

T  
615.323  
T 73

**NO SALE A  
DOMICILIO**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



**TITULO**

**“Calidad microbiológica de la especie de uso terapéutico tradicional  
*Campsiandra angustifolia* (huacapurana), Iquitos- Perú”**

**Para optar el título profesional**

**QUIMICO FARMACEUTICO**

**Presentado Por**

**Bach. TORRES IPANAMA, GABRIELA DEL PILAR**

**Bach. REÁTEGUI CAIÑA, ANA ISABEL**

**Asesor (es)**

**Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY Mgr.**

**Q.F. BRENDA SORAYA URDAY RUIZ**

**Q.F. LUIS A. VILCHEZ ALCALA Mgr.**

**Iquitos- Perú**

**2013**

**DONADO POR:**  
Torres Ipanama, Gabriela Del Pilar y  
otro  
Iquitos, 17 de 02 de 2014



00137



"Año de la Inversión para el Desarrollo rural y la Seguridad Alimentaria"

## ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Iquitos, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto, a los 20 días del mes de DICIEMBRE del dos mil trece, siendo las 17:20 Horas, los Miembros del Jurado Calificador de Tesis designado según Resolución de Coordinación N° 151-FFB-UNAP-2013, integrados por los señores docentes que a continuación se detalla:

- |  |            |
|--|------------|
| ➤ Q.F. WILFREDO OSWALDO GUTIÉRREZ ALVARADO | PRESIDENTE |
| ➤ ING. CLETO JARA HERRERA                  | MIEMBRO    |
| ➤ Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG         | MIEMBRO    |



Se constituyeron en las instalaciones del Colegio Químico Farmacéutico Departamental de Loreto, para proceder a dar inicio al Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis Titulada "CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LA ESPECIE DE USO TERAPÉUTICO TRADICIONAL *Campsiandra angustifolia* (huacapurana), IQUITOS PERÚ", presentado por las Bachilleres: GABRIELA DEL PILAR TORRES IPANAMA y ANA ISABEL REÁTEGUI CAIÑA, para optar el TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO, que otorga la UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, de acuerdo a la Ley Universitaria N° 23733 y el Estatuto General de la UNAP vigente.

Luego de haber escuchado con atención la exposición de las sustentantes, y habiéndose formulado las preguntas respectivas, las cuales fueron respondidas:

SATISFACTORIAMENTE

Los miembros del Jurado Calificador llegaron a las siguientes conclusiones:

- 1.- La Tesis ha sido APROBADO POR UNANIMIDAD
- 2.- Observaciones NINGUNA



Siendo las 18:30 horas se dio por concluido el Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis, felicitándoles a los sustentantes por su ADECUADA DISERTACIÓN

.....  
Q.F. WILFREDO OSWALDO GUTIÉRREZ ALVARADO  
Presidente

.....  
ING. CLETO JARA HERRERA  
Miembro

.....  
Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG  
Miembro

**“Calidad microbiológica de la especie de uso terapéutico tradicional  
*Campsiandra angustifolia* (huacapurana), Iquitos- Perú”**

**RESUMEN**

En el presente trabajo se determinó la calidad microbiológica de la especie botánica *Campsiandra angustifolia* “huacapurana”, de uso etnoterapéutico en Iquitos. El estudio fue de tipo experimental, se realizó aplicando la metodología descrita en la United States Pharmacopea (USP) 35 para determinar el límite microbiano y la presencia/ausencia de microorganismos patógenos.

Del total de 19 muestras tomadas para el análisis de aerobios mesófilos: En **Raíz**, no se aceptan 13 muestras ( arboles 1,2,3,4,5,6,8,9,10,12,15,17,18) ; en **Corteza**, no se aceptan 10 muestras ( arboles 2,3,4,5,6,8,9,15,17,18); y en **Hoja**, no se aceptan 8 muestras (arboles 3,4,5,6,8,13,17,18), todas ellas por superar el límite máximo permisible (>1100 NMP/g) de microorganismos mesófilos aerobios totales.

Del total de 19 muestras tomadas para el análisis de mohos y levaduras: En **Raíz**, no se aceptan 16 muestras (arboles 1,2,4,5,6 ,8,9,10,11,13,14,15,16,17,18,19), en **Corteza**, no se aceptan 13 muestras (arboles 1,2,4,5,6 7,9,11,13,14,15,16,18); y en **Hoja** no se aceptan 9 muestras (arboles 1,5, 7,8,9,14,16,17,18) todas ellas por superar el límite máximo permisible( $2 \times 10^3$ ) en mohos y levaduras .

En el análisis de Microorganismos patógenos; del total de 19 muestras tomadas para *Staphylococcus aureus*: Tanto en **Raíz**, **Corteza**, y **Hoja** no se encontró presencia de este microorganismo, del total de 19 muestras para *Pseudomonas aeruginosa*: En **Raíz**, 2 muestras (arboles 5,18) se encontró presencia de *Pseudomonas aeruginosa*; mientras que en **Corteza y Hoja**, no se encontró presencia de este microorganismo, del total de 19 muestras tomadas para *Salmonella sp*: En **Raíz**, no se acepta 2 muestras (arboles 8,9), en **Corteza**, no se acepta 2 muestras (arboles 9,11) las cuales se rechaza por la presencia de este microorganismo, mientras que en la **Hoja** no se encontró presencia del mismo.

Del total de 19 muestras tomadas para el análisis de *Escherichia coli*: En **Raíz** y **Corteza**, no hubo presencia de este microorganismo, mientras que en la **Hoja** en 1 muestra (árbol 10) hubo la presencia de *Escherichia coli*.

Se concluyó que en la determinación de la calidad microbiológica de la especie terapéutica tradicional *Campsiandra angustifolia* (huacapurana), de las 19 muestras analizadas (raíz, corteza y hoja), en **Raíz** 18 muestras no son aceptables, en **Corteza** 16 muestras no son aceptables siendo este el órgano del vegetal más usada en medicina tradicional, y en **Hoja** 14 muestras no son aceptadas.

## “Calidad microbiológica de la especie de uso terapéutico tradicional

### *Campsiandra angustifolia* (huacapurana), Iquitos- Perú”

#### SUMMARY

In the present work the microbiological quality of the botanic specie *Campsiandra angustifolia* “huacapurana” was determined as having an ethno therapeutic use in Iquitos. The study was experimental and was carried out by applying the described methodology in the United States Pharmacopeia (USP) 35 in order to determine the microbial limit and the presence/absence of micro pathogenic microorganisms.

A total of 19 samples were taken for the analysis of the mesophilic aerobic: In the Root, 13 samples are not accepted (trees, 1,2,3,4,5,6,8,9,10,12,15,17,18); and in the Bark, 10 samples are not accepted (trees, 2,3,4,5,6,8,9,15,17,18); in the Leaf, 8 samples are not accepted (trees, 3,4,5,6,8,13,17,18), all for having exceeded the maximum allowed limit ( $>1100$  NMP/g) of total mesophilic aerobic microorganisms.

Of the total 19 samples that were taken for the analysis of the molds and yeasts: In the Root, 16 samples are not accepted (trees,1,2,4,5,6,8,9,10,13,14,15,16,17,18,19); and in the Bark, 13 samples are not accepted (trees,1,2,4,5,6,7,9,11,13,14,15,16,18); in the Leaf, 9 samples are not accepted (trees,1,5,7,8,9,14,16,17,18), all for having exceeded the maximum allowed limit ( $2 \times 10^3$ ) in molds and yeasts.

In the analysis of the pathogenic microorganisms, of the total 19 samples taken for *Staphylococcus aureus*, just as in the **Root**, **Bark**, and **Leaf** the presence of this microorganism was not found. Of the total 19 samples for *Pseudomona aeruginosa*: In the **Root**, the presence of *Pseudomona aeruginosa* was found in 2 samples, while in the **Bark** and the **Leaf**, there was no presence of this microorganism found. Of the total of 19 samples taken for *Salmonella sp*: two samples were not accepted (trees 8,9). In the **Bark**, to samples were not accepted (trees 9, 11) these of which were rejected for the presence of the microorganism,

while in the **Leaf** no presence of the same was found. Of the total 19 samples taken for the analysis of *Escherichia coli*; in the **Root** and **Bark** there was no presence of the microorganism, while in the **Leaf**, in 1 sample (tree 10), there was the presence of *Escherichia coli*.

It was concluded that the determination of the microbiological quality of the traditional therapeutic specie *Campsiandra angustifolia* (huacapurana) that in the 19 samples that were analyzed (root, bark, and leaf), in the **Root**, 18 samples were not acceptable, in the **Bark** 16 samples were not acceptable, making this the organ of the vegetable most used in traditional medicine, and finally, in the **Leaf** 14 samples were not accepted.

**KEY WORDS:** Microbiological quality, *Campsiandra angustifolia* (huacapurana),

## DEDICATORIA

A Dios por estar junto a nosotras  
a cada momento y paso que damos  
en nuestras vidas guiándonos y dándonos  
la fuerza y sabiduría para hoy  
hacer posible la culminación de nuestros estudios

A nuestros padres y familiares por el apoyo  
Incondicional día tras día porque creyeron  
en nosotras desde el primer día  
en que nos embarcamos en la aventura  
por un futuro profesional y brillante  
en farmacia y Bioquímica

A nuestros queridos catedráticos que  
tras cada cátedra nos brindaron todos  
sus conocimientos y las armas posibles  
formando en Nosotras no solo profesionales  
competentes sino también el amor y la  
pasión por nuestra Carrera profesional

A nuestros queridos amigos (as)  
que de alguna u otra manera formaron  
parte de esta gran aventura

## **AGRADECIMIENTO**

- En primer lugar queremos agradecer a Dios el que fue la fuente de toda provisión de todos los medios para realización de este trabajo de investigación.
  
- Al Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay, por su dedicación en la asesoría brindada durante la realización del presente trabajo de investigación.
  
- Al Q.F. Brenda Soraya Urday Ruiz, por la asesoría brindada durante la realización del presente trabajo de investigación.
  
- Al Q.F. Luis A. Vilchez Alcalá Mgr. por la asesoría brindada durante la realización del presente trabajo de investigación.
  
- Al Blgo. Pedro Marcelino Adrianzen Julca, encargado del Laboratorio de Suelos- CIRNA – UNAP (Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Amazonía) quien nos dio la facilidad del ambiente de necesario para la realización del presente trabajo de investigación.



## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>CAPITULO I</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>OBJETIVOS</b> .....	3
<b>CAPITULO II</b> .....	4
2.1. MARCO TEÓRICO .....	4
2.1.1. MARCO REFERENCIAL .....	4
2.1.1.1. ANTECEDENTES .....	4
2.1.2. MARCO CONCEPTUAL .....	7
2.1.2.1. ESPECIE BOTANICA: .....	7
2.1.2.1.1. <i>Campsiandra angustifolia</i> (huacapurana) .....	7
2.1.2.2. CONTROL MICROBIOLÓGICO .....	10
2.1.2.2.1. Calidad microbiológica .....	12
2.1.2.2.2. Criterios microbiológicos .....	13
2.1.2.3. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS .....	14
2.1.2.3.1. Microorganismos indicadores: .....	15
2.1.2.3.2. Recuentos a realizar .....	17
2.1.2.4. MICROORGANISMOS PATÓGENOS IMPLICADOS .....	18
2.1.2.5. COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS CON RESPECTO AL PH. ..	25
2.2. VARIABLE .....	25
2.2.1. INDICADORES .....	25
<b>CAPITULO III</b> .....	26
3.1. METODOLOGIA .....	26
3.1.1. TIPO DE INVESTIGACION .....	26
3.1.2. DISEÑO DE INVESTIGACION .....	26
3.1.3. POBLACION Y MUESTRA .....	26
3.1.3.1. POBLACION VEGETAL .....	26
3.1.3.2. MUESTRA VEGETAL .....	27
3.2. INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS .....	27
3.2.1. MATERIALES E INSTRUMENTOS .....	27
3.2.1.1. MATERIALES DE LABORATORIO .....	27
3.2.2. LOCALES .....	27
3.2.2.1. AMBIENTES .....	27
3.2.3. PROCEDIMIENTO .....	28
3.2.3.1. INVESTIGACION ETNOBOTANICA .....	28
3.2.3.2. TECNICAS .....	28
3.2.3.3. PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO .....	29
3.2.3.4. ENSAYOS DE LÍMITE MICROBIANO .....	31
3.2.3.4.1. Determinación de Aerobios Mesófilos .....	31

3.2.3.4.2. Determinación de mohos y levaduras .....	34
3.2.3.4.3. Determinación de Microorganismos Patógenos.....	36
3.3. PLAN DE ANALISIS DE INTERPRETACION .....	41
<b>CAPITULO IV</b> .....	<b>42</b>
4.1. RESULTADOS .....	42
4.1.1. Análisis de Aerobios Mesófilos.....	42
4.1.2. Análisis de Mohos y Levaduras.....	43
4.1.3. Análisis de <i>staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	45
4.1.4. Análisis de <i>Salmonella sp.</i> .....	47
4.1.5. Análisis de <i>Escherichia coli</i> .....	48
<b>4.2. DISCUSION</b> .....	<b>49</b>
<b>4.3. CONCLUSIONES</b> .....	<b>50</b>
4.4. RECOMENDACIONES.....	51
4.5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	52
<b>ANEXOS</b> .....	<b>54</b>

## INDICE DE TABLAS

TABLA N°	NOMBRE	PAG
TABLA 1	Clasificación Taxonómica de <i>Campsiandra angustifolia</i> (Huacapurana) según APG.....	7
TABLA 2	Recuento total más Probable por el Método en Tubos Múltiple...	32
TABLA 3	Características morfológicas de <i>Staphylococcus aureus</i> en Medio Agar Selectivo.....	36
TABLA 4	Características Morfológicas de <i>Pseudomona aeruginosa</i> en Medio Agar Selectivo y de Diagnostico.....	36
TABLA 5	Características Morfológicas de <i>Salmonella</i> spp en medio Agar Selectivo.....	38
TABLA 6	Características Morfológicas de <i>Escherichia coli</i> en Medio Agar Mac Conkey.....	40
TABLA 7	Límite de Los Indicadores Microbiológicos.....	41
TABLA 8	Resultados obtenidos en el análisis de aerobios mesófilos.....	42
TABLA 9	Resultados obtenidos en el análisis de mohos y levaduras.....	43
TABLA 10	Resultados obtenidos en el análisis de mohos y levaduras.....	44
TABLA 11	Resultados obtenidos en el análisis de <i>Staphylococcus aureus</i> ...	45
TABLA 12	Resultados obtenidos en el Análisis de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	46
TABLA 13	Resultados obtenidos en el Análisis de <i>Salmonella</i> sp.....	47
TABLA 1	Resultados obtenidos en el Análisis de <i>Escherichia coli</i> .....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

TABLA N°	NOMBRE	PAG
FIGURA 1	Prueba de los tubos múltiples .....	33
FIGURA 2	Recuento de mohos y levaduras en placa.....	35
FIGURA 3	Prueba para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ...	37
FIGURA 4	Prueba para determinar la ausencia de <i>Salmonella spp</i> .....	39
FIGURA 5	Prueba para determinar la ausencia de <i>Escherichia coli</i> .....	40

## ÍNDICE DE ANEXOS

### **ANEXO 1:**

Esquema del procedimiento para obtener la muestra a analizar

### **ANEXO 2:**

Esquema del procedimiento para el análisis microbiológico de la *Campsiandra angustifolia* (huacapurana).

### **ANEXO 3:**

Esquema de las técnicas de sembrado en tubos y placas

### **ANEXO 4:**

Esquema del procedimiento de pruebas bioquímicas

### **ANEXO 5:**

Esquema del procedimiento para la coloración de gram

### **ANEXO 6:**

Esquema de las técnicas del análisis de mohos y levaduras

### **ANEXO 7:**

Cuadro de características de las especies georreferenciadas y muestreadas

### **ANEXO 8:**

Mapa de ubicación de donde se sacaron las muestras

### **ANEXO 9:**

Cuadro de reporte de las pruebas bioquímicas confirmatorias

## **ABREVIATURAS**

**USP** United States Pharmacopea

**OMS** Organización Mundial De Salud

**RNTT** Recursos Naturales Terapéuticos tradicionales

**PNTT** Productos Naturales Terapéuticos tradicionales

**NMP** Número más Probable

**APG** Angiosperm Phylogeny Group (Grupo para la filogenia de las Angiospermas)

**TSB** Caldo Tripticasa Soya

**NMP/gr** Número más Probable por Gramo

**UFC/gr** Unidad Formadora de Colonia por Gramo

**DIRESA** Dirección Regional de Salud

**DIREMID** (Dirección ejecutiva de medicamentos insumos y drogas)

**DISA** Dirección de Salud

## **CAPITULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

La organización mundial de la salud (OMS) en los últimos veinte años, entro en un proceso de revalorización de la medicina tradicional; no solo por su importancia cultural y su contribución a favor de la salud integral, sino también para recuperar sus métodos terapéuticos.<sup>(1)</sup>

El Perú y casi todos los países de Latinoamérica, en los cuales, la medicina tradicional ha permanecido viva a través de los siglos, y su colaboración es invaluable para el alivio de miles de personas. Por años, las poblaciones rurales del país han curado sus males empleando el producto de la tierra.

En el Perú el Capítulo III del Registro Sanitario de los Recursos Terapéuticos Naturales Tradicionales Artículo 99º señala que, en el Protocolo de análisis deberá incluir las Especificaciones de Calidad de la Materia Prima como son: Nomenclatura oficial, en el caso del recurso natural de origen vegetal o animal, las características organolépticas, Identificación microscópica y macroscópica, identificación de sustancias activas, contenido de cenizas, presencia de materias extrañas; porcentaje de humedad, metales pesados y pesticidas y calidad microbiológico.<sup>(2)</sup>

El control microbiológico de los Recursos Naturales Terapéuticos tradicionales (RNTT), permite detectar la presencia de microorganismos patógenos o de microorganismos que alteran el insumo vegetal<sup>(3)</sup> o que en estos productos se pueden presentar las condiciones necesarias para la multiplicación de microorganismos capaces de deteriorar al producto o, lo que es peor, afectar la salud del consumidor.<sup>(5)</sup>

Sin embargo, el usuario de la medicina popular desconoce el origen, formas de cultivo y manejo previo de la planta que va a consumir, especialmente cuando se adquieren en los mercados de la ciudad, donde el producto no ha pasado por ningún



control de calidad; constituyéndose en una fuente de contaminantes que pueden afectar la salud del consumidor.

De esta manera es importante conocer la calidad de la materia prima vegetal o recurso terapéutico. Existiendo la necesidad de valorar tal calidad a través de un análisis microbiológico. <sup>(11)</sup>

Existen una serie de motivos que justifican la realización de análisis microbiológico de plantas medicinales, dentro de los cuales es importante asegurar que el futuro producto cumpla con los parámetros de calidad microbiológica establecida por DIGEMID; que las materias primas bioactivas que llegan a la fábrica, cumplan con las especificaciones microbiológicas exigidas o pactadas para ser considerados insumos en la preparación del producto y que mantenga el control del proceso en la fabricación.<sup>(4)</sup>

En los centros herbolarios los Recursos Naturales Terapéuticos tradicionales (RNTT) y Productos Naturales Terapéuticos tradicionales (PNTT) que se comercializan de manera informal y de fabricación artesanal no pasan por ningún control de calidad. Tampoco el ente rector DIREMID cumple con hacer las supervisiones. Por lo que; los resultados sirven para conocer la calidad microbiológica de los RNTT que se comercializan en la ciudad de Iquitos. También es de suma importancia como información relevante para la posterior implementación de la línea de producción de fitofármacos en la Planta Piloto de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNAP.

Si bien los preparados hidroalcohólicos artesanales de *Campsiandra angustifolia* (huacapurana) se vienen consumiendo, es necesario la formalización de su uso; por lo que en el presente proyecto de investigación se determinó la calidad microbiológica de la especie terapéutica *Campsiandra angustifolia* (huacapurana) a fin de identificar el número más probable (NMP) de microorganismos aerobios mesófilos totales y la presencia microorganismos patógenos especificados en la normativa de salud vigente.



## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL:

Determinar la calidad microbiológica de la especie de uso terapéutico tradicional *Campsiandra angustifolia* (huacapurana).

### OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- ✓ Determinar el número más probable de microorganismos aerobios mesófilos totales en la especie de uso terapéutico *Campsiandra angustifolia* (huacapurana).
- ✓ Determinar el número más probable de mohos y levaduras totales en la especie de uso terapéutico *Campsiandra angustifolia* (huacapurana).
- ✓ Identificar microorganismos patógenos: *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Pseudomona aeruginosa*, y *Staphylococcus aureus* en la especie de uso terapéutico *Campsiandra angustifolia* (huacapurana).

## CAPITULO II

### 2.1. MARCO TEÓRICO

#### 2.1.1. MARCO REFERENCIAL

##### 2.1.1.1. ANTECEDENTES

Torres (2006), en un estudio realizado en Colombia, determinó la calidad microbiológica de las materias primas vegetales *Peumus boldus* (boldo), *Caléndula officinalis* (Caléndula), *Casia angustifolia vah* (Sen), *Fucus vesiculosas L* (Fucus) y *Spirulina máxima* (Arthrospira) y encontró presencia de microorganismos como: *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Clostridium* y *Pseudomona*.<sup>(1)</sup>

Villa (2010), en un estudio realizado en Colombia, determinó la calidad microbiológica del *Zea mayz* (maiz) y encontró que los géneros de *Lactobacillos* y *Leuconostoc spp* .Fueron los más abundantes en ambos climas, tanto en el clima cálido y frío respectivamente, seguidos por los *Streptococcus* y *Pediococcus*.<sup>(6)</sup>

Arias (1999), en un estudio realizado en Costa Rica, determino la calidad microbiológica de la *Mentha piperita* (menta) y el *Illicium verum* (anís de estrella) y encontró que los niveles encontrados de *Pseudomonas aeruginosa* en ambos tipos de infusión fueron mayores a la tolerancia establecida por la USP (United States Pharmacopea).<sup>(7)</sup>

Sánchez (2005) en un estudio realizado en Santa Fe, Argentina, determino la calidad microbiológica de la *Malva sylvestris* (malva) y encontró presencia de bacilos Gram positivos, en especial el género *Bacillus* (formadores de endosporas), también detecto una elevada concentración de *Alcaligenes spp.* , bacteria que al estar viable, podría ser vehiculizada e ingresar por la vía aérea, actuando como agente etiológico de enfermedades infecciosas en pacientes con compromiso inmunológico.<sup>(8)</sup>

Aragadvay (2009) en un estudio realizado en Ecuador, a través de los parámetros: aerobios mesófilos totales, coliformes totales, coliformes fecales, mohos y levaduras se determinó la calidad microbiológica de las drogas vegetales (seca y fresca) *Baccharis latifolia* (Chilca), y *Solanum nigrum* (Hierbamora), donde los resultados obtenidos, determinaron que estas drogas vegetales, están dentro de los límites microbiológicos permitidos para la elaboración de fitofármacos.<sup>(9)</sup>

Cruzati (2009) en un estudio realizado en Ecuador, a través de los parámetros: aerobios mesofilos totales, coliformes totales y fecales, salmonella, mohos y levaduras se determinó la calidad microbiológica de las drogas vegetales *Matricaria chamomilla* (manzanilla), *Aristiguietia glutinosa* (matico) y *Ambrosia arborescens* (marco), donde los resultados obtenidos, determinaron que estas drogas vegetales, están dentro de los límites microbiológicos permitidos para la elaboración de fitofármacos.<sup>(10)</sup>

Montesdeoca (2010) en un estudio realizado en Ecuador, a través de los parámetros: aerobios mesófilos totales, coliformes totales y fecales, mohos y levaduras se determinó la calidad microbiológica de las drogas vegetales *Arthemisia absinthium L.* (ajeno), *Rosmarinus officinalis L.* (romero) y *Matricaria chamomilla L.* (manzanilla), donde los resultados obtenidos, determinaron que estas drogas vegetales, están dentro de los límites microbiológicos permitidos para la elaboración de fitofármacos.<sup>(11)</sup>

Gutiérrez (2011) en un estudio realizado en La Paz, Bolivia, se determinó el límite microbiano (ausencia de *shigella*, ausencia de *salmonella*, ausencia de *staphylococcus aureus*) de la especie vegetal *Xanthium spinosum*, los valores reportados se encuentran dentro de los límites aceptables de microorganismos en alimentos.<sup>(12)</sup>

Huapaya () en un estudio realizado en la Universidad de San Martín de Porres, Perú, se determinó la calidad microbiológica de *croton lechleri* (sangre de grado), en

donde los resultados obtenidos demuestran que en el recuento total aerobio el 36% de las muestras sobrepasan la norma internacional de la OMS, en coliformes totales y fecales una sola muestra supera al rango permitido, tales resultados muestran deficiencias en la calidad microbiológica de la sangre de grado.<sup>(13)</sup>

Morán (2007) en un estudio realizado en Guatemala, se hizo el análisis microbiológico de la raíz de *Panax ginseng* (ginseng), en donde los resultados obtenidos detectaron en algunas muestras la presencia de microorganismos patógenos tales como *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Klebsiella ozaenae*, y *Klebsiella pneumoniae*.<sup>(15)</sup>

## 2.1.2. MARCO CONCEPTUAL

### 2.1.2.1. ESPECIE BOTANICA:

#### 2.1.2.1.1. *Campsiandra angustifolia* (huacapurana)

Tabla 01

Clasificación Taxonómica según APG <sup>(16)</sup>	
Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Rosidae
Orden	: Fabales
Familia	: Fabaceae
Sub Familia	: Caesalpinioideae
Tribu	: Caesalpinieae
Género	: <i>Campsiandra Benth.</i>
Especie	: <i>angustifolia</i>
Nombre Científico	: <i>Campsiandra angustifolia</i>
Nombre Común	: Huacapurana

#### a. Distribución geográfica y hábitat:

Subfamilia integrada por aproximadamente 160 géneros y ca. 2.500 especies que habitan principalmente en los trópicos y subtropicos de ambos hemisferios, formando parte importante de la vegetación primaria, principalmente en América. Las Caesalpinioideae ocupan un ancho rango de ambientes, algunas estrictamente en selvas tropicales distribuyéndose entre altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 3.600-4.000 msm.

En Sudamérica se encuentran 65 géneros (entre nativos e introducidos) y aproximadamente 1.200 especies, género con 2-3 especies sudamericanas, se encuentra en el Perú, en los departamentos de Loreto (Tamshiyacu, Panguana 1° y 2° zona e Indiana – río Amazonas; Tahuayo – río Tahuayo; Ushpacaño – río Itaya; Momón y Padre cocha – río Nanay; Llachapa – río Napo carretera Iquitos-Nauta Km 15.5 y 45; también en Venezuela, Colombia y Brasil.

b. Descripción botánica:

❖ *Caesalpinioideae*

Árboles, arbustos o lianas (hierbas). Hojas alternas, paripinnadas (1- o 2-folioladas, imparipinnadas, 2-pinnaticompuestas o simples y a veces 2-lobadas), frecuentemente con nectarios glandulares en el pecíolo o raquis. Flores ligeramente a evidentemente zigomorfas; sépalos (4)5, libres o casi libres, imbricados (valvares); pétalos (0 o 1)5, libres imbricados, el superior usualmente interno respecto a los laterales, estambres con filamentos libres o unidos.<sup>(1)</sup>

Campsiandra es un género de plantas fanerógamas con 22 especies dentro de las especies más representativas se menciona a:

- *Campsiandra angustifolia*
- *Campsiandra aymardii*
- *Campsiandra casiquiarensis*
- *Campsiandra chigo-montero*
- *Campsiandra comosa*
- *Campsiandra curaara*
- *Campsiandra emonensis*
- *Campsiandra ferruginea*
- *Campsiandra gomez-alvareziana*
- *Campsiandra guayanensis*
- *Campsiandra implexicaulis*
- *Campsiandra laurifolia*
- *Campsiandra macrocarpa*
- *Campsiandra nutans*
- *Campsiandra pasibensis*
- *Campsiandra rosea*
- *Campsiandra steyermarkiana*
- *Campsiandra surinamensis*
- *Campsiandra taphornii*
- *Campsiandra tephornii*
- *Campsiandra velutina*

- *Campsiandra wurdackiana*<sup>(16)</sup>

❖ *Campsiandra Benth.*

Árboles inermes. Hojas imparipinnadas, foliolos grandes, opuestos o subopuestos, raquis aplanado; estípulas pequeñas y caducas o ausentes. Flores blancas o rosadas en racimos cortos, corimbosos, terminales brácteas y bractéolas pequeñas y caducas o ausentes, cáliz campanulado, sépalos libres, imbricados; pétalos oblongos, imbricados; estambres 15 – 60, anteras con dehiscencia longitudinal. Fruto legumbre aplanada, recta o curvada, coriácea, 2-valvar.

❖ *Campsiandra angustifolia Spruce ex Benth.*

Árboles; ramitas tomentulosas. Foliolos (9)11 – 13, estrecho-oblongos, 9 - 18 x 3.5 - 7.5 cm, ápice longi – acuminado, haz +- glabra, envés opaco; venación secundaria ligeramente elevada por el envés. Cáliz ca. 5 mm de largo, lóbulos agudos, ca. 2mm de largo, ampliamente oblongos. Legumbres coriáceas, estrechamente marginadas en la sutura dorsal, 20 – 25 x 5 – 7 cm. H: en planicie inundable estacional “tahuampa” (ALL-M, SUC).

❖ Usos *Campsiandra angustifolia Spruce ex Benth.*

Corteza:

**Antirreumático y contra enfriamientos:** 100 g de la corteza se maceran en un litro de aguardiente durante 15 días. Se toma una copita por las mañanas antes de bañarse.

**Antidiarreico:** se toma una taza del cocimiento de 50 g de corteza en un litro de agua.

**Observación**

Esta planta también es ingrediente de los licores amazónicos (7, 21 raíces, R. C., etc.)

## 2.1.2.2. CONTROL MICROBIOLÓGICO

Para alcanzar la calidad microbiológica es necesario aplicar pasos ordenados a través de la cadena de producción. A lo largo de esta cadena se pueden presentar una serie de inconvenientes que pueden llevar a obtener un producto o productos que tengan características muy distintas a las esperadas, tanto para el consumidor final como para la empresa. Por esta razón para garantizar la calidad es importante tener en cuenta que este se basará en el control de la presencia y la multiplicación de los microorganismos ya que factores como el sustrato proporcionado por el producto, el tipo de ambiente, temperatura, humedad relativa entre otros pueden ocasionar su presencia. <sup>(1)</sup>

Los problemas microbiológicos suelen presentarse cuando no se alcanza el efecto deseado durante el proceso o por los sistemas de conservación que se tengan, y esto suele ser consecuencia de errores en la manipulación o procesado. La detección de dichos errores, su rápida corrección y prevención, son el principal objetivo de cualquier sistema de control microbiológico. (Forsythe, 2002). <sup>(1)</sup>

### a. Importancia del control microbiológico

La revolución industrial supuso una profunda transformación en la economía y la sociedad. Los cambios originados más inmediatos se produjeron en los procesos de producción: que, como y donde se producía. Esto se condujo a que se tuvieron que extremar las precauciones, para evitar microorganismos perjudiciales en los alimentos y su conservación como también en el agua. <sup>(1)</sup>

En todo Control Microbiológico de calidad se destacan dos aspectos:

- ❖ Calidad Higiénico-Sanitaria: que no se distribuyan microorganismos patógenos para la salud.
- ❖ Calidad comercial: presencia de microorganismos, que alteren el producto haciéndolo no comestible (aunque no sean patógenos). <sup>(1)</sup>



La pérdida de calidad de un producto, por tanto, puede ser debido a la presencia de microorganismos patógenos o de microorganismos que alteran el producto de tal manera que lo convierten en no apto para el consumo. Por esto que surge la necesidad de que todas las industrias se capaciten y conozcan sobre la importancia que adquiere la calidad microbiológica de sus productos, a nivel de las materias primas que usan, que conozcan la calidad de todos los procesos de elaboración y por supuesto la calidad del producto final. <sup>(1)</sup>

Los microorganismos en los productos de consumo pueden ser controlados por eliminación, inhibición de su multiplicación o por su destrucción total. Los métodos dependen de la sensibilidad de los microorganismos que se tienen que controlar y del propio producto. Se destacan la sensibilidad al calor o al frío de los microorganismos, a sus necesidades de agua, sensibilidad a los álcalis, a la radiación y a productos químicos. En Microbiología, el objetivo principal es garantizar productos saludables e inocuos y evitar el deterioro microbiológico de los mismos. <sup>(1)</sup>

Para obtener información acerca de la calidad microbiológica de un producto es necesario llevar a cabo análisis microbiológicos que permitan determinar la presencia de los mismos. Por eso, hay un gran número de técnicas para establecer esa calidad microbiológica. Para ello es importante tener en cuenta los siguientes aspectos:

- ❖ El significado de los grupos y especies de microorganismos presentes.
- ❖ Normas y especificaciones microbiológicas que deben cumplir los productos: es decir, disponer de patrones de comparación para saber si las cantidades de microorganismos presentes en un producto son normales o no. <sup>(1)</sup>

#### b. Importancia del control microbiológico en plantas medicinales

Los productos de origen natural generalmente suelen contener un elevado número de bacterias y hongos, sobre todo procedentes del suelo en el caso de las hierbas. Las condiciones en las que se recolectan las materias primas favorecen una



contaminación abundante y el crecimiento de la microbiota, aunque cuando estos productos se desecan por calentamiento se disminuyen considerablemente.

La carga bacteriana predominante suele estar compuesta por bacterias aerobias esporuladas, no esporuladas, microorganismos indicadores y algunos patógenos. La carga microbiana en estos productos puede reducirse mediante el empleo de óxido de etileno y en menor medida con óxido de propileno.

La irradiación también es efectiva en la reducción de los microorganismos presentes. Después de la recolección y desecación no se producen alteraciones de origen bacteriano, sin embargo los hongos pueden desarrollarse por factores como temperatura y humedad durante almacenamiento y transporte.<sup>(4)</sup>

#### 2.1.2.2.1. Calidad microbiológica

La calidad microbiológica implica pasos ordenados dentro de la cadena de producción, donde se pueden presentar inconvenientes que dan como resultado, un producto con características distintas de las deseadas tanto para el consumidor como para la empresa. Así para garantizar la calidad es importante recordar que esta se basa en el control de la presencia y la multiplicación de los microorganismos.<sup>(1)</sup>

La calidad puede medirse desde distintos puntos de vista: en términos organolépticos y sensoriales, en términos de su composición química, en términos físicos, en términos de carga microbiana tanto cualitativa como cuantitativa.<sup>(1)</sup>

La calidad microbiológica, debido a su relación directa con la garantía en los productos de consumo, se resaltan los siguientes aspectos:

- ❖ La protección del consumidor frente a las enfermedades de origen microbiano, transmitidas por este producto.
- ❖ La prevención de alteraciones de estos productos debida a la acción de estos microorganismos.<sup>(1)</sup>

La calidad microbiológica, es un elemento fundamental durante la evaluación de un producto, ya que permite determinar los requisitos microbiológicos, tanto desde el punto de vista sanitario como comercial. <sup>(1)</sup>

Cuando la salud del consumidor se ve expuesta, debe ampliarse el control en las industrias, que permita adoptar técnicas adecuadas de manipulación, fabricación y distribución. En la actualidad aunque existen métodos y tecnologías que permiten entregar productos de buena calidad, se siguen presentando brotes de enfermedades por ingestión de alimentos, principalmente por la inadecuada manipulación. <sup>(1)</sup>

#### 2.1.2.2.2. Criterios microbiológicos

Para diferenciar un producto de calidad microbiológica admitido de una de calidad no admitida, es necesario aplicar normas o criterios microbiológicos que serán específicos para cada producto. La forma más segura, es emplear el número o tipo de microorganismos en el producto o sobre el producto, para evaluar su calidad y su seguridad microbiológica. <sup>(1)</sup>

Todo criterio microbiológico debe incluir:

- ❖ Los microorganismos contaminantes: aquellas que pueden ser de características patógenas o no patógenas, importantes en salud pública.
- ❖ Los métodos analíticos: mediante los cuales, se busca el microorganismo implicado o sus toxinas.
- ❖ Los planes de muestreo: obtener una muestra representativa de un determinado lote o producto, teniendo en cuenta el número de muestras que se toman y las que se analizan.
- ❖ Los límites microbiológicos: el límite contemplado dentro de la normatividad para el producto evaluado. <sup>(1)</sup>

### **a. Tipos de criterios microbiológicos**

- ❖ **Obligatorios:** aquel que no debe sobrepasar la norma. Si el producto no cumple las normas establecidas, será de carácter obligatorio establecer un tipo de corrección, incluyendo su rechazo, destrucción, reproceso o la utilización para otro tipo de productos.
- ❖ **Consultivos:** permiten establecer límites de aceptabilidad y estos a su vez sirven para alertar las posibles deficiencias en el proceso. <sup>(1)</sup>

### **b. Componentes de un examen microbiológico**

- ❖ **Muestreo:** debe ser de manera adecuada, siguiendo los protocolos apropiados, las muestras deberán ser estadísticamente significativas y por esta razón se llevan a cabo planes o programas de muestreo.
- ❖ **Método analítico:** se busca el más sensible, que permita lo que se quiere, de igual manera se busca también que sea económico.
- ❖ **Interpretación de resultados:** conocimiento y significado de los microorganismos presentes en el producto evaluado. <sup>(1)</sup>

#### **2.1.2.3. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS**

La presencia de microorganismos en productos de consumo, no significa necesariamente un peligro para el consumidor o una calidad inferior de ese producto, en realidad, si consideramos un alimentos, cada bocado puede contener levaduras inocuas, mohos, bacterias y otros microorganismos .la mayor parte de productos se convierten en potencialmente peligrosos después de que no hayan sido respetados los principios de higiene, limpieza y desinfección. El riesgo se hace evidente cuando de esta manera pueden llegar a un producto agentes infecciosos o microorganismos alterantes que reduzcan la vida comercial del producto. <sup>(3)</sup>

Muchas veces es deseable una estimación del número de microorganismos viables que hay en el producto, pero con mayor frecuencia se obtiene más información del recuento de microorganismos de algún componente de la microbiota total, por ejemplo mohos en cereales, bacterias psicótrofas en productos que se tienen que almacenar a bajas temperaturas, anaerobios almacenados al vacío o levaduras en pepitas de fruta.<sup>(3)</sup>

Otras veces, es necesario saber si un producto satisface determinados criterios microbiológicos, por lo cual se hace necesario identificar y contar la población de determinado microorganismo. <sup>(3)</sup>

#### 2.1.2.3.1. Microorganismos indicadores:

Se establecen dos tipos: los indicadores de calidad microbiológica (de vida comercial) y los indicadores de inocuidad.

a. Indicadores de calidad microbiológica: en los criterios microbiológicos suelen usarse microorganismos indicadores, que permiten evaluar la calidad de un producto o predecir su vida útil. Un microorganismo indicador de calidad ideal debería cumplir los siguientes requisitos :

- ❖ Estar presente y ser detectable en todos los productos cuya calidad quiera evaluarse.
- ❖ Su crecimiento y recuento deberían mostrar una correlación alta y negativa con la calidad del producto, es decir, cuanto mayor sea la concentración del microorganismo peor será la calidad.
- ❖ Deberían ser fáciles de detectar y cuantificar y ser claramente distinguibles de otros microorganismos.
- ❖ Deberían poder cuantificarse rápidamente.
- ❖ Su crecimiento no debería verse afectado adversamente por el resto de componentes de la microbiota del producto. <sup>(3)</sup>

El *recuento de aerobios en placa* , suele ser uno de los procedimientos usados por los criterios microbiológicos para evaluar la calidad de un producto , además , con esta técnica se pueden variar los parámetros de incubación o el medio de cultivo , para poder examinar grupos de microorganismos como los termorresistentes , mesófilos , psicrófilos , proteolíticos , lipolíticos. <sup>(3)</sup>

Sin embargo, el denominado *recuento de bacterias aerobias mesófilas*, es el más comúnmente utilizado para indicar y valorar la calidad de un producto de consumo. Recuentos altos de estos microorganismos pueden indicar materias primas contaminadas, tratamientos insatisfactorios o una alteración del producto ya muy avanzada. Además, la presencia de un número altos de bacterias mesófilas, que crecen bien a temperatura corporal o próxima, significa que pueden haberse dado condiciones favorables para la multiplicación de microorganismos patógenos. Por esto, este tipo de recuento también es un buen indicador de inocuidad. <sup>(3)</sup>

Estos microorganismos son a su vez, los principales alterantes de los productos. No sólo los microorganismos en sí sirven como indicadores de calidad, sino que también sus productos metabólicos pueden ser usados para evaluar y predecir la calidad microbiológica de algunos productos. Cuando se llega a establecer una correlación entre la presencia de un determinado producto metabólico y la pérdida de calidad del producto, el ensayo de metabolitos puede formar parte también de un criterio microbiológico. <sup>(3)</sup>

- b. Indicadores de inocuidad (patógenos y toxinas): Los criterios microbiológicos para evaluar la seguridad sanitaria de los productos, utilizan también ensayos de microorganismos indicadores que sugieren la posibilidad de un riesgo microbiológico. El ensayo directo, en busca de los patógenos o de sus toxinas es impracticable, salvo en algunos casos, como el análisis de *Salmonella* o el de *Staphylococcus*. En su lugar se lleva a cabo el análisis de los microorganismos indicadores. <sup>(3)</sup>

El principal objetivo en la utilización de microorganismos como indicadores en prácticas no sanitarias, es revelar efectos de tratamiento que llevan consigo un peligro potencial. Peligro que no tiene por qué estar necesariamente presente en la muestra particular analizada.<sup>(3)</sup>

Al igual que los microorganismos indicadores de calidad comercial, los indicadores de patógenos deben cumplir también unos requisitos:

- ❖ Ser fáciles de detectar de forma rápida, directa.
- ❖ Ser fácilmente distinguibles del resto de la microbiota del producto
- ❖ Su presencia estar siempre asociada a la presencia del patógeno/s que se quiera indicar.
- ❖ Ser un microorganismo cuyo número se relaciona con la cantidad de patógeno.
- ❖ Poseer requerimientos metabólicos y tasas de crecimiento iguales a los del patógeno de interés.
- ❖ Tener una tasa de muerte al menos paralela la del patógeno de interés y que persista durante algún tiempo más que el patógeno.<sup>(3)</sup>

#### 2.1.2.3.2. Recuentos a realizar

##### a. Recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales:

Las bacterias mesófilas aerobias se definen como un grupo heterogéneo de bacterias capaces de crecer entre 15 y 45 °C, con un rango óptimo de 35°C. La presencia de este tipo de microorganismos refleja la calidad sanitaria de los productos analizados indicando, además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados. Mediante el recuento de microorganismos aerobios mesófilos se estima la microbiota, pero sin identificar tipos de microorganismos.

Tiene un valor limitado como indicador de la presencia de patógenos o sus toxinas. Un recuento total de aerobios mesófilos bajo, no asegura que un producto esté exento de patógenos o sus toxinas; tampoco un recuento total alto significa, inevitablemente, presencia de microbiota patógena.

Cuando se hace un recuento de este tipo, también hay que tener en cuenta que:

- ❖ Sólo se cuantifican células viables, por lo que no tiene valor para conocer cuál era la calidad de las materias primas de los productos, que luego fueron procesadas.
- ❖ Puede resultar de escaso valor si se quiere conocer la calidad organoléptica, ya que normalmente es necesario un recuento elevado antes de observar una pérdida de esta calidad organoléptica.
- ❖ Como las distintas bacterias difieren en sus actividades bioquímicas, la pérdida de calidad también puede ocurrir por recuentos bajos, dependiendo de la microbiota presente.

b. Recuento de mohos y levaduras:

Se realiza o bien directamente en el alimento humedecido e incubado a 22°C o bien mediante diluciones sucesivas y siembra en placa en superficie. Es necesario añadir agentes antibacterianos al medio de cultivo para evitar el crecimiento de las bacterias, que es más rápido que el de los mohos.

#### 2.1.2.4. MICROORGANISMOS PATÓGENOS IMPLICADOS

##### A. *Enterobacteriaceae*

El recuento de la familia *Enterobacteriaceae* se utiliza como indicador de la calidad higiénica, además como una posible fuente de contaminación fecal. Este recuento está recomendado en aquellos alimentos que, por su naturaleza tiene la posibilidad de estar contaminados por miembros de esta familia no fermentan la lactosa.<sup>(1)</sup>

Este recuento se basa en la capacidad que posee esta familia para fermentar la glucosa y la ausencia de un sistema citocromo oxidasa en su sistema metabólico.<sup>(1)</sup>



## A.1 *Escherichia coli*.

### A.1.1 Descripción

Es una bacteria cuyo hábitat natural es el tracto entérico del hombre y de los animales de sangre caliente, por ello, la presencia de este microorganismo en un producto indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal, pudiendo estar presentes patógenos entéricos.

Hoy en día, *E. coli* es el indicador de contaminación fecal más utilizado, pero la presencia de *E. coli* en un producto no constituye una connotación directa de la presencia de algún patógeno, sino que implica únicamente un cierto riesgo de que pudiera estar presente.

La no detección de *E. coli* no garantiza la presencia de patógenos entéricos. Se destruye a temperatura de Pasteurización y también durante su almacenamiento en frío, por eso, la presencia de *E. coli* en un producto tratado por calor, significa que o bien ha ocurrido un fallo en el proceso o más frecuentemente ha ocurrido una contaminación después del tratamiento térmico, a partir del equipo, empleados o de producto no procesados (malas prácticas de fabricación).

La mayoría de cepas de *E. coli* son comensales entéricos inoecuos, pero algunas pueden producir enfermedad. Las *E. coli* patógenas intestinales se definen como aquellas cepas capaces de causar una enfermedad diarreica en hombres y animales. Las cepas de *E. coli* importantes como posibles patógenos se encuentran en las heces y pueden pasar a los productos de consumo, bien por prácticas antihigiénicas o por materias primas contaminadas como el uso de aguas fecales.

Las cepas de *E. coli* implicadas en enfermedades pueden incluirse en 6 grupos basados en su virulencia y serología:

- ❖ ECEP (enteropatogénica): son enteropatógenas, no producen enterotoxinas, aunque pueden producir diarrea grave puesto que son capaces de invadir células epiteliales. Las personas son un reservorio importante.
- ❖ ECET (enterotoxigénica): cepas que son enterotoxigénicas, son la causa principal de la diarrea infantil en los países en desarrollo y son los agentes más típicos de la diarrea del viajero. Colonizan el intestino delgado y producen toxinas que atraen la acumulación de líquido y una respuesta diarreica.
- ❖ ECEI (enteroinvasiva): enteroinvasoras, no producen toxinas, pero invaden y se multiplican en el interior de las células epiteliales del colon.
- ❖ ECEH (enterohemorrágica): enterohemorrágicas, producen toxinas y factores citotóxicos que producen una colitis hemorrágica. Destaca la cepa *E.Coli*0157:H7, produce una toxina denominada verotoxina, esta se identifica como causa de colitis hemorrágica, que se asocia con la ingestión de carne picada vacuna poco cocinada.
- ❖ ECEA (enteroagregativa): solo encontrada en humanos, producen hemolisina y una enterotoxina ST similar a la de las enterotoxigénicas, se le asocian dos toxinas: toxina termoestable enteroagregante (EEAST); toxina codificada por plasmidos (PET).
- ❖ ECAD (adherencia difusa): se adhiere a la totalidad de la superficie de las células epiteliales y habitualmente causa enfermedad en niños inmunológicamente no desarrollados o malnutridos. <sup>(3)</sup>

A.1.2 Detección e identificación: existen 3 métodos para la detección y recuento de Enterobacterias y *E.coli*:

- ❖ Método del NMP: usando caldos lactosados y posterior confirmación por siembra en placa y en medio EMP.
- ❖ Recuento por siembra en placa, usando el medio VRBG (agar bilis rojo violeta con glucosa) o medio ENDO para coliformes totales, incubando a 37°C .El medio mFc(microfiltración para coliformes) para coliformes fecales cuando lo incubamos a 44°C. Muy usado es el VRBG que usa como agente selectivo las sales biliares y el

colorante cristal violeta. Otro medio es el Mac Conkey, que se puede hacer en líquido (caldo) o placa.

- ❖ Detección de enzimas presentes en este grupo mediante reacciones cromogénicas o fluorogénicas, por ejemplo el reactivo MUG (4-metil-umbeliferil /J-D-glucurónico), específico para *E.coli*, dando un componente fluorescente.

Para identificar *E. coli* se realizan pruebas bioquímicas y/o fisiológicas. El método más general de identificación y confirmación de enterobacterias, incluyendo a *E. coli*, es el que utiliza las pruebas bioquímicas IMV: C y la tinción Gram, aunque hoy en día existen pruebas mucho más rápidas y completas como son las famosas tiras API (Analytical Profile Index) y también hay pruebas serológicas, que son importantes para la determinación de las cepas patógenas, como por ejemplo de *E. coli*, que no poseen las características típicas de las cepas de *E. coli*.

## A.2 *Salmonella sp.*

### A.2.1 Descripción.

Pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, se diferencian de otras bacterias de esta familia por reacciones bioquímicas y serológicas. Algunos serotipos son más virulentos que otros.

Son bacterias Gram negativo, anaerobias facultativas, no forman esporas, fermentan la glucosa con producción de gas, pero no la lactosa. Producen una infección alimentaria denominada salmonelosis, la cual es consecuencia de la ingestión de células vivas de este género. Los síntomas son náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea. La epidemiología es muy compleja, por lo que resulta difícil en la práctica establecer los métodos adecuados para el control.

El origen de la contaminación de los productos de consumo por *Salmonella* es doble: Estos alimentos pueden contener el microorganismo originalmente, origen endógeno, como consecuencia de que los animales productores tenían salmonelosis o eran portadores sanos de salmonellas. Además, hay que tener en cuenta una

contaminación de origen exógeno, de los productos libre de salmonellas, a partir de los manipuladores, utensilios, heces, ingredientes. O en el caso de alimentos de origen vegetal, pueden contaminarse por la utilización de abonos orgánicos o por el riego con aguas contaminadas.

#### A.2.2 Detección e identificación

Dentro de la sistemática analítica, para el aislamiento e identificación de bacterias del género *Salmonella* se utilizan varias etapas:

- ❖ Se hace un preenriquecimiento en medio líquido (Agua de Peptona Tamponada) no selectivo. Aquí se logra la revivificación de las salmonellas lesionadas.
- ❖ Se incrementa su vitalidad y se adquieren las condiciones fisiológicas adecuadas para su desarrollo.
- ❖ Se utiliza cuando se analizan productos que han sido calentados, congelados o desecados y en aquellos en los que es de esperar que se encuentren células de salmonela en escaso número. El medio que más se usa es el agua de peptona tamponada.
- ❖ Enriquecimiento en medios líquidos selectivos. Aquí se estimula y favorece el crecimiento de salmonellas y se restringe la proliferación de la microbiota acompañante. Se consigue mediante compuestos químicos inhibidores, que permite que la proporción de salmonellas con respecto a los demás microorganismos aumente, de modo que puedan ser identificadas en la siguiente etapa. Entre los medios selectivos más usados destaca el caldo tetrionato - bilis - verde brillante y el caldo selenito - cistina.
  
- ❖ Aislamiento diferencial sobre medios sólidos selectivos. La presencia de salmonelas se determina sembrando muestras de los caldos de enriquecimiento, en placas conteniendo medios selectivos. Lo que restringe aún más el crecimiento de la microbiota acompañante. Los medios que más se usan son: agar verde brillante rojo fenol, agar SS, agar xilosa - lisina - desoxicolato y el agar entérico Hektoem. La

diferenciación de salmonella en estos medios con respecto a otros microorganismos se suele conseguir mediante cambios de color que produce en estos medios.

- ❖ Confirmación bioquímica o serológica, las colonias típicas de salmonella de los medios anteriores deben finalmente confirmarse mediante pruebas bioquímicas. Las más definitivas son la prueba de la lisina descarboxilasa, la ureasa, el Kligler y la del citrato. Existen también pruebas rápidas como el API 20E. También se puede recurrir a la identificación por anticuerpos, destacando las pruebas del ELISA.

## B. *Staphylococcaceae*

Los miembros del género *Staphylococcus* son cocos gran positivos, anaerobios facultativos, inmóviles, que habitualmente forman agrupaciones irregulares. Son catalasa positiva, oxidasa negativa, fermentan la glucosa de forma anaerobia, poseen ácido teitoico en sus paredes celulares, un DNA con un contenido mucho más bajo en G+C (30 a 39%). Los estafilococos residen normalmente en la piel, las glándulas cutáneas y las mucosas de animales de sangre caliente.

### B.1 *Staphylococcus aureus*

La importancia de esta bacteria radica en su capacidad de producir enterotoxinas, las cuales son resistentes a las proteasas del intestino y termoestables. Al ser ingeridas producen gastroenteritis con náuseas, vómitos, diarreas y debilidad general, constituyendo una intoxicación, ya que no requiere una multiplicación de la bacteria.

#### B.1.1 Descripción

*Staphylococcus aureus* es un coco Gram +, que forma agrupaciones irregulares como consecuencia de la división celular en más de un plano, son catalasa +, oxidasa - y anaerobios facultativos. Crece en medios sólidos, dando colonias de color dorado o amarillo, destaca su capacidad para crecer en medios con elevado contenido de sal (5-7'5%), de ahí que se emplee esta característica para su aislamiento. Su hábitat principal es la piel, sus glándulas anejas y las mucosas de los animales de sangre caliente. Por eso, cuando se encuentra un gran número de estas bacterias en un producto, significa por lo general que las prácticas higiénicas de limpieza y desinfección y el control de temperatura no han sido adecuados.

### B.1.2 Detección e identificación

*Staphylococcus aureus* se detecta por análisis microbiológicos clásicos, siembra en medios selectivos como los medios manitol salado y o el Baird - Parker, luego se hace aislamiento e identificación. Para la identificación existen pruebas comerciales como los API para estafilococos y para la detección de la toxina se emplean anticuerpos específicos. El procedimiento de confirmación más frecuente es el test de la coagulasa.

### C. Orden *Pseudomonadales*

El género *pseudomonas* es el más importante del orden Pseudomonadales, familia Pseudomonadaceae. El género *Pseudomonas* contiene bacilos rectos o ligeramente curvados, de una longitud de 0.5 a 1.0  $\mu\text{m}$ , que se desplazan mediante uno o varios flagelos polares y carecen de prostecas o vainas. Estas bacterias quimioheterotrofas son aerobias, todas las *pseudomonas* tienen un ciclo de ácidos tricarboxílicos funcional y pueden oxidar sustratos a  $\text{CO}_2$ .

#### C.1 *Pseudomonas aeruginosa*

##### C.1.1 Descripción

Es un bacilo Gram negativo, aerobio, en forma de bastón, se presenta en pares o en cadenas, y no produce esporas. Es móvil, con flagelos monótricos polares, produce pigmentos fluorescentes difusibles la pioverdina, y un pigmento soluble la piocianina. Este último es producido por la mitad de las cepas clínicas, de allí el nombre *aeruginosa*. Es un microorganismo patógeno oportunista que produce compromiso infeccioso en pacientes con alteraciones en las barreras mucocutáneas, con alteraciones severas del mecanismo inmune.

Es nutricionalmente versátil, no requiere de factores de crecimiento orgánicos, es aerobio obligado, excepto en presencia de nitrato. Crece en forma óptima a  $37^\circ\text{C}$  y  $42^\circ\text{C}$ , oxida glucosa y xilosa, pero no maltosa, es positivo para indofenol oxidasa y

no produce H<sub>2</sub>S. Tiene olor dulzón en cultivo que es una característica para confirmar la presencia de *Ps. aeruginosa*.

#### 2.1.2.5. COMPORTAMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS CON RESPECTO AL PH.

La acción del pH sobre el crecimiento de los microorganismos se afecta en tres niveles el medio, la permeabilidad de la membrana y la actividad metabólica. Las bacterias se desarrollan a pH entre 4,5 y 9,0 con un pH óptimo de 6,5 y 7,5. Con excepción de las bacterias acéticas y las bacterias lácticas. Sin embargo la mayoría de los hongos son ácido resistentes con valores extremos de 2 a 9 para levaduras y de 2 a 11 para mohos y el pH óptimo para ambos se sitúa entre 4 y 6. Los alimentos con un pH ácido se alteran fundamentalmente por hongo.

### 2.2. VARIABLE

Microorganismos presentes

#### 2.2.1. INDICADORES

- ❖ Recuento de bacterias aerobios mesófilos totales
- ❖ Recuento de mohos
- ❖ Recuento de levaduras

Microorganismos patógenos: *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

## CAPITULO III

### 3.1. METODOLOGIA

#### 3.1.1. TIPO DE INVESTIGACION

Tipo de estudio: El estudio es del tipo Descriptivo y Prospectivo.

- ❖ Prospectivo: porque en el registro de información se tomaron en cuenta los hechos a partir del inicio de la fecha de estudio.
- ❖ Descriptivo: Porque el estudio describe e interpreta en forma clara y detallada presencia o ausencia de microorganismos patógenos y contaminantes.

#### 3.1.2. DISEÑO DE INVESTIGACION

El estudio se realizó aplicando los ensayos de Limite Microbiano establecidas por la Farmacopea Británica (BP) conteniendo el recuento de microorganismos mesófilos, aerobios, hongos, levaduras y pruebas de ausencia/presencia para microorganismos patógenos como: *Escherichia coli*, *Salmonella s.p.* *Pseudomona aeruginosa*, y *Staphylococcus aureus*.

#### 3.1.3. POBLACION Y MUESTRA

##### 3.1.3.1. POBLACION VEGETAL

La población estuvo constituida por la especie botánica *Campsiandra angustifolia* (huacapurana), que crecen a ambos lados del Km 5, de la carretera Iquitos Nauta desde el Km 17 al Km 70 y del corredor Zungarococha –Nina Rumi. Seleccionadas de la relación de Plantas de uso medicinal en el Centro Herbolario "Pasaje Paquito" de mayor comercialización (García, A. y Tello, R. 2003).



### 3.1.3.2. MUESTRA VEGETAL

Raíz, Corteza y hojas de *Campsiandra angustifolia* (huacapurana), de uso terapéutico en la ciudad de Iquitos se recolectaron en forma aleatoria.

## 3.2. INSTRUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS

### 3.2.1. MATERIALES E INSTRUMENTOS

#### 3.2.1.1. MATERIALES DE LABORATORIO

- A. Vidrio:** Matraz de 250 mL, Matraz de 100 mL, Probeta graduada de 100mL, Tubos de ensayo con tapa rosca (150x15mm), Tubos de ensayo con tapa rosca (75x10mm), Placas Petri, Pipetas lineales (10, 5 y 1mL), Balón (500, 100 y 50 mL), Frascos con tapa rosca de 100 y 250 mL, Vaso de precipitado de 100 mL, Gotero color ámbar, Varilla de vidrio.
- B. Plástico y metal:** Gradilla, Asa bacteriológica de punta, Asa bacteriológica de aro, Espátula de metal.
- C. Reactivos:** Caldo Lactosado, Agar Baird Parker, Agar Cetrimide, Agar Mac Conkey, Agar Bismuto Sulfito, Caldo tripticasa soya (TSB), Caldo selenito-cistina, Buffer fosfato pH 7,2.
- D. Equipos:** Balanza digital, Autoclave, Baño María, Mechero de bunsen, Agitador de tubos, Cocina eléctrica, Incubadora, Refrigeradora.

### 3.2.2. LOCALES

#### 3.2.2.1. AMBIENTES

- Laboratorios del CIRNA -UNAP (Centro de Investigación de Recursos Naturales de la Amazonía).

### 3.2.3. PROCEDIMIENTO

#### 3.2.3.1. INVESTIGACION ETNOBOTANICA

- A. Recolección:** La especie *Campsiandra angustifolia* (huacapurana), de uso terapéutico, fue recolectada, a ambos lados de la carretera Iquitos Nauta desde el Km 17 al Km 70. Caserío Francisco Bolognesi a 1000 GPS de la ciudad de Iquitos.
- B. Selección:** Una vez realizada la recolección de la muestra se procedió a hacer el acondicionamiento de la materia vegetal con el objetivo de realizar una separación de las partes deterioradas y evitar que se mezcle con otras especies.
- C. Identificación taxonómica:** La planta medicinal seleccionada, se llevó al Herbario de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana para su identificación Taxonómica.
- D. Caracterización macromorfológica:** Se llevó a cabo analizando los siguientes caracteres: Forma, textura, superficie, peculiaridades, color, olor, condición y dimensiones; los cuales fueron contrastados con las bibliografías correspondientes

#### 3.2.3.2. TECNICAS

- ◆ Determinación de Aerobios Mesófilos: Técnica de NMP o tubos múltiples
- ◆ Determinación de mohos y levaduras: Recuento en placas
- ◆ Determinación de microorganismos patógenos: Prueba para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, Prueba para determinar la ausencia de *Salmonella spp* y *Escherichia coli*.
  
- ❖ Medios de cultivo: Caldo Lactosado, Agar Baird Parker, Agar Cetrimide, Agar MacConkey, Agar Bismuto Sulfito, Caldo Tripticasa Soya (TSB), Caldo Selenito Cistina, Buffer fosfato pH 7,2.
- ❖ Diluyente: Solución Amortiguadora de fosfatos (buffer fosfato pH. 7,2)

### 3.2.3.3. PREPARACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

#### **Caldo Lactosado.**

Se suspendió 13 g por litro de agua destilada. Mezclar bien y distribuir en tubos con campanitas de Durham, esterilizamos en autoclave durante 15 minutos a 121 °C. pH:  $6,9 \pm 0,2$  a 25°C.

#### **Agar Baird Parker.**

Se disolvió 58 g en 0,95 litros de agua desmineralizada calentando en baño de agua hirviendo o en corriente de vapor, se trató en autoclave 15 minutos a 121 °C. se añadió estérilmente y se mezcló a 50 hasta 45 °C, 50 ml de emulsión de yema de huevo-telurito y eventualmente 50 mg/l de Sulfametazina. pH:  $6,8 \pm 0,2$  a 25°C.

#### **Agar Cetrímide**

Se disolvió 45,3 g por litro de agua destilada calentando en un baño de agua hirviendo o en corriente de vapor. Se trató en autoclave 15 minutos a 121°C verter en placas. pH:  $7,2 \pm 0,2$  a 25°C.

#### **Agar Mac Conkey:**

Se disolvió 50 g por litro de agua destilada calentando en un baño de agua hirviendo o en corriente de vapor, se trató en autoclave 15 minutos a 121°C. pH:  $7,1 \pm 0,2$  a 25 °C.

#### **Agar Bismuto Sulfito:**

Se suspendió 47,5 g por litro de agua destilada calentando en un baño de agua hirviendo o en corriente de vapor. "no tratamos en autoclave". Se distribuyó uniformemente el p.p. formado y verter en placas con capas de gran espesor. PH:  $7,6 \pm 0,2$  a 25 °C.

### **Caldo Tripticasa Soya (TSB):**

Se suspendió 30 g por litro de agua destilada. Se disolvió en medio completo. Esterilizamos en autoclave a 15 lb durante 15 minutos a 121°C. pH:  $7,3 \pm 0,2$  a 25°C.

### **Caldo Selenito-Cistina**

Se disolvió 23 g por litro de agua destilada a temperatura ambiente, se calentó brevemente (máx. 60 °C), se filtró estérilmente en caso de preverse almacenamiento. “no se trató en autoclave” y ajustar a pH:  $7,0 \pm 0,2$  °C.

### **Solución amortiguadora de fosfatos**

Se disolvió 17,799 g de disodio fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) y 13,799 g de sodio dihidrogenofosfato monohidratado ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) en un litro de agua destilada, se mezcló bien y se ajustó a pH: 7,2.

### 3.2.3.4. ENSAYOS DE LÍMITE MICROBIANO

#### 3.2.3.4.1. Determinación de Aerobios Mesófilos

##### a. Método en tubos múltiples.

- ❖ Primero se preparó el macerado inicial; para ello se disolvió 10 g de la muestra medidos con exactitud, en Solución Amortiguadora de Fosfato de pH 7.2, para obtener 100mL. y se homogenizo en el Stomacher durante 2 minutos. Así conseguimos el macerado inicial.
- ❖ En cada uno de 14 tubos de tamaño similar, colocamos 9,0 mL del medio Caldo Tripticasa Soya (TSB). Distribuimos 12 de los tubos en cuatro grupos de tres tubos cada uno.
- ❖ Pipeteamos 1 mL de la solución o suspensión de la muestra y transferimos a cada uno de los tres tubos de un grupo (“100”) y a un cuarto tubo (A) y mezclar.
- ❖ Pipeteamos 1 mL del tubo A y transferimos al tubo restante (B), no incluido en un grupo y mezclamos. Estos dos tubos contienen 100 mg (o 100 ul) y 10 mL (o 10ul) de la muestra, respectivamente.
- ❖ Pipeteamos 1 mL del tubo A y transferimos a cada uno de los tres tubos del segundo grupo (“10”) y pipeteamos 1 mL del tubo B y transferimos a cada tubo del tercer grupo (“1”). Desechamos el contenido no utilizado de los tubos A y B.
- ❖ Cerramos bien e incubamos todos los tubos. Una vez transcurrido el periodo de incubación, examinamos los tubos para verificar el crecimiento de los microorganismos: los tres tubos de control se mantuvieron transparentes y los resultados observados en los tubos que contenían la muestra, interpretados según la siguiente tabla, indicaron el número más probable de microorganismos por g o por ml de muestra.

Tabla 2.-Recuento total más Probable por el Método en Tubos Múltiple

Combinaciones observadas de Numero de Tubos que Evidencian Crecimiento en cada grupo			Número más probable de microorganismos por g o por MI
Nº de mg (o ml) de muestra por tubo			
100 (100 ul)	10 (10ul)	1 (1ul)	
3	3	3	>1100
3	3	2	1100
3	3	1	500
3	3	0	200
3	2	3	290
3	2	2	210
3	2	1	150
3	2	0	90
3	1	3	160
3	1	2	120
3	1	1	70
3	1	0	40
3	0	3	95
3	0	2	60
3	0	1	40
3	0	0	23

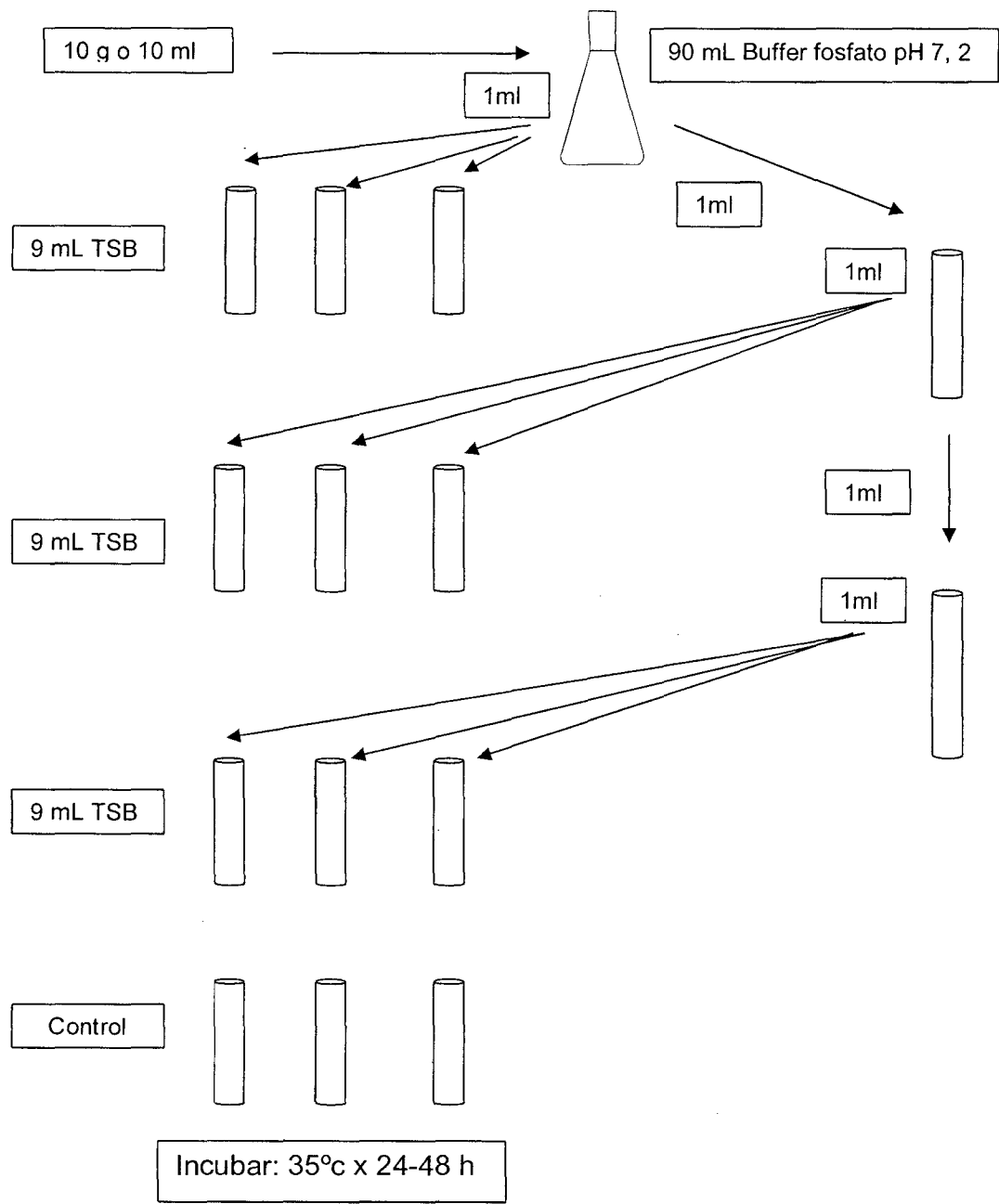


Figura 1. Prueba de los tubos múltiples



#### 3.2.3.4.2. Determinación de mohos y levaduras

- ❖ Primero se preparó el macerado inicial; para ello disolvimos 10 g de la muestra medidos con exactitud, en Solución Amortiguadora de Fosfato de pH 7,2, para obtener 100mL. y homogenizamos en el Stomacher durante 2 minutos. Así conseguimos el macerado inicial.
- ❖ Añadimos 1 ml del macerado inicial en un tubo que contenga 9,0 mL de buffer fosfato pH 7,2 homogenizamos usando un agitador excéntrico de tubos de ensayo durante 20 segundos o agitando manualmente 25 veces en 7 segundos con movimientos ascendentes y descendentes formando un ángulo de abertura aproximado de 60° entre brazo y antebrazo.
- ❖ Repetimos la operación anterior transfiriendo 1mL de la dilución a otro tubo con 9 mL de buffer fosfato pH 7,2.
- ❖ Pipeteamos 1 mL y transferimos a dos placas Petri estériles por cada nivel de dilución. Agregamos de inmediato a cada placa de 15 a 20 mL de medio Agar Dextrosa papa o Agar saboraud, previamente fundido y enfriado aproximadamente 45°. Cubrimos las placas Petri, mezclamos la muestra con agar inclinando ligeramente o rotando suavemente las placas y dejamos que el contenido se solidifique a temperatura ambiente.
- ❖ Invertimos las placas Petri e incubamos a 25 o 28°C hasta la aparición de colonias (aproximadamente 5 a 8 días)

Criterio de aceptación para la calidad microbiológica de hongos y levaduras, éste se interpreta de la siguiente manera:

$10^1$  ucf: recuento máximo aceptable: 20

$10^2$  ucf: recuento máximo aceptable: 200

$10^3$  ucf: recuento máximo aceptable: 2000 y así sucesivamente. <sup>(17)</sup>



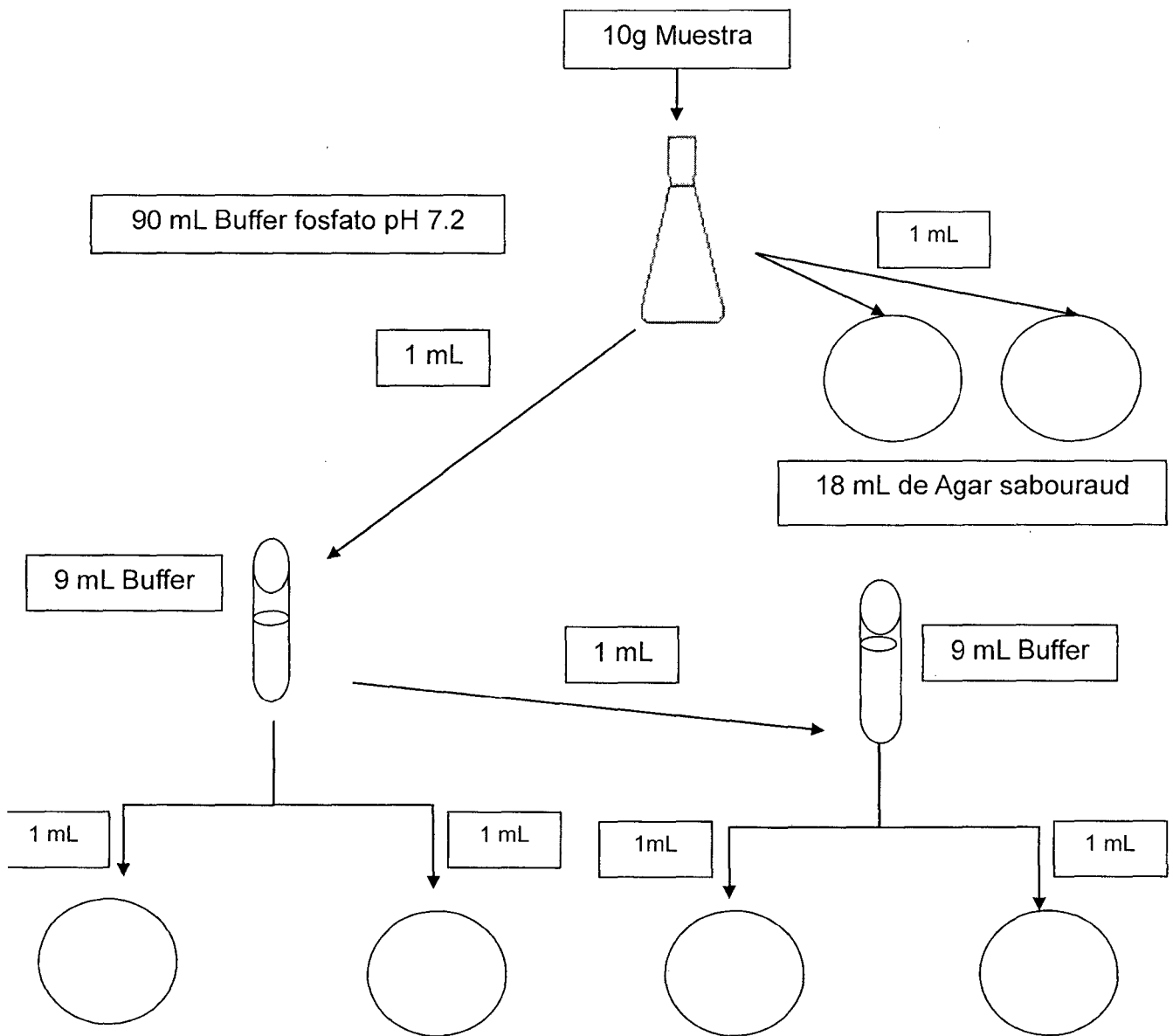


Figura 2. Recuento de mohos y levaduras en placa

### 3.2.3.4.3. Determinación de Microorganismos Patógenos

#### a. Prueba para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*

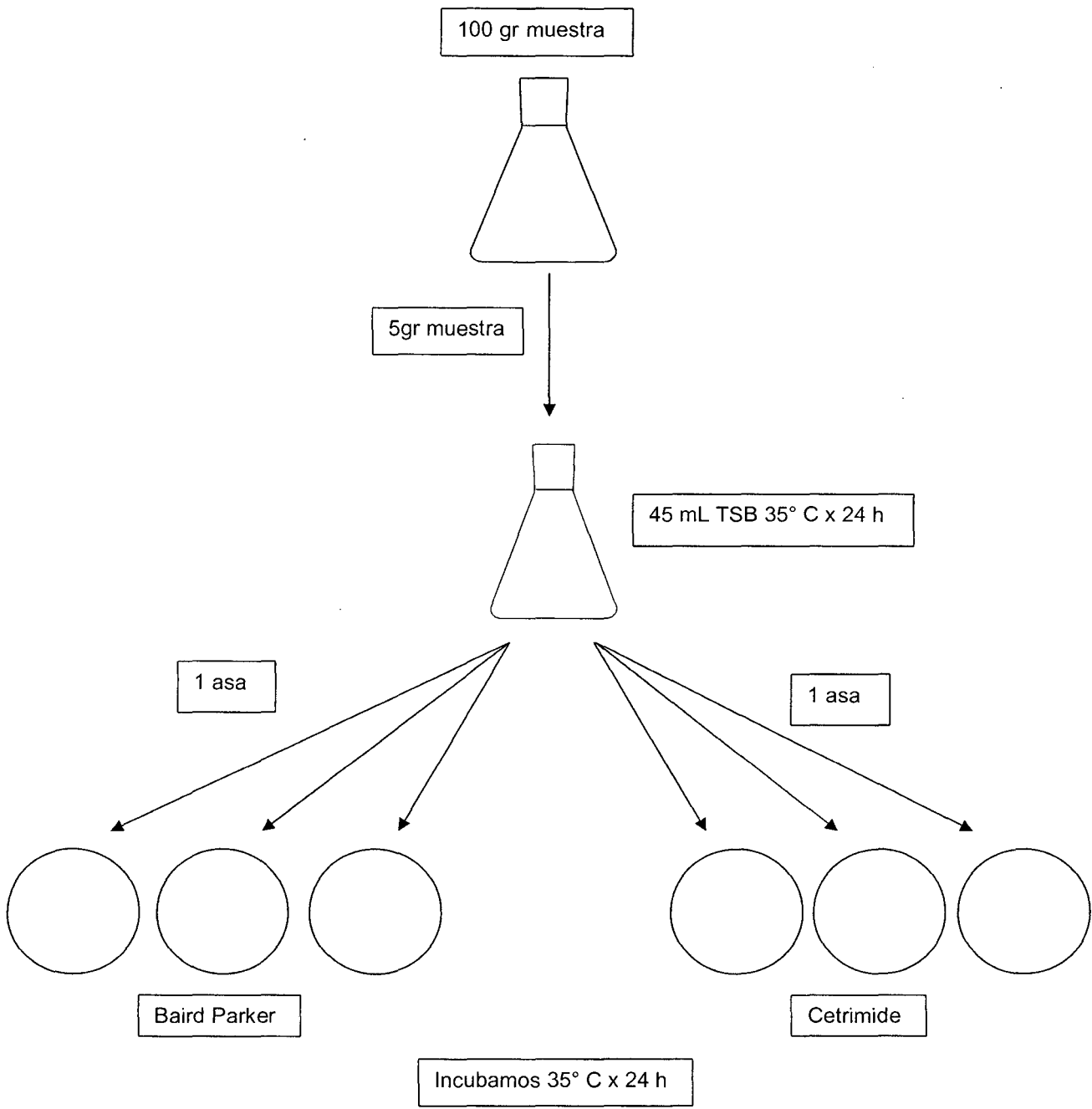
- Del macerado inicial sacamos 5gr y agregamos el Medio Caldo Tripticasa Soya (TSB) a la muestra, mezclamos e incubamos.
- Examinamos el medio para verificar el crecimiento y si hubo crecimiento, utilizamos un bucle de inoculación para realizar estrías con una porción del medio sobre la superficie del medio Agar Vogel Johnson (o Medio Agar de Baird-Parker o Medio Manitol-Agar Salado) y del Medio Cetrimide, cada uno de ellos colocamos en placas de Petri.
- Cubrimos las placas, invertimos e incubamos.
- Si al examinarlas, ninguna de las placas contenía colonias con las características enumeradas en las siguientes tablas, para los medios utilizados, entonces la muestra de prueba cumplía con los requisitos de ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*

Tabla 3 Características morfológicas de *Staphylococcus aureus* en Medio Agar Selectivo.

Medio Selectivo	Morfología características de las colonias	Tinción de Gram
Medio Agar de Baird Parker	Negro, rodeado de una zona amarilla	Cocos positivos (en grupos)

Tabla 4. Características Morfológicas de *Pseudomona aeruginosa* en Medio Agar Selectivo y de Diagnostico

Medio Selectivo	Morfología característica de las colonias	Fluorescencia en Luz UV	Prueba de Oxidasa	Tinción de Gram
Medio Agar Cetrimide	Generalmente verdoso	Verdoso	Positivo	Bastones negativos



**Figura 3.** Prueba para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*

b. Prueba para determinar la ausencia de *Salmonella spp* y *Escherichia coli*.

- Agregamos a la muestra que está contenida en un vaso adecuado, un volumen de Medio Líquido de Lactosa para obtener 100 ml e incubamos.
- Examinamos el medio para verificar el crecimiento, y si presentaba crecimiento, mezclábamos agitábamos suavemente.
- Pipeteamos porciones de 1 ml y transferimos a vasos que contengan, respectivamente 10 ml de Medio Líquido de Selenito-Cistina, mezclamos e incubamos durante 12 a 24 horas (conservar el remanente del medio Líquido de Lactosa).

b.1 Prueba para determinar la ausencia de *Salmonella spp*.

- Por medio de un bucle de inoculación realizamos estrías de los medios Selenito-Cistina sobre la superficie del Medio Agar Verde Brillante, del Medio Agar con Sulfito de Bismuto contenidos en placas de Petri.
- Cubrimos las placas invertimos e incubamos.
- Al examinar las placas, si ninguna de las colonias se ajustaba a la descripción que aparece en la siguiente tabla, nuestra muestra entonces cumplía con los requisitos, de la prueba para determinar la ausencia del género *Salmonella*.

Tabla 5. Características Morfológicas de *Salmonella spp* en medio Agar Selectivo

Medio Selectivo	Morfología características de las colonias
Medio Agar con Sulfito de Bismuto	De color negro o verde

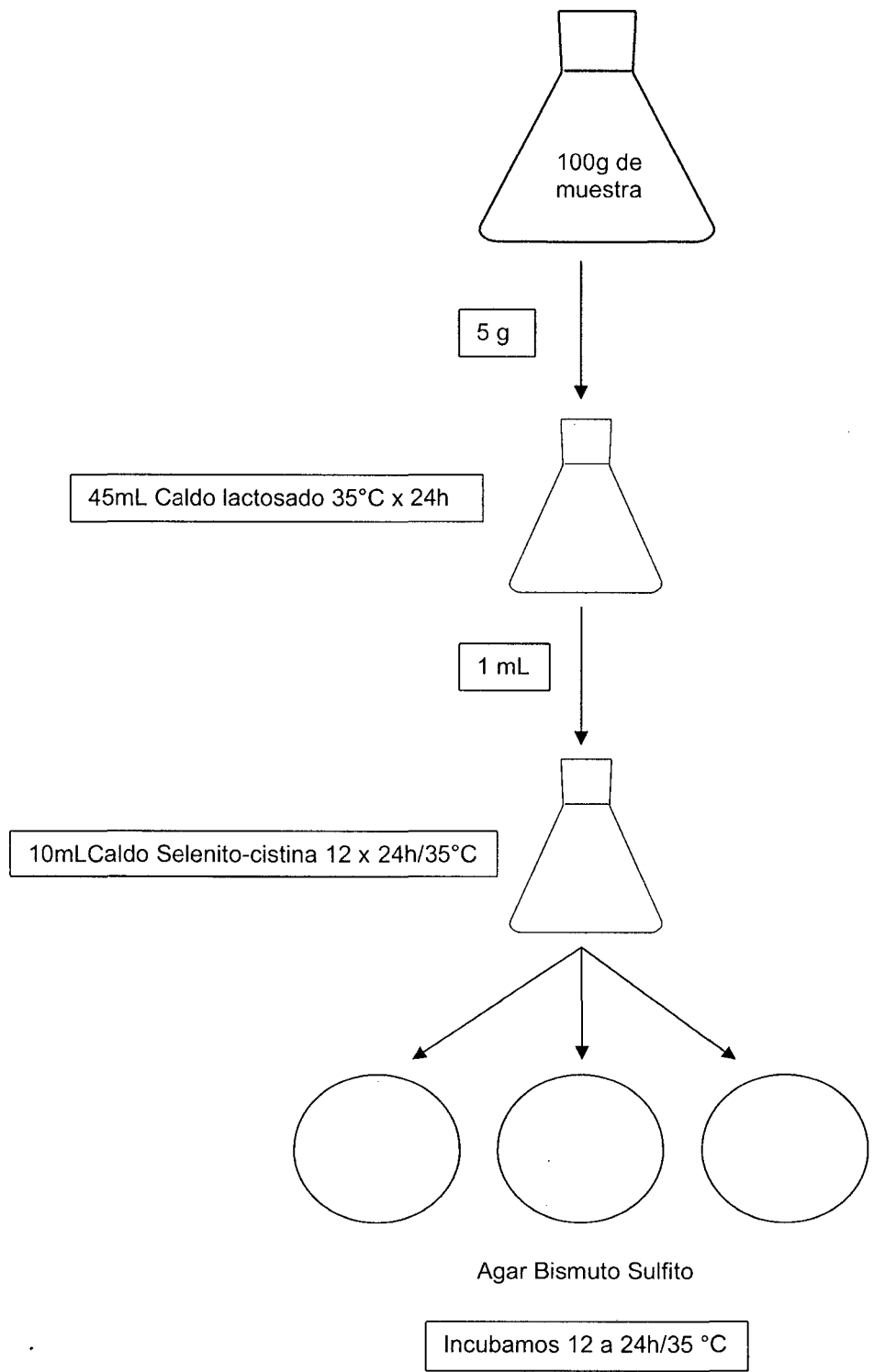


Figura 4. Prueba para determinar la ausencia de *Salmonella spp*

b.2 Prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*.

- Con ayuda de un bucle de inoculación, se hizo estrías con una porción del Medio Líquido de Lactosa restante sobre la superficie del medio Agar Mac Conkey.
- Cubrimos las placas, invertimos e incubamos.
- Al examinar las placas, y si ninguna de las colonias se ajustaba a la descripción que aparece en la siguiente tabla para este medio, la muestra cumplía con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*.

Tabla 6. Características Morfológicas de *Escherichia coli* en Medio Agar Mac Conkey.

Tinción Gram	Morfología características de las colonias
Cocos negativos (cocos-bacilos)	De color rojo ladrillo, pueden tener una zona de bilis precipitada alrededor

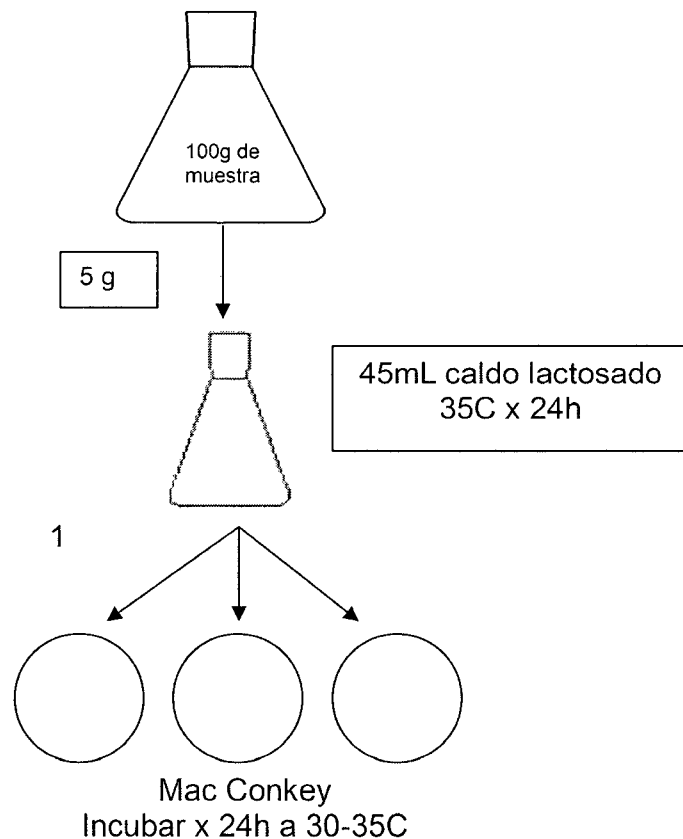


Figura 05. Prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*.

### 3.3. PLAN DE ANALISIS DE INTERPRETACION

Los resultados obtenidos en los diferentes ensayos se expresan en términos de valores resultantes de cumplimiento para ensayos de límites microbianos de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, las enterobacterias como *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, y por último aerobios y hongos.

Tabla 7. Indicadores microbiológicos

INDICADORES MICROBIOLÓGICOS	LÍMITE POR Gr/MI
Microorganismos aerobios mesófilos	>1100
Mohos y Levaduras	$2 \times 10^3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Ausente
<i>Salmonella</i> sp.	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	Ausente

Interpretación de los criterios de aceptación para la calidad microbiológica de hongos y levaduras, éste se interpreta de la siguiente manera:

$10^1$  ucf: recuento máximo aceptable:20

$10^2$  ucf: recuento máximo aceptable:200

$10^3$  ucf: recuento máximo aceptable:2000 y así sucesivamente. (FARMACOPEA USP 35)

El procesamiento de datos con respecto a las variables de estudio se realizará mediante el software estadístico SPSS 18.0 para Windows y Excel, los cuales nos permitirán elaborar cuadros de distribución de frecuencia, gráficos y calcular los datos estadísticos necesarios para el estudio.

### EVALUACIÓN DE DATOS

Los datos van a ser procesados según la estadística descriptiva en tablas y gráficos en el software de SPSS 21 para Windows.

## CAPITULO IV

### 4.1. RESULTADOS

#### 4.1.1. Análisis de Aerobios Mesófilos

Tabla 8. Resultados obtenidos en el análisis de aerobios mesófilos

N°árbol	Procedencia	UFC/gr de muestra				
		Coordenadas		Órgano de la planta		
		X	Y	Raiz	Corteza	Hojas
1	Cahuide	667263	9532815	>1100	150	150
2	Francisco Bolognesi	673505	9533511	>1100	>1100	150
3	Francisco Bolognesi	673482	9533504	>1100	>1100	>1100
4	Francisco Bolognesi	673008	9533838	>1100	>1100	>1100
5	Francisco Bolognesi	672772	9534208	>1100	>1100	>1100
6	Francisco Bolognesi	672432	9533930	>1100	>1100	>1100
7	Nina rumi	678890	9575002	500	23	500
8	Nina rumi	678414	9574730	>1100	>1100	>1100
9	Nina rumi	678408	9574770	>1100	>1100	200
10	Nina rumi	678408	9574775	>1100	1100	150
11	Nina rumi	676423	9575833	1100	200	500
12	Nina rumi	676417	9575839	>1100	200	40
13	Nina rumi	677230	9576593	1100	200	>1100
14	Nina rumi	677256	9576603	1100	500	90
15	Nina rumi	677222	9576553	>1100	>1100	150
16	Puerto almendra	679960	9576686	200	1100	500
17	Puerto almendra	679931	9576665	>1100	>1100	>1100
18	Puerto almendra	680211	9576820	>1100	>1100	>1100
19	Nina rumi	677226	9576484	90	500	500

Según la tabla N° 8, del total de 19 muestras tomadas para el análisis de aerobios mesófilos: En **Raíz**, no se aceptan 13 muestras (árboles 1,2,3,4,5,6,8,9,10,12,15,17,18); en **Corteza**, no se aceptan 10 muestras (árboles 2,3,4,5,6,8,9,15,17,18); y en **Hoja**, no se aceptan 8 muestras (árboles 3,4,5,6,8,13,17,18), todas ellas por superar el límite máximo permisible (>1100 NMP/g) de microorganismos mesófilos aerobios totales.



#### 4.1.2. Análisis de Mohos y Levaduras

Tabla N° 9. Resultados obtenidos en el análisis de mohos y levaduras.

N°árbol	Procedencia	UFC/gr de muestra				
		Coordenadas		Órgano de la planta		
		X	Y	Raíz	Corteza	Hojas
1	Cahuide	667263	9532815	36x10 <sup>3</sup>	<100	1 x10 <sup>3</sup>
2	Francisco Bolognesi	673505	9533511	4 x10 <sup>3</sup>	9 x10 <sup>3</sup>	1 x10 <sup>3</sup>
3	Francisco Bolognesi	673482	9533504	<100	1 x10 <sup>3</sup>	<100
4	Francisco Bolognesi	673008	9533838	6 x10 <sup>3</sup>	23 x10 <sup>3</sup>	<100
5	Francisco Bolognesi	672772	9534208	7 x10 <sup>3</sup>	32 x10 <sup>3</sup>	8 x10 <sup>3</sup>
6	Francisco Bolognesi	672432	9533930	50 x10 <sup>3</sup>	80 x10 <sup>3</sup>	<100
7	Nina rumi	678890	9575002	1 x10 <sup>3</sup>	5 x10 <sup>3</sup>	24 x10 <sup>3</sup>
8	Nina rumi	678414	9574730	62 x10 <sup>3</sup>	<100	6 x10 <sup>3</sup>
9	Nina rumi	678408	9574770	2 x10 <sup>3</sup>	43 x10 <sup>3</sup>	6 x10 <sup>3</sup>
10	Nina rumi	678408	9574775	36 x10 <sup>3</sup>	<100	1 x10 <sup>3</sup>
11	Nina rumi	676423	9575833	4 x10 <sup>3</sup>	9 x10 <sup>3</sup>	1 x10 <sup>3</sup>
12	Nina rumi	676417	9575839	<100	1 x10 <sup>3</sup>	<100
13	Nina rumi	677230	9576593	6 x10 <sup>3</sup>	23 x10 <sup>3</sup>	<100
14	Nina rumi	677256	9576603	7 x10 <sup>3</sup>	32 x10 <sup>3</sup>	8 x10 <sup>3</sup>
15	Nina rumi	677222	9576553	50 x10 <sup>3</sup>	80 x10 <sup>3</sup>	<100
16	Puerto almendra	679960	9576686	1 x10 <sup>3</sup>	5 x10 <sup>3</sup>	24 x10 <sup>3</sup>
17	Puerto almendra	679931	9576665	62 x10 <sup>3</sup>	<100	6 x10 <sup>3</sup>
18	Puerto almendra	680211	9576820	2 x10 <sup>3</sup>	43 x10 <sup>3</sup>	6 x10 <sup>3</sup>
19	Nina rumi	677226	9576484	36 x10 <sup>3</sup>	<100	1 x10 <sup>3</sup>

Según la tabla N° 9, del total de 19 muestras tomadas para el análisis de mohos y levaduras: En **Raíz**, no se aceptan 16 muestras (árboles 1,2,4,5,6,8,9,10,11,13,14,15,16,17,18,19), en **Corteza**, no se aceptan 13 muestras (árboles 1,2,4,5,6,7,9,11,13,14,15,16,18); y en **Hoja** no se aceptan 9 muestras (árboles 1,5,7,8,9,14,16,17,18) todas ellas por superar el límite máximo permisible (2x10<sup>3</sup>) en mohos y levaduras.

Tabla N° 10. Resultados obtenidos en el análisis de mohos y levaduras.

N° árbol	Procedencia	UFC/gr de muestra				
		Coordenadas		Órgano de la planta		
		X	Y	Raiz	Corteza	Hojas
1	Cahuide	667263	9532815	Rechazado	ausencia	1 x10 <sup>3</sup>
2	Francisco Bolognesi	673505	9533511	Rechazado	Rechazado	1 x10 <sup>3</sup>
3	Francisco Bolognesi	673482	9533504	Ausencia	1 x10 <sup>3</sup>	Ausencia
4	Francisco Bolognesi	673008	9533838	Rechazado	Rechazado	Ausencia
5	Francisco Bolognesi	672772	9534208	Rechazado	Rechazado	Rechazado
6	Francisco Bolognesi	672432	9533930	Rechazado	Rechazado	Ausencia
7	Nina rumi	678890	9575002	1 x10 <sup>3</sup>	Rechazado	Rechazado
8	Nina rumi	678414	9574730	Rechazado	ausencia	Rechazado
9	Nina rumi	678408	9574770	Rechazado	Rechazado	Rechazado
10	Nina rumi	678408	9574775	Rechazado	ausencia	1 x10 <sup>3</sup>
11	Nina rumi	676423	9575833	Rechazado	Rechazado	1 x10 <sup>3</sup>
12	Nina rumi	676417	9575839	Ausencia	1 x10 <sup>3</sup>	Ausencia
13	Nina rumi	677230	9576593	Rechazado	Rechazado	Ausencia
14	Nina rumi	677256	9576603	Rechazado	Rechazado	Rechazado
15	Nina rumi	677222	9576553	Rechazado	Rechazado	Ausencia
16	Puerto almendra	679960	9576686	Rechazado	Rechazado	Rechazado
17	Puerto almendra	679931	9576665	Rechazado	ausencia	Rechazado
18	Puerto almendra	680211	9576820	Rechazado	Rechazado	Rechazado
19	Nina rumi	677226	9576484	Rechazado	ausencia	1 x10 <sup>3</sup>

#### 4.1.3. Análisis de *staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*

Tabla 11. Resultados obtenidos en el análisis de *Staphylococcus aureus*

N° árbol	Procedencia	<i>Staphylococcus aureus</i>				
		Coordenadas		Órgano de la planta		
		X	Y	Raíz	Corteza	Hojas
1	Cahuide	667263	9532815	Ausencia	ausencia	Ausencia
2	Francisco bolognesi	673505	9533511	Ausencia	ausencia	Ausencia
3	Francisco bolognesi	673482	9533504	Ausencia	ausencia	Ausencia
4	Francisco bolognesi	673008	9533838	Ausencia	ausencia	Ausencia
5	Francisco bolognesi	672772	9534208	Ausencia	ausencia	Ausencia
6	Francisco bolognesi	672432	9533930	Ausencia	ausencia	Ausencia
7	Nina rumi	678890	9575002	Ausencia	ausencia	Ausencia
8	Nina rumi	678414	9574730	Ausencia	ausencia	Ausencia
9	Nina rumi	678408	9574770	Ausencia	ausencia	Ausencia
10	Nina rumi	678408	9574775	Ausencia	ausencia	Ausencia
11	Nina rumi	676423	9575833	Ausencia	ausencia	Ausencia
12	Nina rumi	676417	9575839	Ausencia	ausencia	Ausencia
13	Nina rumi	677230	9576593	Ausencia	ausencia	Ausencia
14	Nina rumi	677256	9576603	Ausencia	ausencia	Ausencia
15	Nina rumi	677222	9576553	Ausencia	ausencia	Ausencia
16	Puerto almendra	679960	9576686	Ausencia	ausencia	Ausencia
17	Puerto almendra	679931	9576665	Ausencia	ausencia	Ausencia
18	Puerto almendra	680211	9576820	Ausencia	ausencia	Ausencia
19	Nina rumi	677226	9576484	Ausencia	ausencia	Ausencia

Según la tabla N° 11, del total de 19 muestras tomadas para el análisis de *Staphylococcus aureus*: Tanto en **Raíz**, **Corteza**, y **Hoja** no se encontró presencia de este microorganismo.

Análisis de *Pseudomonas aeruginosa*

Tabla N° 12. Resultados obtenidos en el Análisis de *Pseudomonas aeruginosa*

N° arbol	Procedencia	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
		Coordenadas		Organo de la planta		
		X	Y	Raiz	Corteza	Hojas
1	Cahuide	667263	9532815	Ausencia	ausencia	ausencia
2	Francisco bolognesi	673505	9533511	Ausencia	ausencia	ausencia
3	Francisco bolognesi	673482	9533504	Ausencia	ausencia	ausencia
4	Francisco bolognesi	673008	9533838	Ausencia	ausencia	ausencia
5	Francisco bolognesi	672772	9534208	presencia	ausencia	ausencia
6	Francisco bolognesi	672432	9533930	Ausencia	ausencia	ausencia
7	Nina rumi	678890	9575002	Ausencia	ausencia	ausencia
8	Nina rumi	678414	9574730	Ausencia	ausencia	ausencia
9	Nina rumi	678408	9574770	Ausencia	ausencia	ausencia
10	Nina rumi	678408	9574775	Ausencia	ausencia	ausencia
11	Nina rumi	676423	9575833	Ausencia	ausencia	ausencia
12	Nina rumi	676417	9575839	Ausencia	ausencia	ausencia
13	Nina rumi	677230	9576593	Ausencia	ausencia	ausencia
14	Nina rumi	677256	9576603	Ausencia	ausencia	ausencia
15	Nina rumi	677222	9576553	Ausencia	ausencia	ausencia
16	Puerto almendra	679960	9576686	Ausencia	ausencia	ausencia
17	Puerto almendra	679931	9576665	Ausencia	ausencia	ausencia
18	Puerto almendra	680211	9576820	presencia	ausencia	ausencia
19	Nina rumi	677226	9576484	Ausencia	ausencia	ausencia

Según la tabla N° 12, del total de 19 muestras tomadas para el análisis de *Pseudomonas aeruginosa*: En **Raíz**, 2 muestras (arboles 5,18) se encontró presencia de *Pseudomonas aeruginosa*; mientras que en **Corteza y Hoja**, no se encontró presencia de este microorganismo.

#### 4.1.4. Análisis de *Salmonella sp.*

Tabla N° 13. Resultados obtenidos en el Análisis de *Salmonella sp.*

N° arbol	Procedencia	<i>Salmonella sp.</i>				
		Coordenadas		Órgano de la planta		
		X	Y	Raiz	Corteza	Hojas
1	Cahuide	667263	9532815	Ausencia	ausencia	Ausencia
2	Francisco bolognesi	673505	9533511	Ausencia	ausencia	Ausencia
3	Francisco bolognesi	673482	9533504	Ausencia	ausencia	Ausencia
4	Francisco bolognesi	673008	9533838	Ausencia	ausencia	Presencia
5	Francisco bolognesi	672772	9534208	Ausencia	ausencia	Ausencia
6	Francisco bolognesi	672432	9533930	Ausencia	ausencia	Ausencia
7	Nina rumi	678890	9575002	Ausencia	ausencia	Ausencia
8	Nina rumi	678414	9574730	Presencia	ausencia	Ausencia
9	Nina rumi	678408	9574770	Presencia	presencia	Ausencia
10	Nina rumi	678408	9574775	Ausencia	ausencia	Ausencia
11	Nina rumi	676423	9575833	Ausencia	presencia	Ausencia
12	Nina rumi	676417	9575839	Ausencia	ausencia	Ausencia
13	Nina rumi	677230	9576593	Ausencia	ausencia	Ausencia
14	Nina rumi	677256	9576603	Ausencia	ausencia	Ausencia
15	Nina rumi	677222	9576553	Ausencia	ausencia	Ausencia
16	Puerto almendra	679960	9576686	Ausencia	ausencia	Ausencia
17	Puerto almendra	679931	9576665	Ausencia	ausencia	Ausencia
18	Puerto almendra	680211	9576820	Ausencia	ausencia	Ausencia
19	Nina rumi	677226	9576484	Ausencia	ausencia	Ausencia

Según la tabla N° 13, del total de 19 muestras tomadas para el análisis de *Salmonella sp.*: En **Raíz**, no se acepta 2 muestras (arboles 8,9), en **Corteza**, no se acepta 2 muestras (arboles 9,11) las cuales se rechaza por la presencia de este microorganismo, mientras que en la **Hoja** no se encontró presencia del mismo.

#### 4.1.5. Análisis de *Escherichia coli*

Tabla N° 14. Resultados obtenidos en el Análisis de *Escherichia coli*

N° arbol	Procedencia	Presencia o ausencia <i>Escherichia coli</i>				
		Coordenadas		Órgano de la planta		
		X	Y	Raíz	Corteza	Hojas
1	Cahuide	667263	9532815	Ausencia	Ausencia	Ausencia
2	Francisco bolognesi	673505	9533511	Ausencia	Ausencia	Ausencia
3	Francisco bolognesi	673482	9533504	Ausencia	Ausencia	Ausencia
4	Francisco bolognesi	673008	9533838	Ausencia	Ausencia	Ausencia
5	Francisco bolognesi	672772	9534208	Ausencia	Ausencia	Ausencia
6	Francisco bolognesi	672432	9533930	Ausencia	Ausencia	Ausencia
7	Nina rumi	678890	9575002	Ausencia	Ausencia	Ausencia
8	Nina rumi	678414	9574730	Ausencia	Ausencia	Ausencia
9	Nina rumi	678408	9574770	Ausencia	Ausencia	Ausencia
10	Nina rumi	678408	9574775	Ausencia	Ausencia	Presencia
11	Nina rumi	676423	9575833	Ausencia	Ausencia	Ausencia
12	Nina rumi	676417	9575839	Ausencia	Ausencia	Ausencia
13	Nina rumi	677230	9576593	Ausencia	Ausencia	Ausencia
14	Nina rumi	677256	9576603	Ausencia	Ausencia	Ausencia
15	Nina rumi	677222	9576553	Ausencia	Ausencia	Ausencia
16	Puerto almendra	679960	9576686	Ausencia	Ausencia	Ausencia
17	Puerto almendra	679931	9576665	Ausencia	Ausencia	Ausencia
18	Puerto almendra	680211	9576820	Ausencia	Ausencia	Ausencia
19	Nina rumi	677226	9576484	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Según la tabla N° 14, del total de 19 muestras tomadas para el análisis de *Escherichia coli*: En **Raíz** y **Corteza**, no hubo presencia de este microorganismo, mientras que en la **Hoja** en 1 muestra (árbol 10) hubo la presencia de *Escherichia coli*.

## 4.2. DISCUSION

Para Torres<sup>1</sup> la calidad microbiológica, es un elemento fundamental durante la evaluación de un producto para consumo humano. En el análisis microbiológico para la presente investigación desde el punto de vista sanitario, con los resultados obtenidos, posteriormente se podrá aplicar un proceso de recolección, acondicionamiento y manejo adecuado para la especie vegetal que asegure una mejor calidad, apto para el consumo humano.

Autores que analizaron drogas vegetales determinaron la calidad microbiológica de las mismas; Aragadvay analizo *Baccharis latifolia* (chilca), y *Solanum nigrum* (hierbamora) mientras que Montesdeoca analizo *Artemisia absinthium L.* (ajenjo), *Rosmarinus officinalis L* (romero) y *Matricaria chamomilla L.* (manzanilla), en ambos estudios encontraron que el recuento de aerobios mesófilos totales en las especies mencionadas estaba dentro los límites microbiológicos permitidos. En el presente estudio se encontró que en *Campsiandra* (huacapurana) solo 6 muestras de raíz están dentro del rango del límite permitido. De corteza 9 muestras se encuentran dentro del rango del límite permitido, y por último en hojas 11 muestras que se encuentran dentro del rango del límite permitido sin embargo hay que resaltar que estas podrían ser especies propias de la microflora de la planta.

En la búsqueda de microorganismos patógenos en raíz, corteza y hoja de *Campsiandra angustifolia* (huacapurana) se determino ausencia de *Staphylococcus aureus*. Sin embargo en el estudio de Moran sobre la raíz de *panax ginseng* (ginseng) se encontró presencia de *Staphylococcus aureus* siendo esta indicadora de contaminación.

En el análisis de Salmonella, el investigador Cruz determino ausencia de salmonella en gel antimicótico de Manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Matico (*Aristiguetia glutinosa*) y Marco (*Ambrosia arborescens*) encontrándose aptos para el consumo. Sin embargo en el estudio de *Campsiandra angustifolia* (huacapurana) solo 17 muestras de raíz, 17 muestras de corteza y 18 muestras de hojas presentan ausencia de Salmonella, estando aptos para el consumo.

Es relevante lo que manifiesta Sánchez (2006), que en los países más necesitados cobra mayor importancia el estudio de la calidad microbiológica ya que a pesar del avance tecnológica y la generación de nuevos medicamentos, estos preparados naturales, simples de elaborar y de bajo costo, ocupan un lugar en el mercado como medicinas alternativas.

#### 4.3. CONCLUSIONES

En el análisis de número más probable de microorganismos aerobios mesófilos totales, de las 19 muestras de *Campsiandra angustifolia* (raíz, corteza y hoja); en **Raíz** no se aceptan 13 muestras; en **Corteza** no se aceptan 10 muestras; y en **Hoja** no se aceptan 8 muestras.

En el análisis de número más probable de mohos y levaduras totales, de las 19 muestras de *Campsiandra angustifolia* (raíz, corteza y hoja); en **Raíz** no se aceptan 16 muestras, en **Corteza** no se aceptan 13 muestras; y en **Hoja** no se aceptan 9 muestras.

En la identificación de microorganismos patógenos de las 19 muestras de *Campsiandra angustifolia* (raíz, corteza y hoja): para la determinación de *Escherichia coli*, en **Hojas** no se aceptan 1 muestra, para la determinación de *Salmonella sp.* en **Raíz** no se acepta 2 muestras, en **Corteza** no se acepta 2 muestras y finalmente para la determinación de *Pseudomona aeruginosa*, en **Raíz**, 2 muestras no son aceptables.

En la determinación de la calidad microbiológica de la especie de uso terapéutico tradicional *Campsiandra angustifolia* (huacapurana), de las 19 muestras analizadas (raíz, corteza y hoja), en **Raíz** 18 muestras no son aceptables, en **Corteza** 16 muestras no son aceptables siendo este el órgano del vegetal más usada en medicina tradicional, y en **Hoja** 14 muestras no son aceptadas.



#### 4.4. RECOMENDACIONES

- Que la DIRESA a través de la DIREMID (Dirección ejecutiva de medicamentos insumos y drogas) oficialice la realización en forma periódica de los controles de calidad de especies de uso terapéutico tradicional.
- Que la DISA a través del laboratorio de salud pública de la región de Loreto establezca un área exclusiva para la realización de los controles de calidad de especies de uso terapéutico tradicional.
- Que el laboratorio de salud pública de la región de Loreto incorpore dentro de sus analistas al profesional Químico Farmacéutico; con experiencia en control de calidad de medicamentos y productos naturales con el fin de realizar con mayor frecuencia este tipo de análisis,
- Que la UNAP a través de la Facultad de Farmacia y Bioquímica implemente un laboratorio de análisis fisicoquímico, biológico y microbiológico de control de calidad de productos naturales y farmacéuticos
- Que se realicen estudios de análisis microbiológicos de las especies de uso terapéutico tradicional utilizadas en Iquitos así como en la región Loreto.
- La Huacapurana como especie de uso terapéutico tradicional debe igualmente sujetarse a determinadas reglas de calidad para la protección de la salud de las personas.

#### 4.5. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Torres Ramírez Mausy. Análisis Microbiológico de Materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una industria colombiana, PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL, BOGOTA D.C, Abril 25 del 2006.
2. Reglamento para el registro, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos y afines....
3. C:\Users\User\Desktop\paginas del inter\control micro\Control microbiológico de calidad.mht....Ficha del documento Control microbiológico de calidad
4. Rodríguez Aracely, Determinación de *Escherichia coli* en ensaladas a base de lechuga preparadas en restaurantes de comida rápida, Guatemala, Enero del 2005.
5. Ruiz Quiroz J. Control de Calidad Microbiológico de Productos Cosméticos. Perú, Marzo, 2008.
6. Villa Andrés F; Meléndez Adelina P; Carulla Juan E; Pabón Martha L; Cárdenas Edgar A. Estudio microbiológico y calidad nutricional del ensilaje de maíz en dos ecorregiones de Colombia, (Recibido: 18 septiembre, 2009; aceptado: 19 enero, 2010).
7. Arias María L, Chaves Carolina, Alfaro Luis Diego. "Análisis microbiológico de algunas infusiones de hierbas medicinales". *RevBiomed* 1999; 10:1-6.
8. Sánchez V Gonzales A, Lura M. "Análisis microbiológico de hierbas medicinales y su contaminación por especies de *Aspergillus toxicogenicos*".....Cátedra de Microbiología General. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria. Paraje El Pozo. (3000) Santa Fe. Argentina
9. Aragadvay Yungan Sandra, "Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante y antiinflamatorio a base de chilca (*Baccharis latifolia*) y hierbamora (*Solanum nigrum*)".....Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador-Riobamba (2009).
10. Cruz Ati Paulina Fernanda... "Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), Matico (*Aristiguietia glutinosa*) y Marco

- (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco”..... Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador-Riobamba (2009).
11. Montesdeoca Rodríguez Verónica... “Elaboración y control de calidad de comprimidos fitofarmacéuticos de ajeno (*Artemisia absinthium L.*), romero (*Rosmarinus officinalis L.*) y manzanilla (*Matricaria chamomilla L.*), para combatir la menstruación dolorosa”..... Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador-Riobamba (2010).
  12. Gutiérrez Durán María del Pilar, Limachi Viadez Giovana, Gonzales Dávalos Eduardo, Bermejo Benito Paulina.....“Control de Calidad del *Xanthium spinosum*, planta medicinal expendida en la ciudad de La Paz, Bolivia”... Instituto de investigaciones Fármaco bioquímicas. Facultad de ciencias farmacéuticas y bioquímicas, La Paz, Bolivia Junio 2011.
  13. Huapaya Yaya José; Flórez Flores Martha; Larrea Castro Hernani Control microbiológico y evaluación de la actividad antibacteriana in Vitro de *croton lechleri* “Sangre de grado”..... Instituto de Investigación, Laboratorio de Microbiología. Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres, Perú.....
  14. Romero Gaspar, Bonilla Noemí, Cabrera Carlos, Silva Gabriela “Contaminación bacteriológica en agua y plantas de lechuga en Puebla, México”.....Departamento de Investigación en Ciencias Agrícolas del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Apdo. postal 1292, Puebla, Pue.,México
  15. Morán Gómez María Esther/ Guatemala, Octubre de 2007..“Evaluación de la Calidad de la Raíz de Panax Ginseng (Ginseng) que se Distribuye en Centros Naturistas de la Ciudad de Guatemala”
  16. <http://es.wikipedia.org/wiki/campsiandra8>
  17. United States Pharmacopeia (USP) 35, 2012

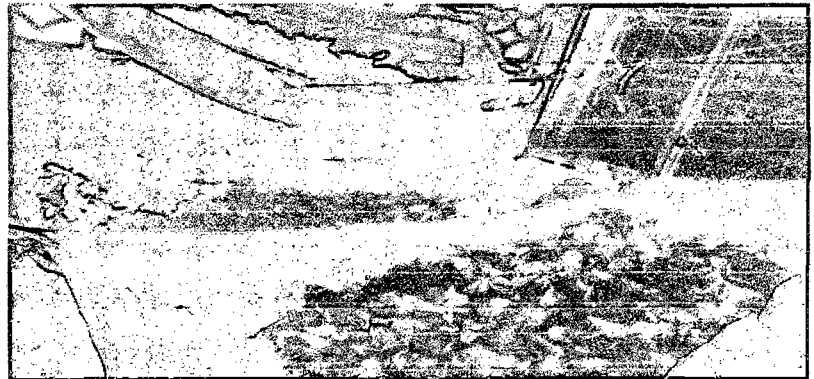
## ANEXOS

### PROCEDIMIENTO PARA OBTENER LA MUESTRA A ANALIZAR

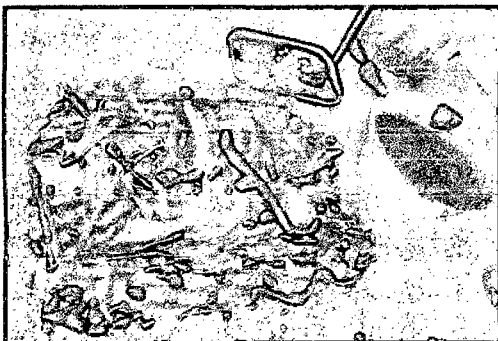
RECOLECCION



SELECCION (ACONDICIONAMIENTO)



TRITURACION

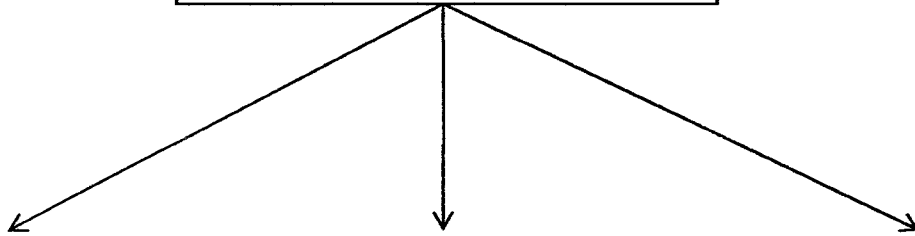


MUESTRA  
A  
ANALIZAR





**Campsiandra angustifolia  
(Huacapurana)**

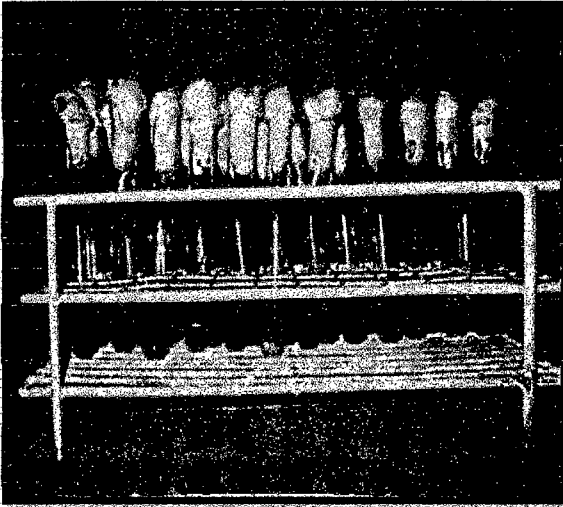


**SEMBRADO**

**PRUEBAS  
BIOQUIMICAS**

**COLORACION  
GRAM**

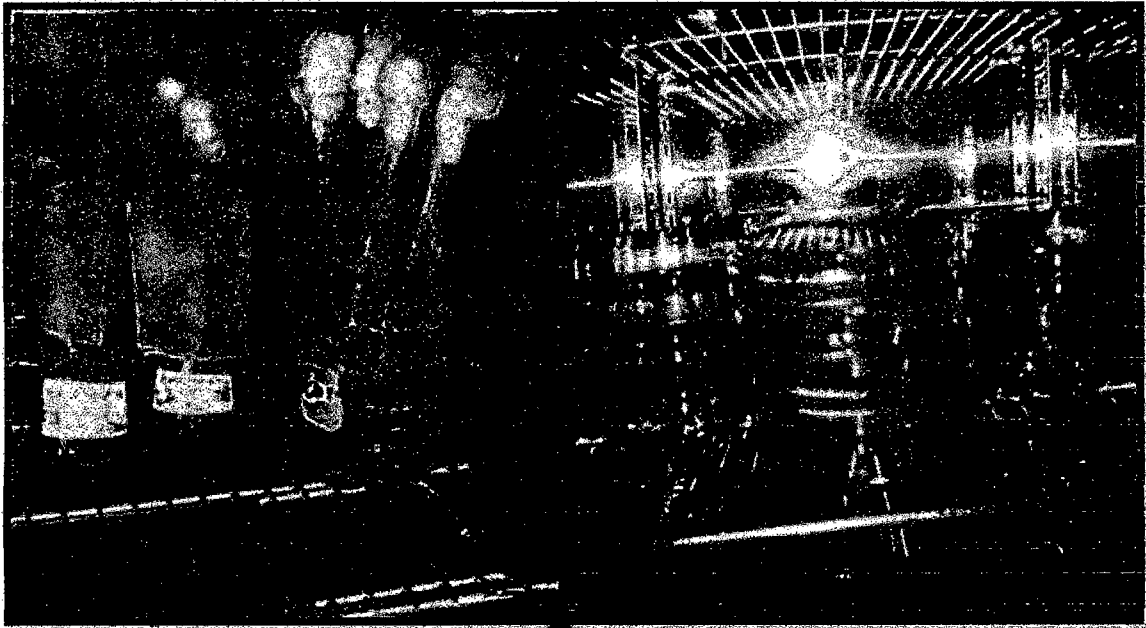
## SEMBRADO



TUBOS MÚLTIPLES



PLACAS



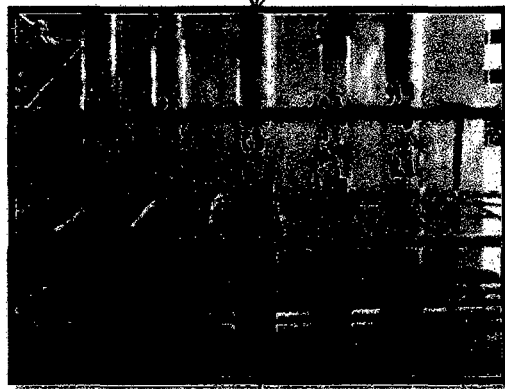
Se incuba a 35°C en 24 horas

# PRUEBAS BIOQUIMICAS

Placa con  
colonias  
bacterianas



Pruebas  
bioquímicas:  
TSI, LIA, C.S,  
UREA, SIM



Prueba de  
Indol (con el  
tubo de SIM)

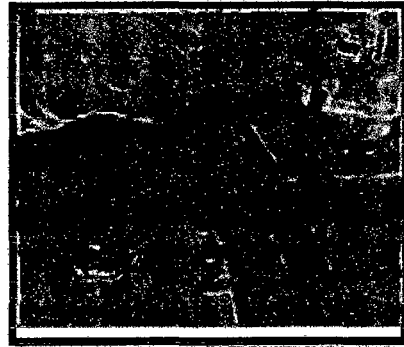


# COLORACION GRAM

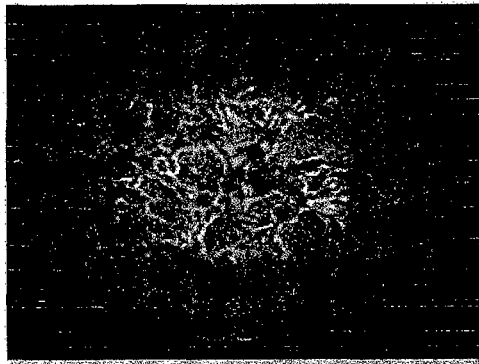
De una colonia en lámina porta objeto



Coloración Gram respectiva de la lámina

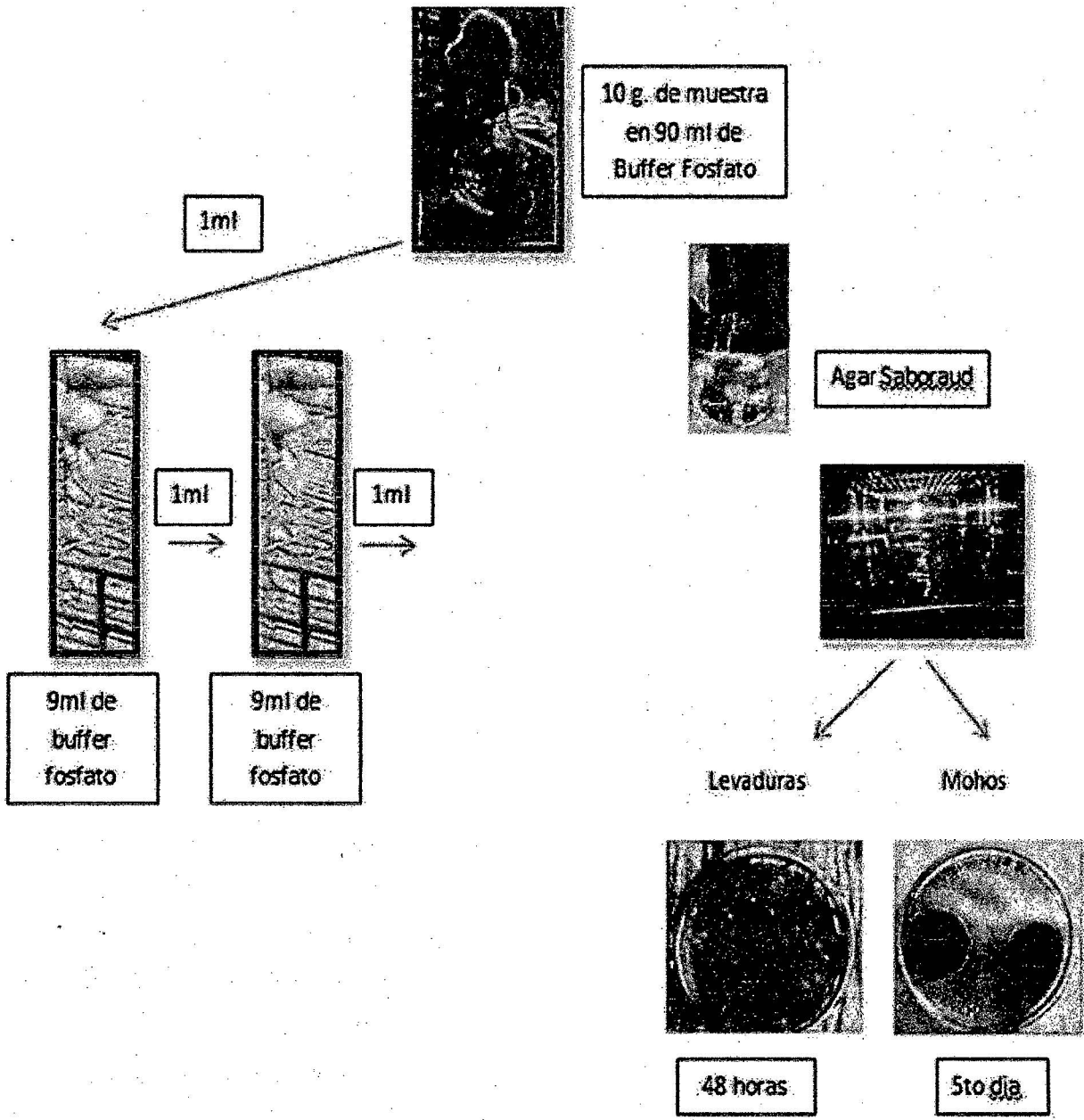


Se lleva la lámina al microscopio y se observa



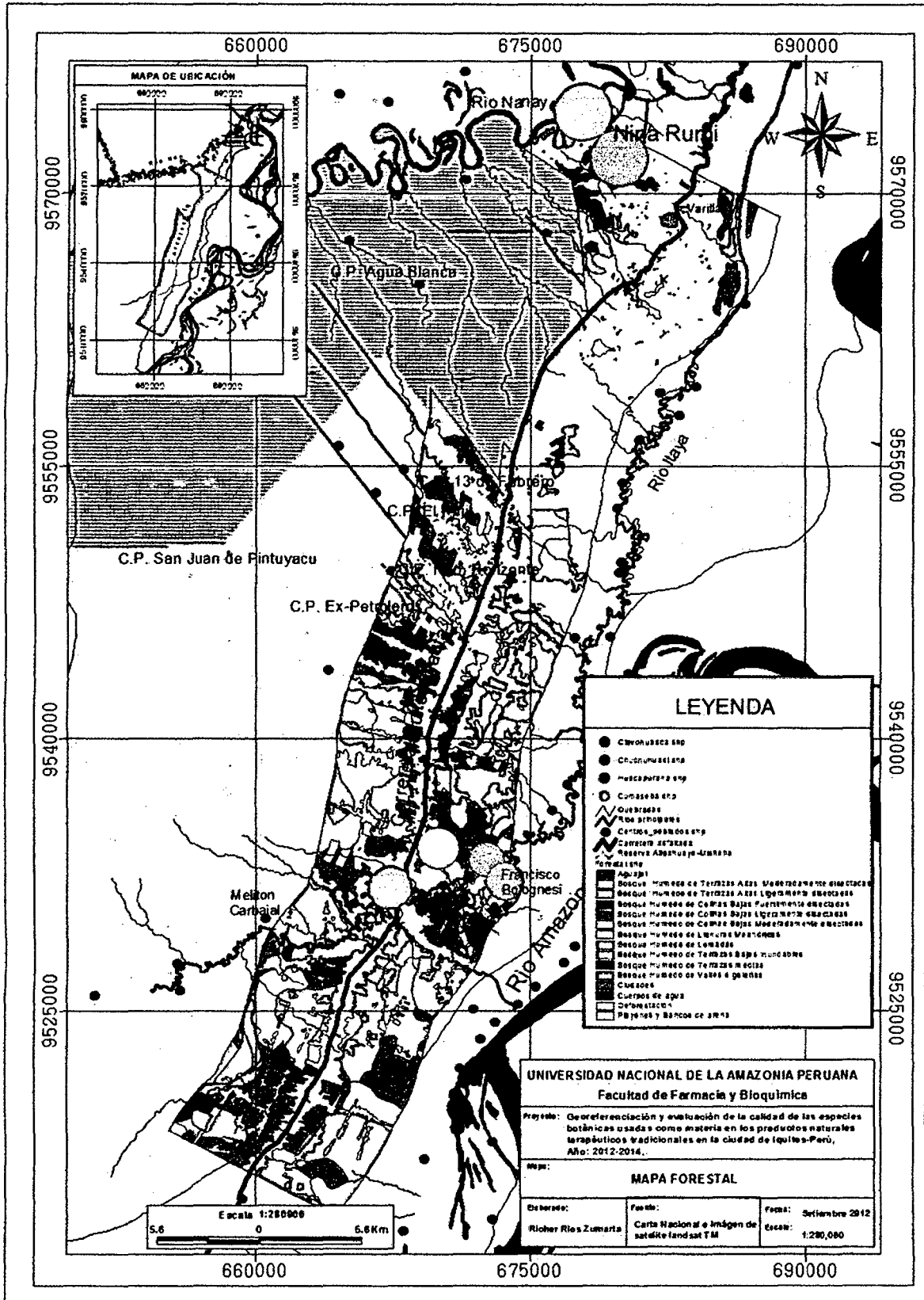


# MOHOS Y LEVADURAS



### Características de las especies georreferenciadas y muestreadas

Especie botánica	COORDENADAS		Lugar de extracción	Tipo de Bosque	Tipo de especie	Características dasométricas			Otras especies conexas	Observaciones			
	X	Y				Dap (cm.)	Altura fuste (m.)	Altura total (m.)					
huacapurana1	667263	9532815	CAHUIDE	Terraza baja (zona inundable)	Árbol	33	4	11		Especie inundada Aprox. hasta la mitad.			
huacapurana2	673505	9533511	FCO. BOLOGNESI		Árbol	20	11	15	Chullachaqui colorado, Icoja, Chuchuhuasi, Uvos	Solo se georreferenció			
huacapurana3	673482	9533504	FCO BOLOGNESI			18	10	14					
huacapurana4	673008	9533838	FCO BOLOGNESI			23	22	25					
huacapurana5	672772	9534208	FCO BOLOGNESI			24	24	27					
huacapurana6	672432	9533930	FCO BOLOGNESI			20	18	23					
huacapurana7	678890	9575002	NINA RUMI			50	6	11					
huacapurana8	678414	9574730	NINA RUMI			25	4	8					
huacapurana9	678408	9574770	NINA RUMI			10	3	6					
huacapurana10	678408	9574775	NINA RUMI			13	4	7					
huacapurana11	676423	9575833	NINA RUMI										
huacapurana12	676417	9575839	NINA RUMI										
huacapurana13	677230	9576593	NINA RUMI										
huacapurana14	677256	9576603	NINA RUMI										
huacapurana15	677222	9576553	NINA RUMI										
huacapurana16	679960	9576686	PUERTO ALMENDRA				15	2			7	Pashaco, Moena, Sacha Parinari, Polvora caspi	
huacapurana17	679931	9576665	PUERTO ALMENDRA				9	4			8	Huiririma, Parinari, Rifarillo, Maria buena, Polvora caspi	
huacapurana18	680211	9576820	PUERTO ALMENDRA				25	4			12	Tornillo, Punga, Pashaco, Mari mari, Aguaje	
huacapurana19	677226	9576484	NINA RUMI				13	3			6		



ANEXO.-Pruebas de Identificación para Bacterias Aisladas de *Campsiandra angustifolia* (huacapurana)

AGAR CETIMIDE <i>Pseudomona aeruginosa.</i>							AGAR BISMUTO SULFITO <i>Salmonella spp</i>						AGAR MC CONKEY <i>Escherichia coli</i>					
TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	PP	TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL
k/k						+	k/A	k/k	+	v	-	+	A/A	k/k	-	+	-	+

ANEXO.-Pruebas de Identificación para Bacterias Aisladas en Raiz de *Campsiandra angustifolia* (huacapurana)

N° árbol	Procedencia	AGAR CETIMIDE <i>Pseudomona aeruginosa.</i>							AGAR BISMUTO SULFITO <i>Salmonella spp.</i>							AGAR MC CONKEY <i>Escherichia coli</i>					
		TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	PP	TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	
1	Cahuide								A/A	K/A	-	-	-	-	K/A	A/K	-	-	+	-	
2	Francisco Bolognesi								A/K	K/A	-	+	+	-	A/K	K/A	+	-	-	-	
3	Francisco Bolognesi								A/A	A/K	+	-	-	-	K/K	A/A	-	-	+	-	
4	Francisco Bolognesi	A/K						-	A/A	A/K	+	+	-	-	K/A	A/K	+	-	-	-	
5	Francisco Bolognesi	k/k						+							A/K	K/A	-	-	+	-	
6	Francisco Bolognesi								K/K	A/K	-	+	+	-	K/K	A/A	+	-	-	-	
7	Nina rumi														K/A	A/K	-	-	+	-	
8	Nina rumi								k/A	k/k	+	+	-	+	A/K	K/A	+	-	-	-	
9	Nina rumi								k/A	k/k	+	-	-	+	K/K	A/A	-	-	+	-	
10	Nina rumi								A/A	K/A	-	-	-	-	K/A	A/K	+	-	-	-	
11	Nina rumi														A/K	K/A	-	-	+	-	
12	Nina rumi														K/K	A/A	+	-	-	-	
13	Nina rumi																				
14	Nina rumi								A/K	A/k	-	-	-	-							
15	Nina rumi																				
16	Puerto almendra								K/K	A/k	+	-	-	-	K/A	A/K	+	-	-	-	
17	Puerto almendra	A/A						-	A/A	K/A	+	+	-	-	A/K	K/A	-	-	+	-	
18	Puerto almendra	k/k						+	A/K	K/A	-	-	-	-	K/K	A/A	+	-	-	-	
19	Nina rumi																				

ANEXO.-Pruebas de Identificación para Bacterias Aisladas en Corteza de *Campsiandra angustifolia* (huacapurana)

N° árbol	Procedencia	AGAR CETIMIDE <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .							AGAR BISMUTO SULFITO <i>Salmonella spp.</i>							AGAR MC CONKEY <i>Escherichia coli</i>					
		TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	PP	TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	
1	Cahuide								K/A	K/A	-	-	-	-	K/A	A/K	-	-	+	-	
2	Francisco Bolognesi														A/K	K/A	+	-	-	-	
3	Francisco Bolognesi								A/K	A/k	+	-	-	-	K/K	A/A	-	-	+	-	
4	Francisco Bolognesi								K/A	A/k	+	+	-	-	K/A	A/K	+	-	-	-	
5	Francisco Bolognesi														A/K	K/A	-	-	+	-	
6	Francisco Bolognesi														K/K	A/A	+	-	-	-	
7	Nina rumi														K/A	A/K	-	-	+	-	
8	Nina rumi	K/A						-	k/k	k/A	+	+	-	-	A/K	K/A	+	-	-	-	
9	Nina rumi	A/K						-	k/A	k/k	+	+	-	+	K/K	A/A	-	-	+	-	
10	Nina rumi								A/K	A/k	+	-	-	+	K/A	A/K	+	-	-	-	
11	Nina rumi	k/k						-	k/A	k/k	+	+	-	+	A/K	K/A	-	-	+	-	
12	Nina rumi														K/K	A/A	+	-	-	-	
13	Nina rumi	K/A													K/A	A/K	-	-	+	-	
14	Nina rumi								A/K	A/k	+	+	-	-							
15															K/K	A/A	-	-	+	-	
16	Puerto almendra	A/K						-	A/A	A/k	-	+	+	-	K/A	A/K	+	-	-	-	
17	Puerto almendra								K/A	A/k	+	-	-	-	A/K	K/A	-	-	+	-	
18	Puerto almendra								K/A	K/A	+	+	-	-	K/K	A/A	+	-	-	-	
19	Nina rumi								K/A	K/A	+	+	-	-	K/A	A/K	-	-	+	-	

ANEXO.-Pruebas de Identificación para Bacterias Aisladas en Hojas de *Campsiandra angustifolia* (huacapurana)

N° árbol	Procedencia	AGAR CETIMIDE <i>Pseudomona aeruginosa.</i>							AGAR BISMUTO SULFITO <i>Salmonella spp.</i>							AGAR MC CONKEY <i>Escherichia coli</i>					
		TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	PP	TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	TSI	LIA	CS	SIM	UREA	INDOL	
1	Cahuide																				
2	Francisco Bolognesi																				
3	Francisco Bolognesi														K/K	A/A	-	-	+	-	
4	Francisco Bolognesi								k/A	k/k	+	+	-	+	K/A	A/K	+	-	-	-	
5	Francisco Bolognesi	k/k						-							A/K	K/A	-	-	+	-	
6	Francisco Bolognesi								A/A	A/k	-	+	+	-	K/K	A/A	+	-	-	-	
7	Nina rumi																				
8	Nina rumi	K/A						-	K/A	K/A	+	+	-	-	A/K	K/A	+	-	-	-	
9	Nina rumi								A/K	K/A	-	-	-	-	K/K	A/A	-	-	+	-	
10	Nina rumi								A/K	A/k	-	+	+	-	A/A	k/k	-	+	-	+	
11	Nina rumi														K/A	A/K	-	-	+	-	
12	Nina rumi																				
13	Nina rumi																-	-	+	-	
14	Nina rumi								K/A	K/A	-	-	-	-							
15	Nina rumi														A/K	K/A	-	-	+	-	
16	Puerto almendra														K/K	A/A	+	-	-	-	
17	Puerto almendra								A/K	A/k	+	+	-	-	K/A	A/K	-	-	+	-	
18	Puerto almendra	A/A						-	k/k	A/k	-	-	-	-	A/K	K/A	+	-	-	-	
19	Nina rumi														K/K	A/A	-	-	+	-	

ANEXO.-Pruebas de Identificación para Bacterias Aisladas en Raíz, Corteza y Hojas de *Campsiandra angustifolia* (huacapurana)

N° árbol	Procedencia	BAIRD PARKER/COAGULASA (+)				
		Coordenadas		Órgano de la planta		
		X	Y	Raiz	Corteza	Hojas
1	Cahuide	667263	9532815	-	-	-
2	Francisco Bolognesi	673505	9533511	-	-	-
3	Francisco Bolognesi	673482	9533504	-	-	-
4	Francisco Bolognesi	673008	9533838	-	-	-
5	Francisco Bolognesi	672772	9534208	-	-	-
6	Francisco Bolognesi	672432	9533930	-	-	-
7	Nina rumi	678890	9575002	-	-	-
8	Nina rumi	678414	9574730	-	-	-
9	Nina rumi	678408	9574770	-	-	-
10	Nina rumi	678408	9574775	-	-	-
11	Nina rumi	676423	9575833	-	-	-
12	Nina rumi	676417	9575839	-	-	-
13	Nina rumi	677230	9576593	-	-	-
14	Nina rumi	677256	9576603	-	-	-
15	Nina rumi	677222	9576553	-	-	-
16	Puerto almendra	679960	9576686	-	-	-
17	Puerto almendra	679931	9576665	-	-	-
18	Puerto almendra	680211	9576820	-	-	-
19	Nina rumi	677226	9576484	-	-	-