. Lavoisier Publishing 309, 369, 855, 1017, 1019 p.
- 32- MARTINEZ A. 2000 Fundamentos de Agrotecnología de Cultivo de Plantas Medicinales Iberoamericanas. Santa Fe, CO.
- 33- REMINGTON, A. 1987 Farmacia. 17ed. Buenos Aires, AR. Edit. Médica Panamericana S.A. p1185



XI. ANEXOS



ANEXO N° 1
ABREVIATURAS Y GLOSARIO





ABREVIATURAS

1. **%**: por ciento.
2. **µg/mL**: microgramos por mililitros
3. **µL**: microlitro.
4. **ADC**: Agar Digerido de Caseina Soya
5. **AMP**: Adenosín monofato cíclico.
6. **ATP**: Trifosfato de adenosina.
7. **A_w**: Actividad del agua.
8. **CBM**: Concentración Mínima Bacteriana.
9. **CIM**: Concentración Mínima Inhibitoria.
10. **DMSO**: Dimetilsulfóxido.
11. **etc**: etcétera.
12. **ETL**: Enterotoxina Termolábil.
13. **g**: gramos
14. **HEODRA**: Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales Argüello.
15. **KRIBB**: Korean Institute of Research in Bioscience and Biotechnology
16. **mg**: miligramos.
17. **mL**: mililitros
18. **mm**: milímetros.
19. **°C**: grados centígrados.
20. **OMS**: Organización Mundial de Salud
21. **pH**: Concentración de iones hidrógeno.
22. **ppm**: partes por millón.
23. **TL**: Termolábil.
24. **TS**: Toxina termoestable.
25. **UFC**: Unidades Formadoras de Colonias.





GLOSARIO

1. **Acaulescentes:** Sin tallo, con todas las hojas en la base.
2. **Actividad antimicrobiana:** Capacidad de matar/destruir/inactivar microorganismos, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena.
3. **Antígenos:** Sustancia que al introducirse en el organismo induce en este una respuesta inmunitaria, provocando la formación de anticuerpos.
4. **Ápice hialino:** Hojas muy pequeñas sésiles, soldadas entre sí.
5. **Apiculado:** Se dice de las plantas y arbustos que está provisto de punta en cualquiera de sus órganos.
6. **Bacilos:** La palabra bacilo se usa para describir cualquier bacteria con forma de barra o vara, y pueden encontrarse en muchos grupos taxonómicos diferentes tipos de bacterias.
7. **Bacteria esporulante:** Microorganismo que forma esporas.
8. **Bioactividad:** Es la capacidad que tiene el material de interactuar químicamente con los tejidos (blandos y duros) del organismo.
9. **Biomateriales:** Son materiales farmacológicamente inertes, utilizados para ser incorporados o implantados dentro de un organismo vivo para reemplazar o restaurar alguna función permaneciendo en contacto permanente o intermitente con fluidos corporales.
10. **Biopelículas:** Es una estructura colectiva de microorganismos que se adhiere a superficies vivas o inertes y está revestida por una capa protectora segregada por los propios microorganismos.





11. **Cactáceos:** perteneciente a una familia de plantas dicotiledóneas, de origen americano, adaptadas al clima desértico mediante un tallo carnoso y hojas reducidas.
12. **Carinado:** Dícese del órgano provisto de una línea en resalto, a modo de quilla o gluma carinada.
13. **Cepa microbiana:** La cepa bacteriana es una colonia de bacterias (PURE). Lo que significa que todas las células son de la misma especie, y es necesario transferir una pequeña colonia varias veces a sus características físicas (forma de colonia, color, tamaño, etc.). Las cepas se pueden mantener en cultivos de agar en placas de Petri, en medio líquido o criopreservadas (congeladas).
14. **Compuesto puro:** Materia que contiene sólo un tipo de átomo o molécula.
15. **Conservadores sintéticos:** Sustancia o mezcla de sustancias que previene, retarda, que detiene la fermentación o enmohecimiento la acidificación u otra alteración de los productos causados por los microorganismos y algunas enzimas.
16. **Coprocultivo:** examen coproparasitoscópico consiste en el cultivo de materia fecal. Es un método de diagnóstico microbiológico que permite identificar diferentes organismos causantes de enfermedades gastrointestinales.
17. **Cuspidado:** Acabado en punta o cúspide.
18. **Disfusión en agar:** El método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) es empleado para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o quimioterápico. Este método comprende lo que se denomina un antibiograma o prueba de susceptibilidad bacteriana frente a drogas específicas.





19. **Endocarditis:** La endocarditis es una inflamación de la membrana interna del corazón. El tipo más común, la endocarditis bacteriana, ocurre cuando los gérmenes entran al corazón. Estos gérmenes viajan por la sangre desde otra parte del cuerpo, con frecuencia, desde la boca. La endocarditis bacteriana puede dañar las válvulas del corazón.
20. **Estipitadas:** Provisto de pedículo, como el ovario de algunos gineceos.
21. **Extracto:** Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta, semilla u otra cosa por diversos procedimientos.
22. **Ferrugíneo:** Del color del hierro oxidado.
23. **Fimbrias:** Es una porción terminal u orla de un órgano dividido en segmentos muy finos, como cilios.
24. **Glabrescentes:** se aplica al órgano vegetal que tiene muy poco vello o que lo pierde.
25. **Glabros:** Que no tiene pelo estructura vegetal glabra.
26. **Hirsutas:** Que está cubierto de este tipo de pelo o de púas o espinas.
27. **Hojas bipinnadas:** Hojas compuestas en las que cada una de las hojuelas se vuelve a dividir a su vez en hojuelas más pequeñas.
28. **Hojas Elípticas:** Son las que presenta la forma de óvalo. La acorazonada es la que tiene un ápice agudo y puede ser más ancha en la parte cercana de la raíz. Y las dentadas son las que tienen el borde en forma de festón o de onda.
29. **Hojas oblongas:** Hoja o folíolo más largo que ancho, con nervios paralelos a los bordes y extremos redondeados.





30. **Inoculo:** El término también se usa para referirse a los organismos simbióticos o patógenos transferidos por cultivo.
31. **Lenticelada:** es una protuberancia del tronco y ramas de los árboles que se ve a simple vista y que tiene un orificio lenticular; se utiliza para el intercambio de gases en sustitución de las estomas y no de los lisosomas de la epidermis ya desaparecida.
32. **Medicina herbolaria:** también conocida por el nombre, Fitoterapia, es una actividad que consiste en extraer, para luego usar en un tratamiento, plantas que ostentan características medicinales, o en su defecto, los derivados de estas, como dijimos, con absolutos fines terapéuticos, ya sea para prevenir o tratar enfermedades.
33. **Mesófilas:** son las Bacteria que descomponen la materia orgánica a temperaturas que oscilan entre 30 y 40 C.
34. **Metabolito:** Es cualquier sustancia producida durante el metabolismo (digestión u otros procesos químicos corporales). El término metabolito también se puede referir al producto que queda después de la descomposición (metabolismo) de un fármaco por parte del cuerpo.
35. **Microorganismos aerobios:** Son los organismos que requieren de oxígeno para vivir.
36. **Microorganismos microaerófilos:** Son aquellos microorganismos que para sobrevivir, requieren niveles de oxígeno muy inferiores a los que se encuentran normalmente en la atmósfera de la tierra.
37. **Omnipresente:** Que está presente en todas partes al mismo tiempo.
38. **Ovadas:** forma ovoide.





39. **Pedicelos:** Es la estructura que une a la flor o al fruto con la rama que la sostiene o con otra estructura más compleja. También se le conoce como pedúnculo.
40. **Perinnofolios:** procede del latín perennis, duradero, perenne, y de folium, hoja.
41. **Plantas monoicas:** es aquella que contiene a la vez unidades reproductivas (flores, conos o unidades equivalentes) masculinas (que tienen los estambres, órganos masculinos generadores del polen) y femeninas (que tienen gineceo, órgano femenino generador de los óvulos).
42. **Polísticas:** Dícese de lo que está dispuesto en varias filas.
43. **Posténtericas:** El síndrome postenteritis, también denominado síndrome post gastroenteritis o diarrea persistente post-entérica, hace referencia a la persistencia de la diarrea luego de un episodio agudo de gastroenteritis.
44. **Presión osmótica:** La presión osmótica puede definirse como la presión que se debe aplicar a una solución para detener el flujo neto de disolvente a través de una membrana semipermeable.
45. **Resistencia antimicrobiana:** La resistencia a los antimicrobianos (farmacoresistencia) se produce cuando los microorganismos, sean bacterias, virus, hongos o parásitos, sufren cambios que hacen que los medicamentos utilizados para curar las infecciones dejen de ser eficaces.
46. **Serotipos o serovar:** Es un tipo de microorganismo infeccioso clasificado según los antígenos que presentan en su superficie celular.
47. **Subcordada:** Forma de corazón.





48. **Susceptibilidad antimicrobiana:** Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. La fecundación in vitro es un ejemplo ampliamente conocido.
49. **Termolábil:** sustancia que se descompone o se desnaturaliza por el calor, perdiendo, generalmente su actividad.
50. **Tinte violáceo:** Color como el de la violeta.
51. **Tomentoso:** es un término utilizado para describir los pelos de plantas que se doblan y son enmarañados, formando capas de lana.
52. **Tomentulosos:** Ligeramente tomentoso.
53. **Tricomas:** Son excrecencias de origen epidérmico, de formas muy variables y glandulares o no, presentes en vegetales. Pueden hallarse vivos o muertos a su madurez y tienen caracteres suficientemente constantes en distintas especies como para llegar a tener mucho valor en la identificación de plantas.
54. **Variegadas:** Variegación o la denominación científica de 'Variegata' es la apariencia de zonas diferentemente coloreadas en las hojas y a veces en el tallo de las plantas.
55. **Velutina:** Es una especie de orquídea.
56. **Virulencia:** Grado o la capacidad que tiene el microorganismo para causar daño.
57. **Volatilización:** Es el cambio de estado que ocurre cuando una sustancia pasa del estado sólido al gaseoso, por aumento de la temperatura, sin pasar por el estado líquido intermedio.



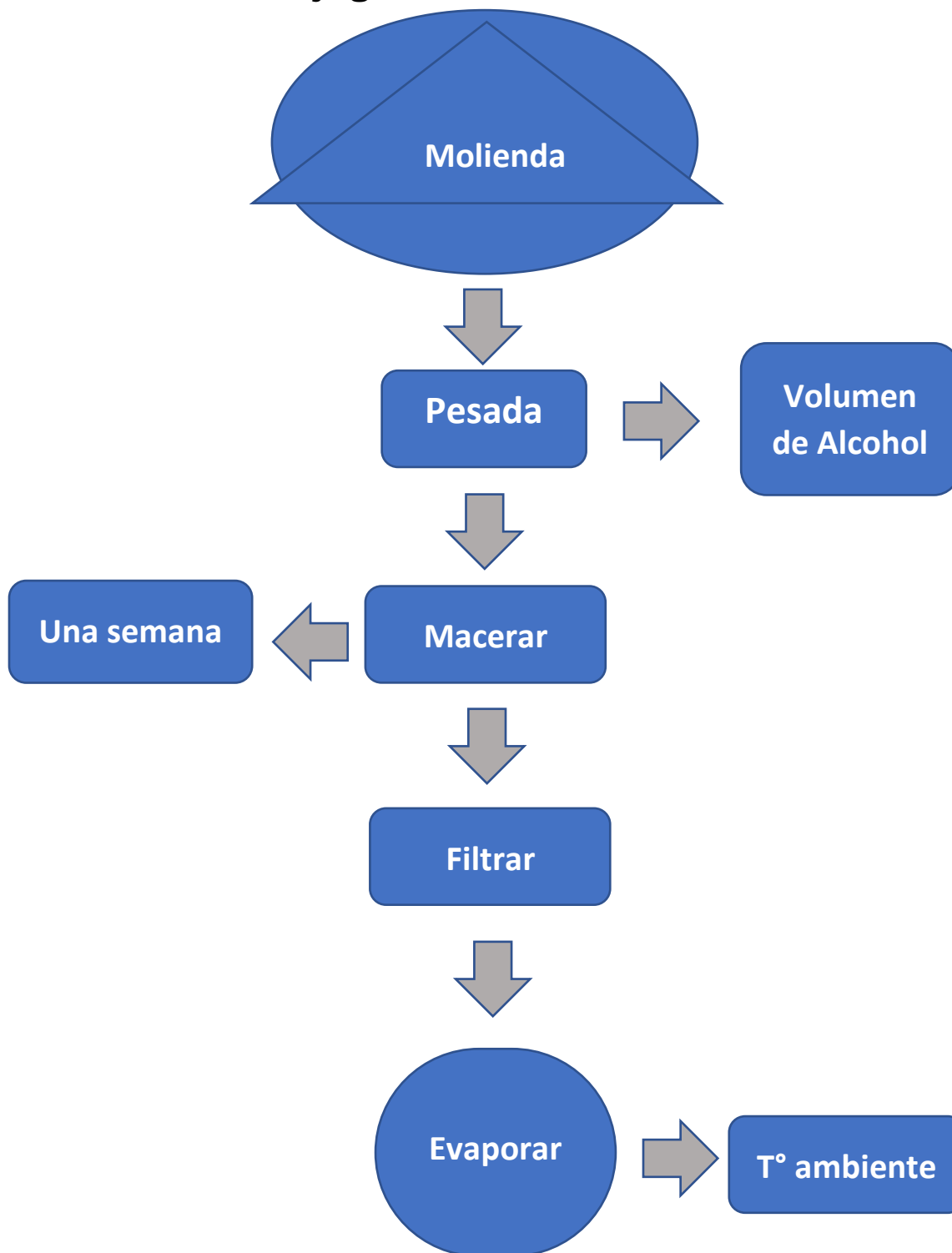


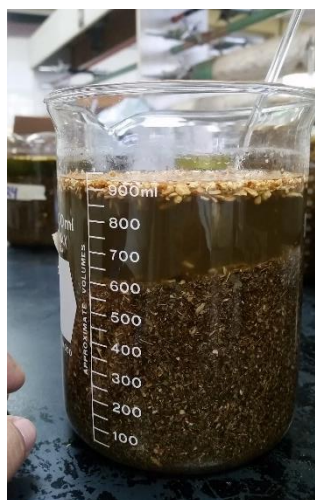
ANEXO N° 2
EXTRACCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL
(20 ESPECIES)





Flujograma de Proceso





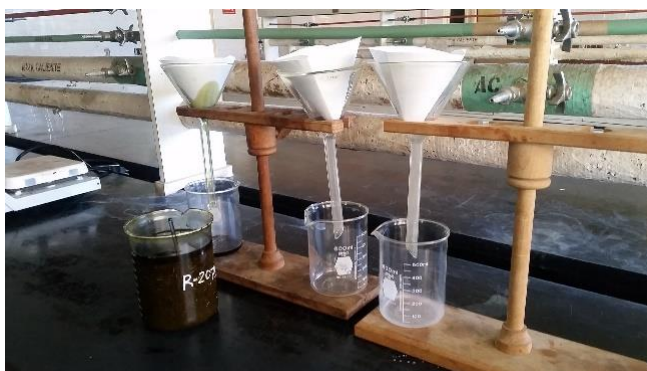
Del material triturado se pesaron 200g de cada muestra y se adiciono CS de alcohol 96%.



FILTRADO

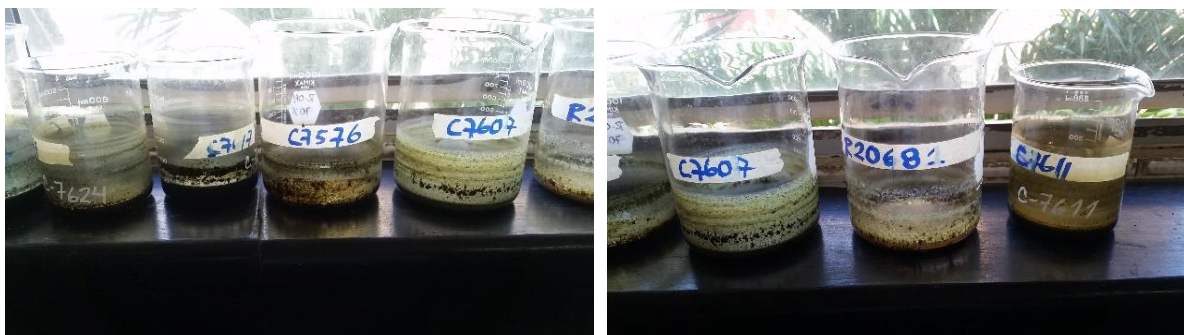


Se filtra primeramente en un manta de pañal para eliminar residuos de la planta



Luego en papel filtro para quitar impurezas más finas





Del filtrado se pasa a evaporar hasta secado completo



Extracto seco





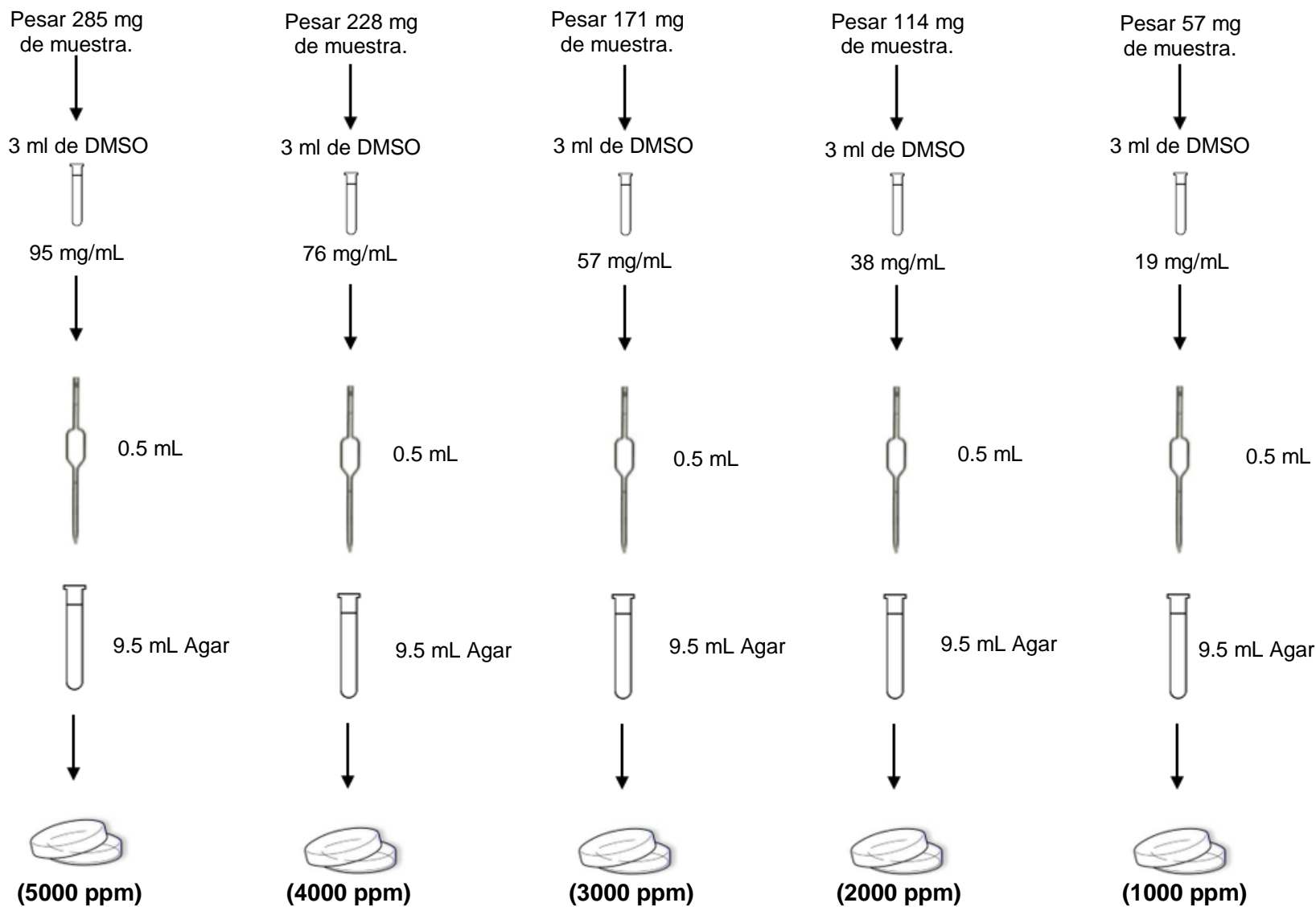
ANEXO N° 3
ESQUEMA DE PREPARACIÓN PARA DILUCIONES DEL
EXTRACTO VEGETAL





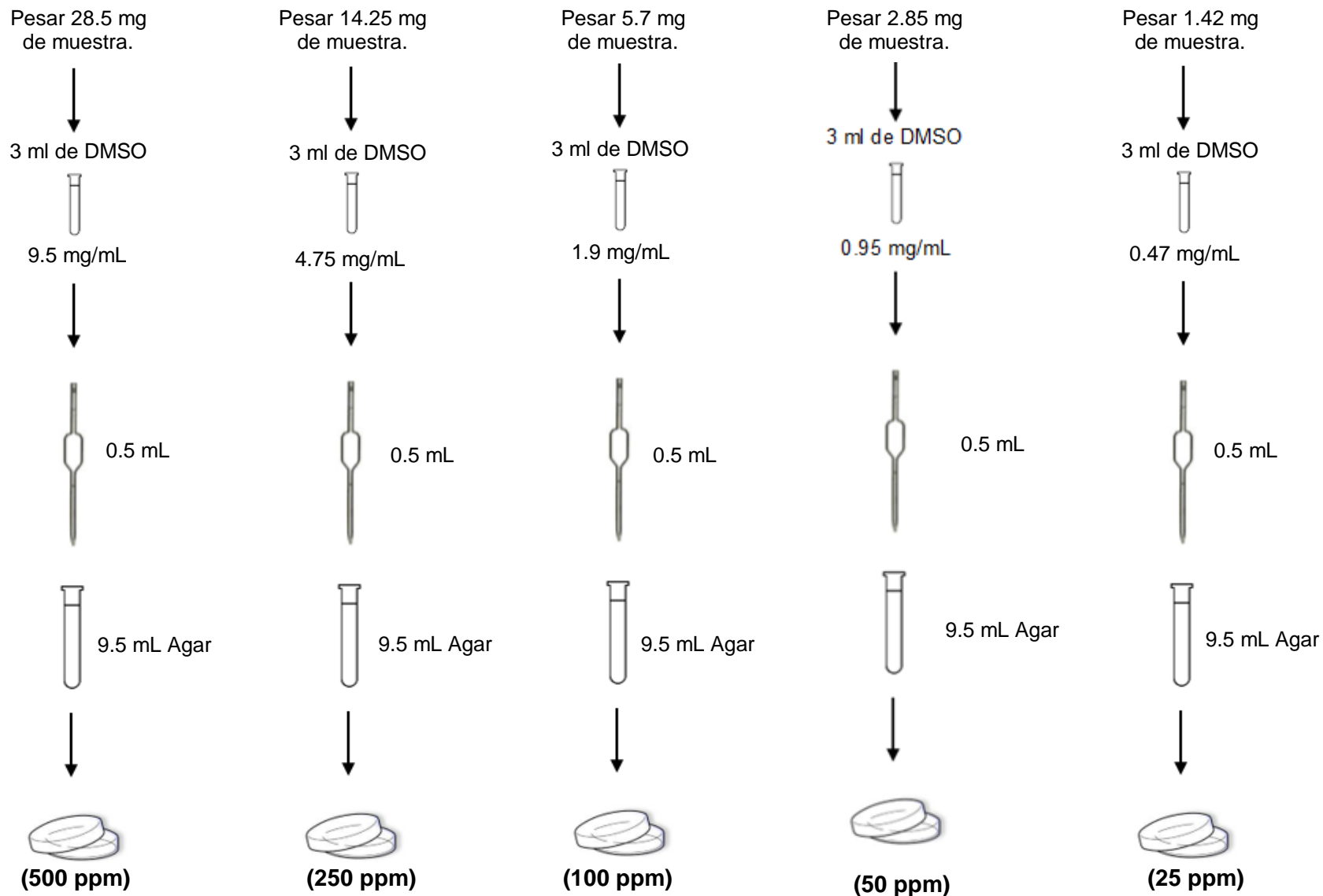
Incubar todas las placas a 37° C por 48 Horas

Esquema para la obtención de las diluciones del extracto vegetal. (5000, 4000, 3000, 2000, 1000 ppm)



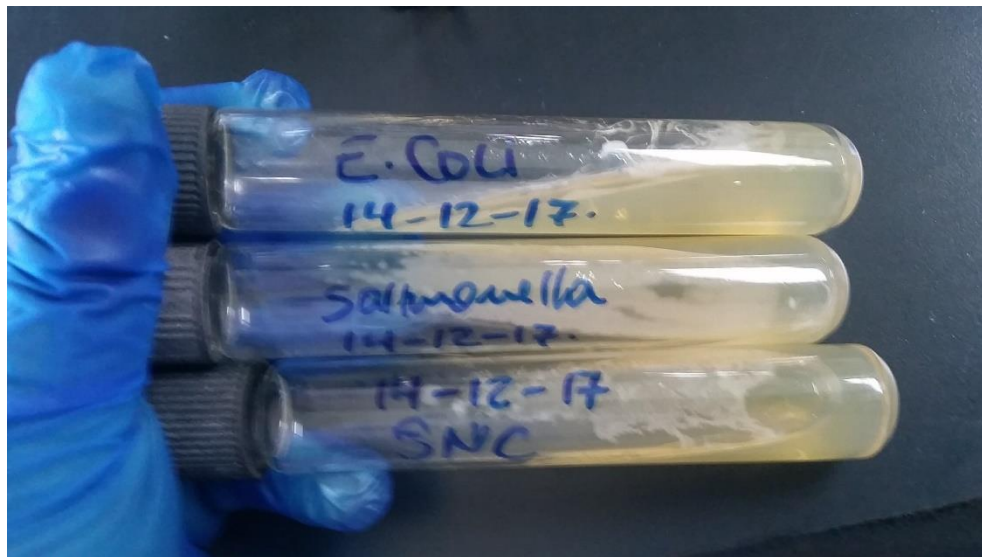


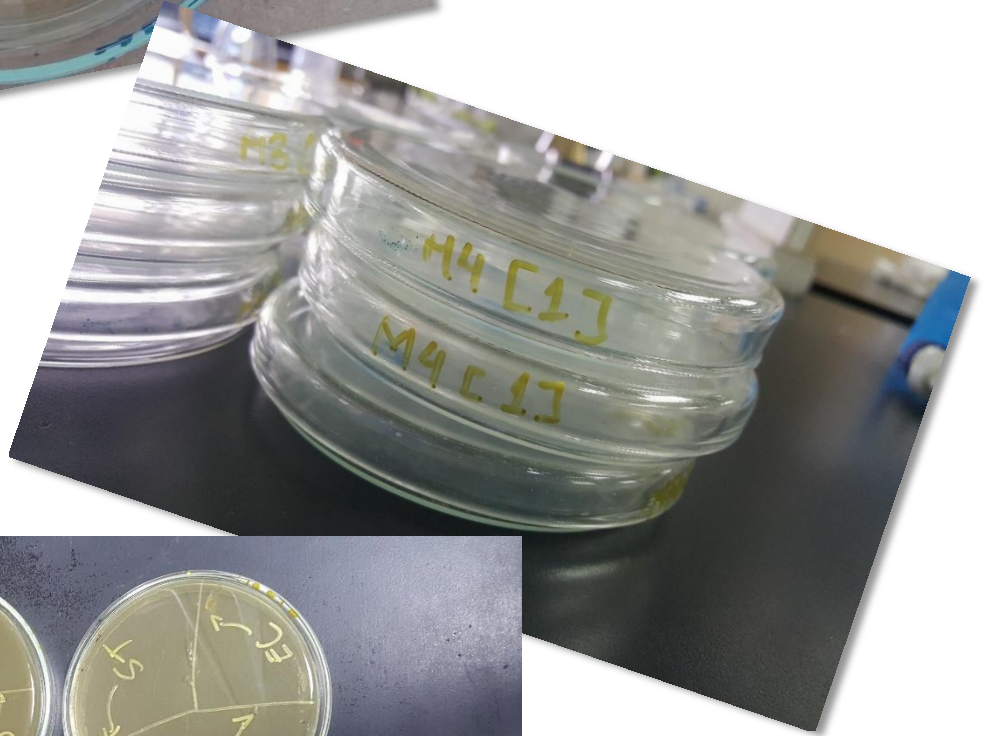
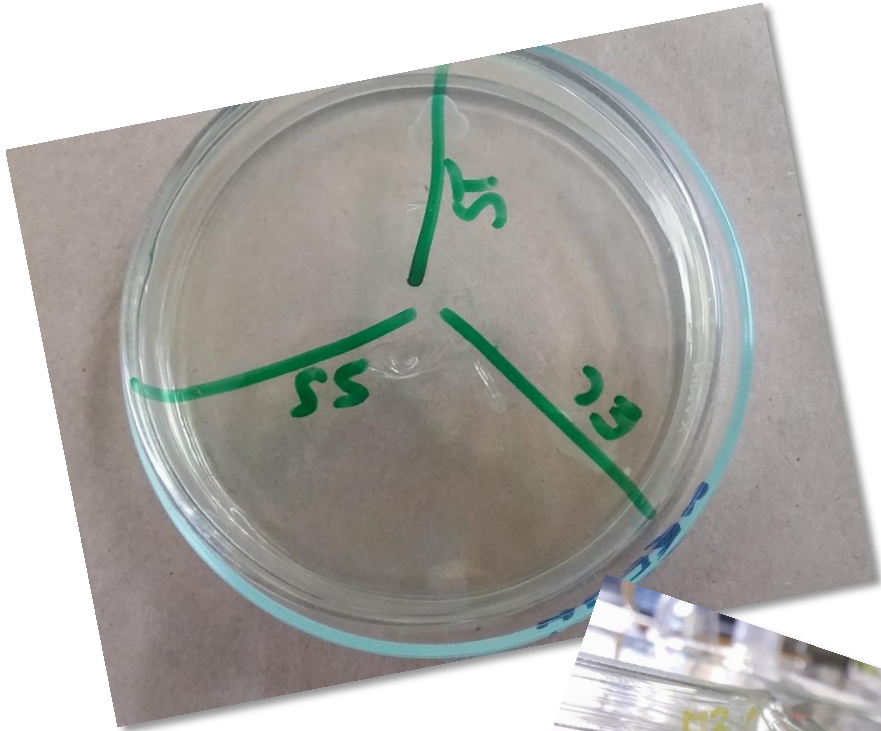
Esquema para la obtención de las diluciones del extracto vegetal. (500, 250, 100, 50, 25 ppm)



IMÁGENES

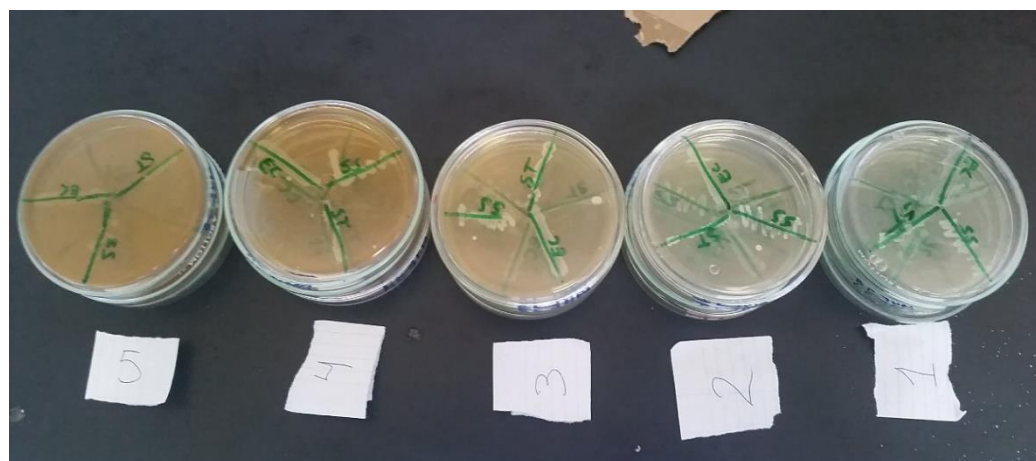
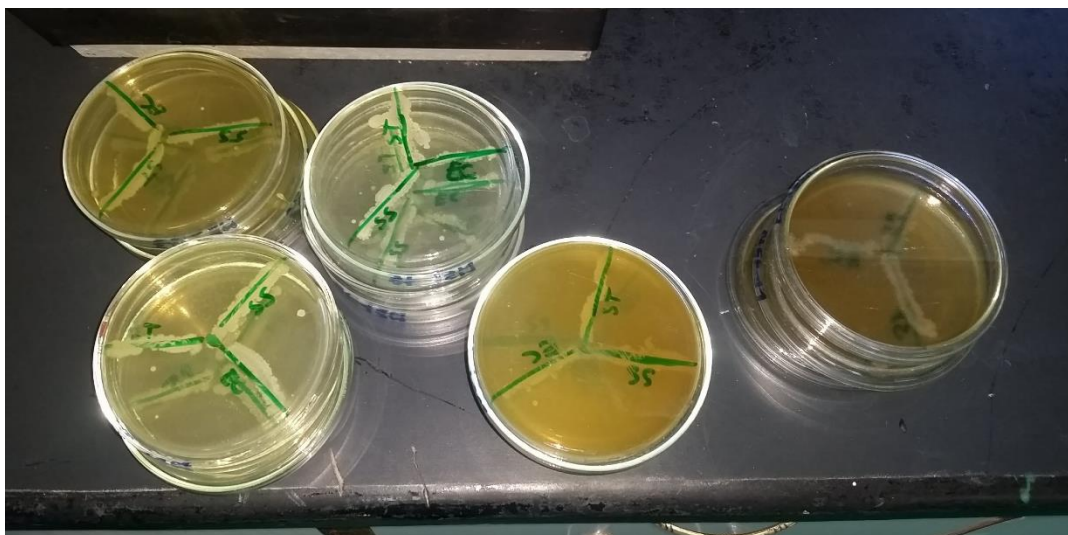


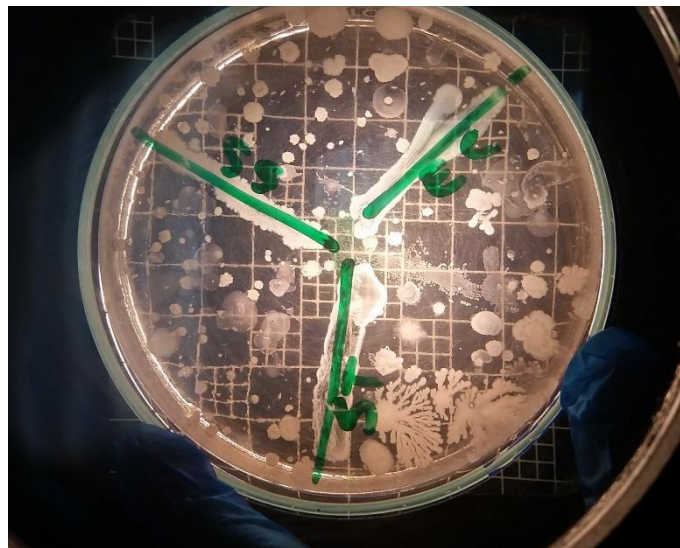












EQUIPOS



**Horno: Gravity Convection Oven
PRECISION**



Incubadora: Precisión Mecánica





Contador de colonias



Baño maría





Agitador Vórtex



Espectrofotómetro SPECTRONIC 20



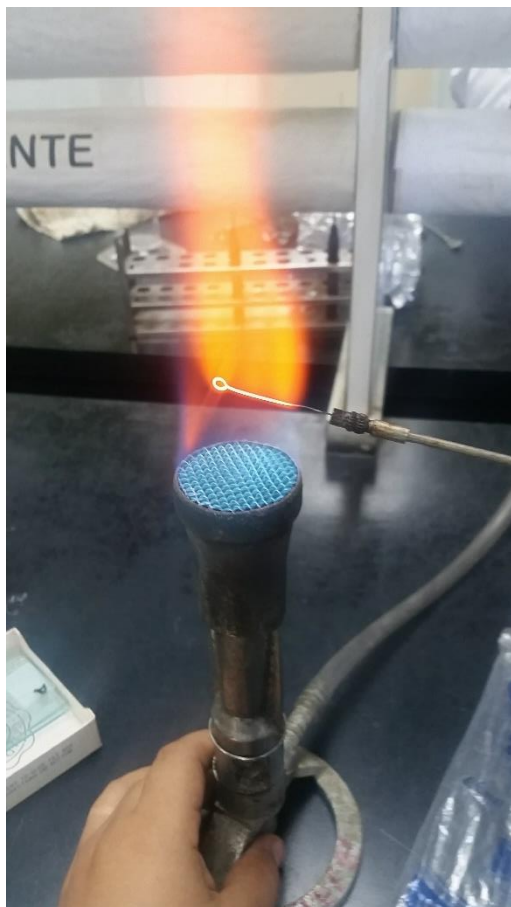


Balanza analítica



Balanza de brazo metálico





Mecheros Bunsen



Autoclave: Modelo 25X-1



Cocina



Autoclave para Esterilización





ANEXO N° 4

DISOLVENTE DEL EXTRACTO

DIMETILSULFÓXIDO

Origen: Es obtenido de la pulpa de la madera por medio de procesos industriales. Descubierta por Saytzeff en 1866, el dimetilsulfoxido se obtiene como subproducto durante el procesamiento de pulpa de madera para la fabricación de papel.

Descripción: Líquido claro, transparente, de olor característico y textura semi viscosa. El dimetilsulfóxido (dimetilsulfóxido, DMSO, CH_3SOCH_3) es un líquido orgánico sin color que contiene azufre, usado como solvente orgánico industrial a partir de 1940, como criopreservante a partir de 1961 y como un medicamento (reduce el dolor y la inflamación). Por su propiedad de atravesar rápidamente la epidermis y las membranas celulares, el DMSO sirve también como acarreador de drogas o venenos.

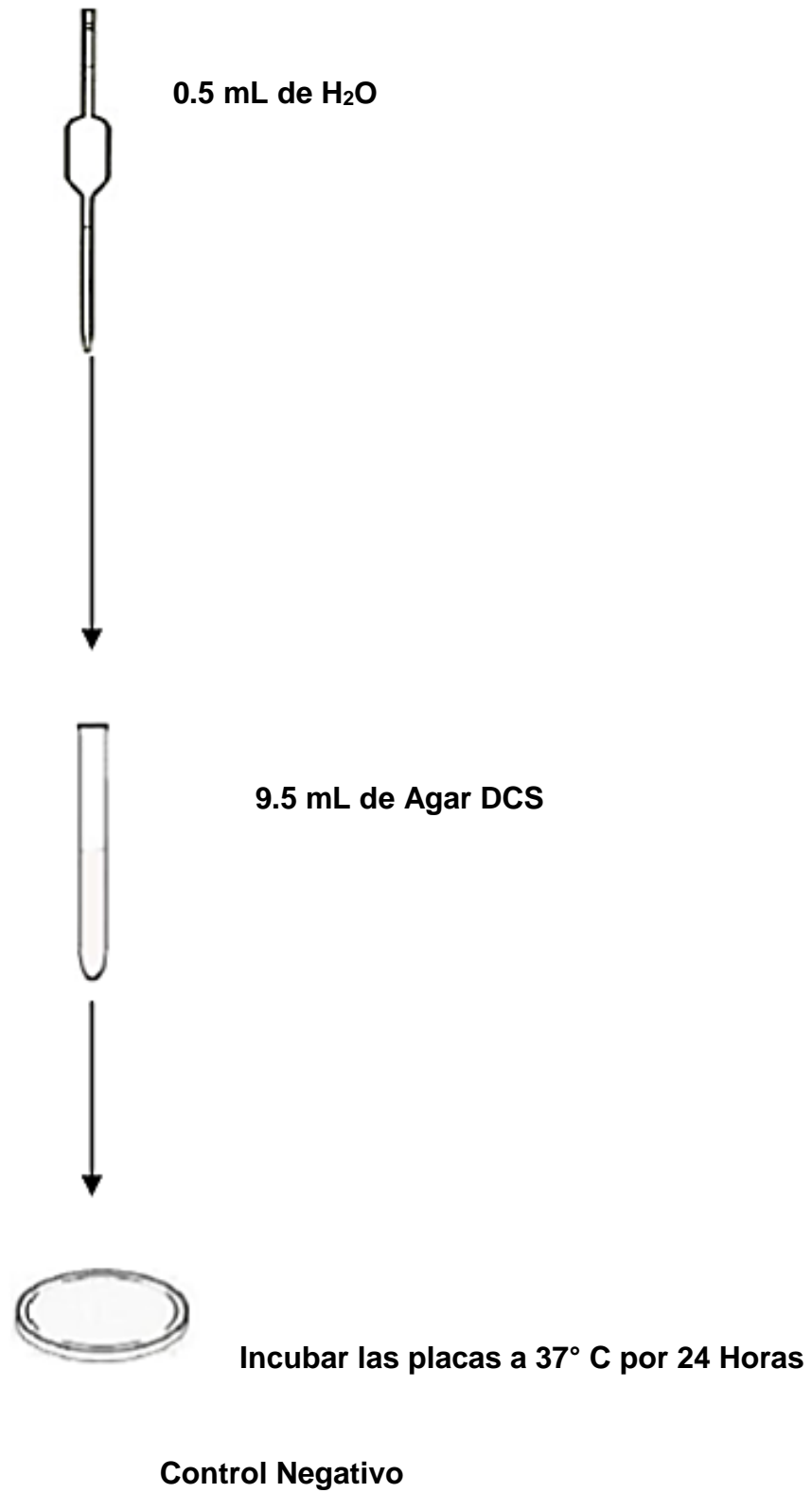
Usos: Se utiliza como agente solubilizante del extracto para facilitar su incorporación en agua. Es un solvente aprotico y altamente dipolar. Por ello, es miscible tanto con el agua como con solventes orgánicos como alcoholes, cetonas, etc. Puede formar complejos en sistemas biológicos.





ANEXO N° 5
ESQUEMA DE PREPARACIÓN DE CONTROL NEGATIVO
DE AGUA PURA



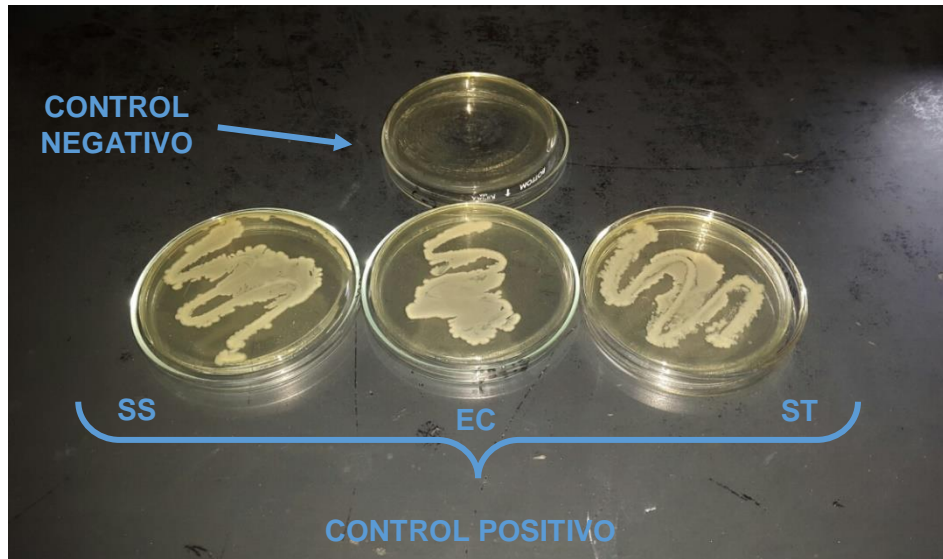




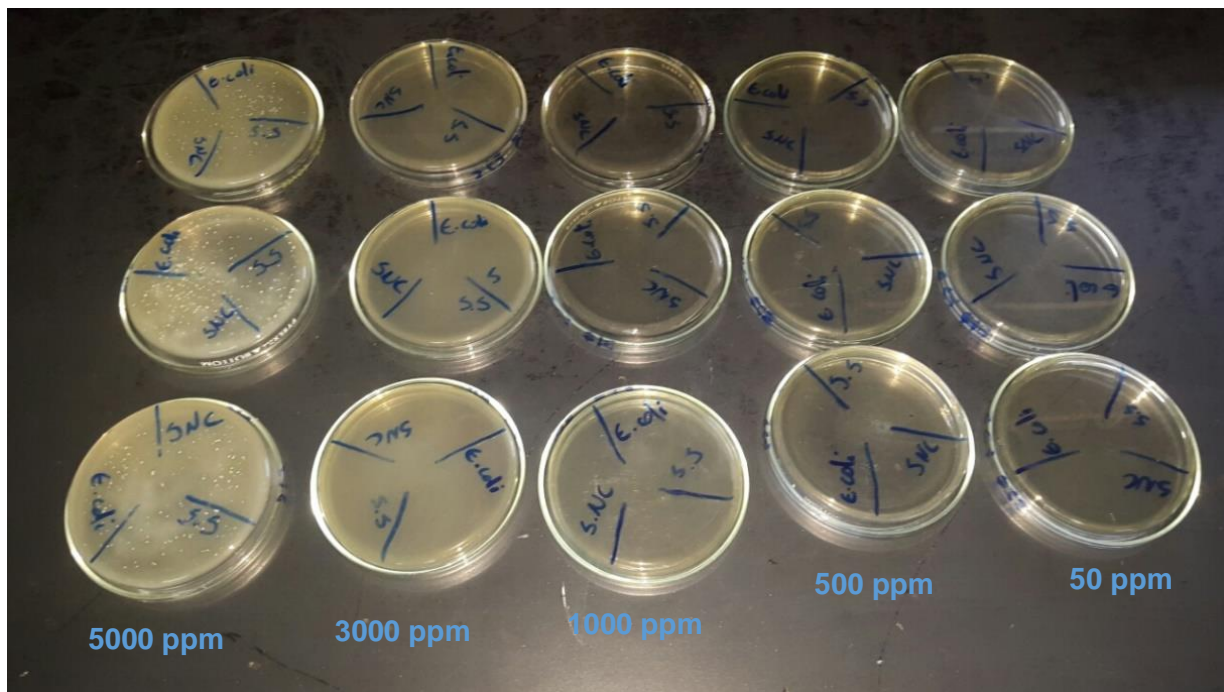
ANEXO N° 6
RESULTADO DEL ESTÁNDAR DE CLORHIDRATO DE
CIPROFLOXACINA 500mg TABLETA



Control positivo para bacterias *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp* y Control negativo.



Concentraciones del estándar contra las bacterias





ANEXO N° 7
ESQUEMA DE PREPARACIÓN DE SUSPENSIÓN DE
MICROORGANISMOS



Esquema de preparación de la suspensión de microorganismos.

Microorganismos en tubo con agar inclinado.



Asada de microorganismos



Tubos con agar inclinado



Encubar por 24hr.

Asada



Tubo con solución salina 0.9%

Verificar mediante Espectrofotómetro hasta alcanzar la transmitancia en 25%





ANEXO N° 8
ESQUEMA DE PREPARACIÓN DEL MEDIO AGAR
DIGERIDO CASEÍNA SOJA





Pesar 40g de
Agar DCS



Calentar cs de
agua destilada
hasta ebullición



Se mezcla el Agar y agua, se
calienta la suspensión, hasta
obtener una solución clara y
transparente



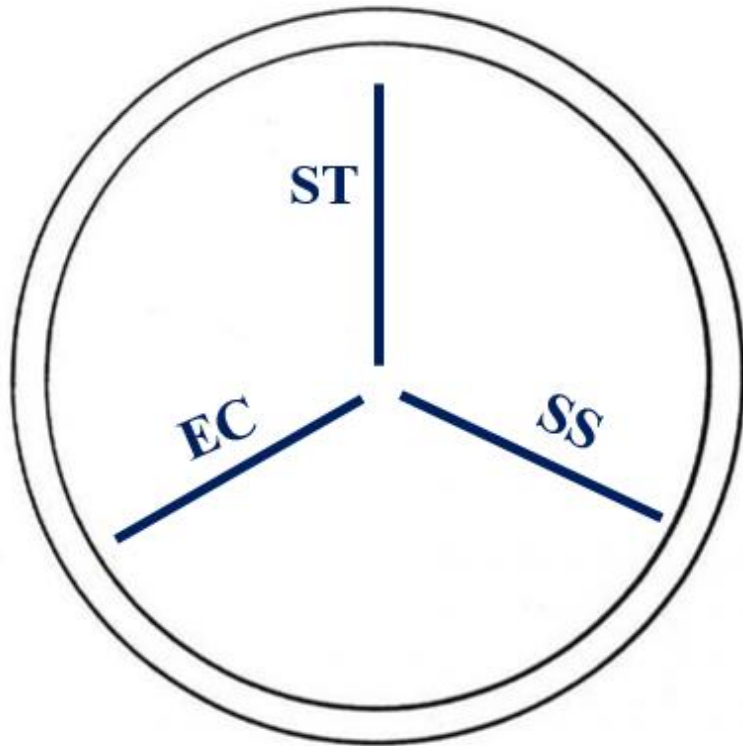
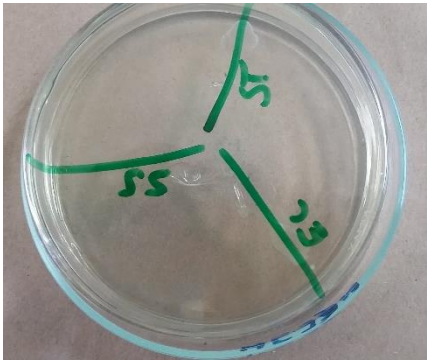
Se transfieren 9.5ml/cada
tubo. Pasar en auto clave
15min a 121°C.





ANEXO N° 9
PLANTILLAS PARA INOCULACIÓN DE
MICROORGANISMOS





Rayado lineal de microorganismos

Rotulación según número de muestras y concentración





ANEXO N° 10
ESTERILIZACIÓN Y DESCONTAMINACIÓN





ESTERILIZACIÓN DE LOS MATERIALES Y MEDIOS

- **Placas Petri:** La esterilización se realiza por aire caliente (Horno), consistiendo en colocar las placas a esterilizar debidamente protegidas con papel aluminio para que no se contaminen una vez sean esterilizadas. Las temperaturas son muy elevadas (160-180°C) durante 2-3 horas.
- **Pipetas:** La esterilización se realiza por aire caliente (Horno), consistiendo en colocar las pipetas envueltas en papel aluminio y señalando la parte contraria a la punta, con el objetivo que no se contaminen una vez esterilizado. Las temperaturas son muy elevadas (160-180°C) durante 2-3 horas.
- **Esterilización de medios de cultivo:** Se esterilizan por calor húmedo (vapor a presión, Autoclave) una vez colocados los 9.5ml del medio en tubos de ensayo, se tapan con algodón y son colocados en un Beaker que a su vez es tapado con papel aluminio para evitar la introducción de vapor de agua, se debe alcanzar una temperatura de 121°C durante 15 min.
- **Esterilización de aplicadores:** Los aplicadores se esterilizan en el Auto Clave por vapor a presión se empacan de 10 en 10 con papel aluminio indicando el lugar indicado para abrir tratando de evitar la contaminación en el ambiente a una temperatura de 121°C durante 15 min.
- **Solución Salina:** Una vez preparada la solución se cierra herméticamente con algodón y retapar con papel aluminio, para colocarlo en autoclave a 121°C durante 15 minutos.





DESCONTAMINACIÓN

- Placas Petri con medio de cultivo, muestra y bacterias.
 - Tubos de ensayo con Cultivo de Microorganismos
 - Autoclave (vapor de agua a presión)
- 1- Se verifica que el equipo (Autoclave) se encuentre en óptimas condiciones y listo para usar.
 - 2- Se deben colocar los materiales en una canasta metálica.
 - 3- Se le adicionan agua procurando que su nivel no alcance a los objetos.
 - 4- Se cierra y asegura la tapa procurando que no se escape el vapor.
 - 5- Luego se enciende y espera que la temperatura alcance los 121°C y se inicia el tiempo durante 1:00 hora, pasado el tiempo se debe esperar el descenso de la temperatura para abrir la tapa de la autoclave nuevamente.
 - 6- Con agua de grifo se eliminan los desechos restantes y se sumergen en una solución de agua, detergente e Hipoclorito de Sodio.
 - 7- Pasado un tiempo se lavan con un paste y se dejan secar para ser esterilizadas nuevamente.

