UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Escuela De Formación Profesional
de Ciencias Biológicas

"ANTIBIOSIS DE SECRECIONES LATICÍFERAS DE PLANTAS NATIVAS AMAZÓNICAS FRENTE A *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*."

TESIS

Requisito para optar el título profesional de

BIÓLOGO

Autoras:

KATIA MANZANARES VILLANUEVA

MELVA IRENE PAREDES PEREZ

IQUITOS – PERU
2017

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR

Blga. Teresa de Jesús Mori del Águila, Dra.
Presidenta

Blga. María Elena Bendayán Acosta, M.Sc.
Miembro

Blgo. Freddy Orlando Espinoza Campos, Mgr.
Miembro

ASESOR

Mblgo. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala, Dr.

UNAP

ACTA DE SUSTENTACIÓN

UNAP

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Dirección de Escuela de Formación
Profesional de Ciencias Biológicas

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 013

Iquitos, 01 de agosto de 2017

En la ciudad de Iquitos, al primer día del mes de agosto del 2017 y, siendo las 16.10 pm horas; se reunió en el auditorio de las Direcciones de Escuelas de la Facultad de Ciencias Biológicas - UNAP, el Jurado Calificador y Dictaminador de la tesis que suscribe, designado con Resolución Directoral N° 102-2015-DEFP-B-FCB-UNAP, presidido e integrado por; **Blga. Teresa de Jesús Mori del Águila, Dra., (Presidente); Blga. María Elena Bendayán Acosta, M.Sc., (Miembro) y Blgo. Freddy Orlando Espinoza Campos, Mgr., (Miembro),** para escuchar, examinar y calificar la sustentación y defensa de la tesis titulada: **"ANTIBIOSIS DE SECRECIONES LATICÍFERAS DE PLANTAS NATIVAS AMAZÓNICAS FRENTE A *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*"**, por los Bachilleres **MELVA IRENE PAREDES PÉREZ** de la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela de Formación Profesional de Ciencias Biológicas, promoción 2016-I, graduada de bachiller con **R.R. N° 0194-2017-UNAP** de fecha 13 de febrero 2017 y **KATIA MANZANARES VILLANUEVA** de la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela de Formación Profesional de Ciencias Biológicas, promoción 2016-II, graduada de Bachiller con **R.R. N° 1100-2007-UNAP** de fecha 20 de abril 2017, reconociendo como asesor al siguiente profesional: **Mblgo. ÁLVARO BENJAMIN TRESIERRA AYALA, Dr.**

Durante todo el desarrollo de la sustentación y defensa de la tesis, el Jurado Calificador y Dictaminador, considerando lo establecido en el nuevo Reglamento de Grados y Títulos, aprobado y puesto en vigencia mediante RESOLUCIÓN DECANAL N° 206-2012-FCB-UNAP; realizó la evaluación del desempeño de los bachilleres, considerando los criterios y el puntaje consignados en la tabla de valoración.

Culminado el acto, el Jurado Calificador y Dictaminador, con el puntaje alcanzado por las Bachilleres y, aplicando los términos establecidos en la tabla de calificación; dió como veredicto; APROBADO LA SUSTENTACIÓN DE TESIS, CALIFICADO COMO BUENA; quedando en consecuencia las candidatas **aptas** para ejercer la profesión de Biólogo, previo otorgamiento del título profesional por la autoridad universitaria competente y, su correspondiente inscripción al Colegio de Biólogos del Perú.

Finalmente, el Presidente del Jurado Calificador y Dictaminador levantó la sesión siendo las 17.26 pm horas y en fe de lo cual, todos los integrantes suscriben la presente acta de sustentación por triplicado.

Blga. Teresa de Jesús Mori del Águila, Dra.
PRESIDENTE

Blga. María Elena Bendayán Acosta, M.Sc.
MIEMBRO

Blgo. Freddy Orlando Espinoza Campos, Mgr.
MIEMBRO

Dirección: Plaza Serafín Filomeno S/N, Iquitos, Perú
Teléfono: 236121

www.unapiquitos.edu.pe
e – mail: fccbb@unapiquitos.edu.pe

DEDICATORIA

A mi familia.....

Porque los tengo y los siento en cada latido, viven en mí y son el motivo para salir adelante, porque siempre están en mi camino y me dan alas para volar cada vez más alto, gracias por tu amor, apoyo y comprensión mi esposo querido Armando Segundo y por su paciencia mis hijitos Oscar Armando y Mía Carolina.

Katia Manzanares Villanueva.

A Dios, por no haberme desamparado en todos los momentos difíciles y darme fuerzas para seguir adelante.
A mi familia, especialmente a mi abuelita Irene Mozombite Sandoval y mi tía Melba Paredes Mozombite (Mamá Melbita) por quererme como soy y desear siempre que progrese en todos los aspectos de la vida.
A los amigos que no me dieron la espalda en la pobreza y en los problemas, especialmente a la Sra. Emelda Tejada del Castillo, a las Directoras de las escuelas de la Facultad de Ciencias Biológicas (Blgas. Julia Bardales y Rossana Cubas) y al personal de secretaría de la misma (Gina Cortes Gonzales y Judith Sánchez) por ayudarme a no rendirme cuando todo era oscuridad.
Gracias a todos los que me quieren y me apoyan a pesar de todo.

Melva Irene Paredes Pérez

AGRADECIMIENTOS

Especialmente al Dr. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala por asesorarnos y guiarnos durante el proceso de desarrollo de la tesis y posteriormente en la redacción del informe de la misma. Además de aconsejarnos en los problemas que se presentaron en el camino.

Al Instituto de Medicina Tradicional IMET - EsSALUD a través de su director encargado Ing. Jorge Villacrés Vallejos por habernos permitido obtener los látex de las plantas solicitadas a tempranas horas de la mañana.

Al Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonia CIRNA – UNAP, por permitirnos hacer uso de las instalaciones del Laboratorio de Microbiología para poder realizar la parte experimental de nuestra tesis.

ÍNDICE

PORTADA INTERNA i
JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR ii
ASESOR..... iii
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS iv
DEDICATORIA v
AGRADECIMIENTOS vi
ÍNDICE vii
LISTA DE CUADROS ix
LISTA DE ANEXOS x
RESUMEN xi
I. INTRODUCCIÓN 1
1.1. Objetivo general 2
1.2.Objetivos específicos 2
II.REVISIÓN DE LITERATURA 3
2.1.GENERALIDADES DE LAS ESPECIES VEGETALES 3
2.1.1. *Artocarpus altilis* 3
2.1.2. *Couma macrocarpa* 5
2.1.3. *Croton lechleri* 8
2.1.4. *Ficus insipida* 11
2.1.5. *Maquira coriacea* 16
2.2.ESPECIES BACTERIANAS 20
2.2.1. Género *Staphylococcus* 20
2.2.2. Género *Pseudomonas* 33
III.MATERIALES Y MÉTODOS 42
3.1.MATERIALES Y EQUIPOS 42
3.1.1. Material Biológico 42
3.1.2. Medios de Cultivo 42
3.1.3. Soluciones y Reactivos 43

3.1.4.Equipos 43
3.1.5.Otros 43
3.2.MÉTODOS 44
3.2.1. Área de Estudio 44
3.2.2. Obtención de Látex 45
3.2.3.Detección de antibiosis 45
3.2.4.Reactivación de las Cepas Bacterianas 45
3.2.5.Crecimiento en Medio Agar Soya Tripticasa (TSA) 46
3.2.6.Pruebas para confirmar la pureza de los cultivos de las especies bacterianas en estudio. 46
3.2.7.Preparación del inóculo y prueba de sensibilidad 48
3.2.8.Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) 49
3.2.9.Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (CBM) 50
3.2.10.Análisis Estadístico 50
IV.RESULTADOS 52
4.1. SUSCEPTIBILIDAD DE LAS CEPAS BACTERIANAS FRENTE A LAS SECRECIONES LATICÍFERAS 52
4.1.1.Susceptibilidad de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* frente a las secreciones laticíferas mediante la técnica de los pocillos 52
4.1.2. Susceptibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* frente a los látex mediante la técnica de los pocillos. 52
4.1.2.1. Análisis de efectividad 52
4.1.3.Cálculo de la CIM Y CBM para látex de las plantas que dieron resultados positivos frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* 56
V.DISCUSIÓN 57
VI.CONCLUSIONES 59
VII.RECOMENDACIONES 60
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 61
IX. ANEXOS 66

LISTA DE CUADROS

CUADRO N° 1: Medida del diámetro de inhibición de las secreciones laticíferas frente a las cepas de *S. aureus* 52

CUADRO N° 2: Datos descriptivos de los halos de inhibición del látex de *Couma macrocarpa* frente a *Staphylococcus aureus.* 54

CUADRO N° 3: Concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) de los látex frente a *Staphylococcus aureus* 56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución mundial de *Artocarpus altilis* 4

Figura 2. *Artocarpus altilis* 5

Figura 3. Distribución en el Perú de *Couma macrocarpa* 6

Figura 4. *Couma macrocarpa* 8

Figura 5. *Croton lechleri* 11

Figura 6. Distribución de *Ficus insipida* 12

Figura 7. *Ficus insipida* 16

Figura 8. Mapa de distribución mundial de *Maquira coriacea* 17

Figura 9. *Maquira coriacea* 19

Figura n° 10: Determinación de la actividad antibacteriana de las secreciones laticíferas 51

Figura 11: Sensibilidad antimicrobiana de las secreciones laticíferas frente *Staphylococcus aureus.* 53

Figura 12: Dispersión de los halos de inhibición de las secreciones laticíferas..... 55

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: OBTENCIÓN DE LOS LÁTEX 66

ANEXO 2: REACTIVACIÓN DE LA MUESTRA 67

ANEXO 3: SIEMBRA EN AGAR MÜLLER HILTON PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD…67

ANEXO 4: ANTIBIOGRAMA DE LOS LÁTEX FRENTE A *Pseudomonas aeruginosa* EN EL CUAL NO SE OBSERVA LA PRESENCIA DE HALO..... 68

ANEXO 5: HALO DE INHIBICIÓN DEL LÁTEX DE *Couma macrocarpa* "leche caspi" y *Croton lechleri* "sangre de grado" FRENTE A *S. aureus* 68

ANEXO 6: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA – CIM DE *Couma macrocarpa*..... 69

ANEXO 7: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA – CIM DE *Croton lechleri* 69

ANEXO 8: SEMBRADO DEL INÓCULO DEL TUBO EN EL CUAL NO HUBO CRECIMIENTO BACTERIANO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CBM..... 70

ANEXO 9: RECUENTO DE COLONIAS AISLADAS - CBM. *Couma macrocarpa* "leche caspi"..... 70

RESUMEN

Se evaluó la antibiosis de las secreciones laticíferas de plantas nativas amazónicas (*Artocarpus altilis* "pan de árbol", *Couma macrocarpa* "leche caspi", *Croton lechleri* "sangre de grado", *Ficus insipida* "ojé" *y Maquira coriacea* "capinuri", frente a cepas intrahospitalarias de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus,* mediante la técnica de los pocillos, en la cual a las secreciones laticíferas que mostraron actividad se les determinó la CIM y CBM mediante la técnica de macrodilución en tubo. Ninguna de las secreciones laticíferas mostraron actividad frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa;* dos de las secreciones laticíferas mostraron actividad frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*; siendo el látex de *Croton lechleri* el que mostró mayor actividad frente a estas cepas bacterianas con una CIM = 15.63 mg/ml seguido del látex de *Couma macrocarpa* con una CIM = 62.5 mg/ml. Estos resultados muestran que, de las plantas estudiadas, solo *Croton lechleri* y *Couma macrocarpa* producen antibiosis sobre *Staphylococcus aureus.*

Palabras claves:

Antibiosis, secreción laticífera, cepas bacterianas, concentración inhibitoria mínima (CIM), concentración bactericida mínima (CBM).

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las infecciones intrahospitalarias se han convertido en un problema para aquellos que laboran y frecuentan un hospital puesto que, con el transcurrir del tiempo muchos microorganismos han adquirido un alto grado de resistencia a los medicamentos que se usaban para su control[26] , tal es el caso de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa,* que se han adaptado y evolucionado de tal forma, que su resistencia a los fármacos convencionales es muy alta, para las personas que son de bajos recursos económicos les es imposible acceder a los fármacos que cada vez, van incrementado su acción frente a estas bacterias y por ende también incrementan su precio.

En el Perú, como en otros países en vías de desarrollo, las plantas medicinales representan aún la principal herramienta terapéutica en medicina tradicional. La flora peruana ofrece grandes posibilidades para el descubrimiento de nuevos compuestos con actividad antibacteriana. Se calcula que el Perú posee unas 25 000 especies de plantas conocidas, con 17 144 especies de plantas con flores (Angiospermas y Gimnospermas) de las cuales 5 354 (31,3%) son especies nativas.[2]

De este modo surge como una alternativa el uso de plantas medicinales que si bien se usan de modo empírico; muchas de ellas tienen efecto antimicrobiano y son capaces de controlar e inhibir la acción de dichas bacterias en nuestro organismo. La Amazonia Peruana es un área que posee la mayor diversidad del mundo, en la que

existe una población vegetal poseedora de potenciales capacidades antimicrobianas.[24] Por tal motivo en el presente trabajo nos planteamos los siguientes objetivos:

1.1. Objetivo general:

Evaluar la antibiosis de las secreciones laticíferas de plantas nativas amazónicas frente a *Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus.*

1.2. Objetivos específicos:

- Determinar la existencia de capacidad antibacteriana cualitativa de la secreción laticífera de cinco especies de plantas nativas amazónicas frente a *Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus.*

- De aquellos recursos laticíferos con capacidad antibacteriana demostrada, determinar su concentración inhibitoria mínima (CIM) y su concentración bactericida mínima (CBM).

- Determinar la secreción laticífera más eficaz frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus* en estudio.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. GENERALIDADES DE LAS ESPECIES VEGETALES

2.1.1. *Artocarpus altilis*

a) CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Hamamelidae
Orden|	:	Urticales
Familia	:	Moraceae
Género	:	*Artocarpus*
Especie	:	*Artocarpus altilis*
N. común	:	“pan del árbol”, “pandisho”, “árbol del pan”

b) DISTRIBUCIÓN

Es originario de las islas de Java y Sumatra, islas del Pacifico sur, cultivada en las islas del archipiélago asiático y regiones tropicales del mundo. En el Perú se encuentra en selva alta y baja.

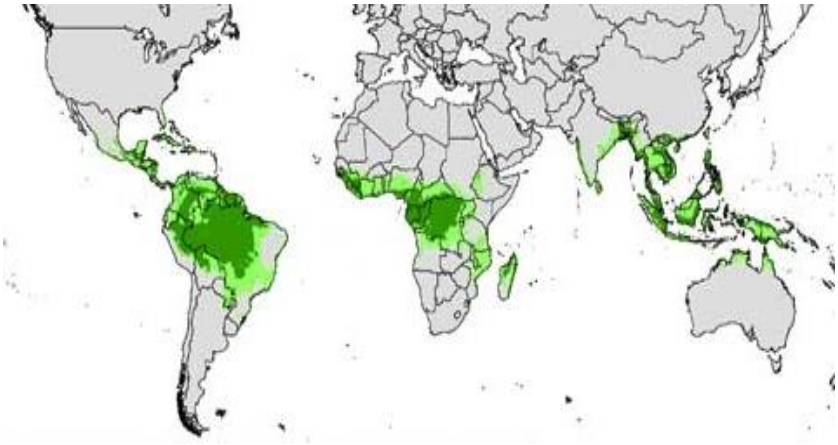


Figura 1. Distribución mundial de *Artocarpus altilis*

c) HÁBITAT

Cultivada; por lo general prospera en suelos aluviales.[33]

d) CARACTERÍSTICAS

Árboles de hasta 20 m, ramitas crasas. Hojas pinnatilobadas, 20-45 x 15-30 cm, pubérulas en ambas caras. Espigas estaminadas densas, obovadas, 25-40 cm de largo, flores pistiladas en cabezuelas. Sincarpos carnosos, globosos, hasta 30 cm de diámetro, superficie muriculada, pulpa fibrosa.[33]

e). USOS

Se utilizan el fruto, las hojas, la raíz y el látex. Las semillas se usan como alimento para humanos y para cerdos; el látex es utilizado para curar hernias. Se le ha dado usos con fines de antiasmático, antidiarreico, tratamiento de conjuntivitis, diabetes,

antihelmíntico, otitis, eliminación de verrugas, y tratamiento de la hipertensión arterial.[10]

Figura 2. *Artocarpus altilis*

2.1.2. *Couma macrocarpa*

a). CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Asteridae
Orden	:	Gentianales
Familia	:	Apocynaceae
Género	:	*Couma*
Especie	:	*Couma macrocarpa*
N. común	:	“leche caspi”, “leche huayo”

b). DISTRIBUCIÓN

Couma macrocarpa es nativa de América Central y Sudamérica Esta especie se distribuye desde el sur de Guatemala hasta la cuenca amazónica.

Figura 3. Distribución en el Perú de *Couma macrocarpa*

c). HÁBITAT

En bosque primario.[33] Es una especie esciófita, característica de bosques primarios, en suelos arcillosos a limosos, fértiles, bien drenados, con pedregosidad baja.

d). CARACTERÍSTICAS

Árboles de hasta 30 m, caducifolios; ramitas glabras, con medula amplia. Hojas usualmente agrupadas en el ápice de las ramitas, ampliamente lanceoladas (ovadas en individuos juveniles), 12-28 x 6-18 cm, ápice acuminado, base obtusa, glabras en ambas caras, venas secundarias 16-20 pares, venación terciaria conspicua, pecíolos 1-1.5 cm de largo. Panículas subterminales, eje central 5-5.5 cm de largo, globulos

calicinos 3-4 mm de largo, corola 15-17 mm de largo, rosada o lila. Bayas globosas, amarillentas, ca. 5x4 cm, con mesocarpo dulce, semillas 3-4. Frutos comestibles y látex potable.[33]

e) FENOLOGIA, POLINIZACION Y DISPERSIÓN

Registros de floración durante la estación seca, entre Agosto-Octubre y fructificación desde fines de ésta a la estación de lluvias, entre Octubre-Febrero. La polinización en la familia Apocynaceae es efectuada por mariposas y a veces abejas. Se reporta que en la dispersión de esta especie participan especies de primates, dentro de ellos *Saguinus mystax, Saguinus fuscicollis, Callicebus cupreus*, etc.

f). USOS

Es un frutal nativo poco estudiado, muy apreciado localmente en zonas de la Amazonia baja del Perú por sus frutos muy dulces y de tamaño relativamente grande. Aparte de su posibilidad como frutal, el látex se usa para fabricar chicle; Brasil exporta anualmente 5,000 toneladas de este producto.[16] Es empleado para combatir la diarrea causada por amebas contra irritaciones de la piel y contra el asma. Los indígenas de Amazonas y Vaupés usan el látex cocido para suturar el ombligo de los niños recién nacidos.[22]

Figura 4. *Couma macrocarpa*

2.1.3. *Croton lechleri*

a). CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Rosidae
Orden	:	Euphorbiales
Familia	:	Euphorbiaceae
Género	:	*Croton*
Especie	:	*Croton lechleri*
N. común	:	“sangre de grado”, “sangre de dragón”

b). DISTRIBUCIÓN

En América tropical u sub tropical. En el Perú se encuentra en los departamentos de Loreto: Llachapa, río Napo; Indiana, río Amazonas, Padre cocha y Momón, río Nanay, San Martín; Huánuco; Cerro de Pasco: Oxapampa, Satipo, Puerto Bermúdez, Iscozacin, Villa Rica; Junín, Chanchamayo; Cuzco y Puno.

c). HÁBITAT

En tierra firme, sobre suelos arcillosos, principalmente en las depresiones de las quebradas y actualmente en cultivo. Se le observa en ámbitos con pluviosidad elevada y constante, pero también en zonas con una estación seca marcada. Es una especie heliófita, de crecimiento rápido, característica en bosques secundarios pioneros y zonas con alteración humana, en suelos de textura y niveles de acidez variados, de baja fertilidad, bien drenados, con pedregosidad baja a media.

d). CARACTERÍSTICAS

Arboles de hasta 30 m con tricomas estrellados. Hojas codiformes, (10) 15-30 x (6) 13-20 cm, ápice cuspidado, base cordada con glándulas, palmatinervias. Espigas terminales o subterminales, 20 - 30 cm de largo; estigmas 2 veces divididos. Cápsulas 4 x 5 mm.[33]

e). FENOLOGÍA

Registros de floración durante la estación seca (Mayo-Septiembre) y frutos a las postrimerías de ésta, en Septiembre-Octubre.

f). USOS

El látex se usa como cicatrizante, externo e interno. La savia, que es rojiza y semitraslúcida, es medicinal y se emplea localmente como cicatrizante de úlceras, antiséptico vaginal, cicatrizante, contraceptivo, afecciones dérmicas, anemia, cáncer, diarrea, extracción dental, faringo-amigdalitis, fiebre, gonorrea, hemorroides, leucorrea, paludismo, tumor, úlceras estomacales e intestinales. Un alcaloide, Taspina, está presente en ella y tiene activas propiedades cicatrizantes. Se ha confirmado mediante estudios fitoquímicos la presencia de principios activos antibacterianos; antraquinonas, alcaloides de tipo aporfina, piridona, indol y agentes antitumorales. Actualmente algunas compañías farmacéuticas han promovido la plantación de esta especie en las zonas de Puerto Inca (Dpto. de Huánuco) y en los alrededores de Iquitos para la obtención regular de savia con fines industriales.[1]

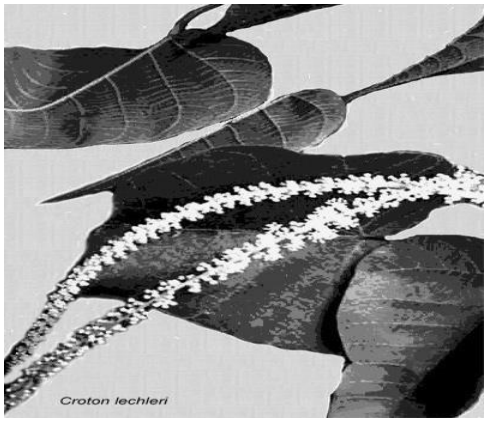


Figura 5. *Croton lechleri*

2.1.4. *Ficus insipida*

a). CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Hamamelidae
Orden	:	Urticales
Familia	:	Moraceae
Género	:	*Ficus*
Especie	:	*Ficus insipida*
N. Común	:	“ojé”, “doctor ojé”

b). DISTRIBUCIÓN

Es una especie de amplia distribución en el Neotrópico, desde América Central hasta la región Andina de América del Sur, así como en toda la cuenca alta del Amazonas. En el Perú abarca los departamentos de Amazonas, Cusco, Loreto, Madre de Dios, San Martín y Ucayali.

Figura 6. Distribución de *Ficus insipida*

c). HÁBITAT

En tierra firme o planicie inundable, várzea, siempre en bosques perturbados o en claros de bosques primarios.[33] Se le observa en ámbitos con pluviosidad elevada y constante, aunque también en zonas con una estación seca marcada; es una especie heliófita, característica en bosques secundarios, en la cercanía de caminos y también en zonas ribereñas, en suelos de textura variable, usualmente fértiles, a veces temporalmente inundables y con alta pedregosidad.

d). CARACTERÍSTICAS

Arboles terrestres de hasta 40 m; ramitas glabras o diminutamente pubérulas. Hojas oblongas o elípticas, (9) 16-27 x (3) 6-11 cm, ápice acuminado a obtuso, base subobtusa a redondeada, haz glabra, lisa o escábrida, envés glabro o hírtulo, venas secundarias (10) 18-25 pares, estípulas glabras o pubérulas. Siconos axilares, solitarios, pedúnculo (4) 8-18 mm de largo, brácteas basales de 2,5 mm de largo, receptáculo globoso, cuando seco 15-30 mm de diámetro diminutamente pubérulo, ostíolo 2-3 mm de diámetro.[33]

e). FENOLOGIA, POLINIZACIÓN Y DISPERSIÓN

Producción de siconos a lo largo de todo el año, pero mayormente a fines de la estación seca, entre Agosto-Octubre. En cuanto a la polinización, el género *Ficus* tiene un sistema sofisticado que permite la polinización de las diminutas flores que se encuentran tapizando el interior de la inflorescencia sicono o higo.[17] Esta inflorescencia nunca se abre, y tal como en la "Higuera común" (*Ficus carica*) tiene el aspecto de un fruto; posee un pequeño orificio apical u ostiolo.

Al interior del sicono existen flores masculinas y femeninas, algunas de las últimas rudimentarizadas; las flores masculinas están dispuestas hacia la zona apical. Pequeñas avispas femeninas del género Blastophaga y otros géneros relacionados ingresan al sicono por el ostiolo, acarreando polen externo. Dado que el ostiolo es muy estrecho, estas avispas pierden sus alas al ingresar. Luego deambulan por el

interior en busca de flores femeninas o estériles en las cuales ovipositan, haciendo así posible la fecundación de pistilos con polen externo.

Los huevos ovipositados se desarrollan dentro de las flores y se nutren de ellas. Luego de unas semanas emerge de ellos una primera camada de avispas; los machos fecundan a las hembras de esa camada en el interior del sicono. Ellos perforan luego un pequeño orificio en la pared del sicono, creando la vía que permitirá la salida de las hembras fecundadas y cargadas de polen hacia otros higos.

En lo que respecta a la dispersión, las especies del género *Ficus* han sido reconocidas desde hace mucho tiempo como fuentes muy importantes de alimento para los animales frugívoros del bosque tropical. Estudios realizados para la especie Costarricense *Ficus cotinifolia* muestran que un solo árbol puede producir cerca de 100,000 siconos y que ellos perduran por pocos días en la copa el árbol por la intensa frugivoría que generan. En el estudio mencionado, el 95% de los siconos fue removido en solamente tres días por gran cantidad de animales frugívoros. El contenido de proteína de los siconos es cercano al 5% y el de carbohidratos 60%. Las especies depredadoras de los siconos, tales como Loros, removieron cerca del 80%, y un porcentaje menor, cercano al 15%, fue tomado por verdaderos dispersadores de las semillas, aves de mediano tamaño tales como “pirangas” *Piranga ludoviciana*, “bolseros” *Icterus galbula*, “trógones” *Trogon melanocephalus*, “mosqueros” *Megarhynchus pitangua*; también los “coatís”, *Nasua nasua*. Adicionalmente siconos

caídos al suelo fueron consumidos por los Venados, *Mazama americana* y Pecaríes, *Tayassu* spp., quienes también los dispersan sin daño sustancial a las semillas.

Varias especies del género Ficus adoptan comportamiento estrangulador, aunque este no es el caso de *Ficus insipida*. Las semillas de las especies estranguladoras suelen ser dispersadas por aves o animales arborícolas que las depositan en las ramas o tronco de otros árboles. Allí crecen inicialmente como epífitas, emitiendo muchas raíces, y cuando avanza su desarrollo estrangulan al árbol hospedero con ellas y lo matan por constricción.

f). USOS

- **Medicinal:** El látex blanquecino que produce la corteza del ojé tiene múltiples propiedades: se le utiliza como purgante, antihelmíntico, antirreumático, hematopoyético, depurativo de la sangre y para el dolor de muelas, picadura de hormiga, mordedura de serpiente y contra la temible uta. Las hojas de esta especie se utiliza como antiemético, antipirético, febrífugo y antianémico. Los frutos son buenos estimuladores de la memoria.

- **Tóxico:** El látex consumido en exceso puede intoxicar.[5]

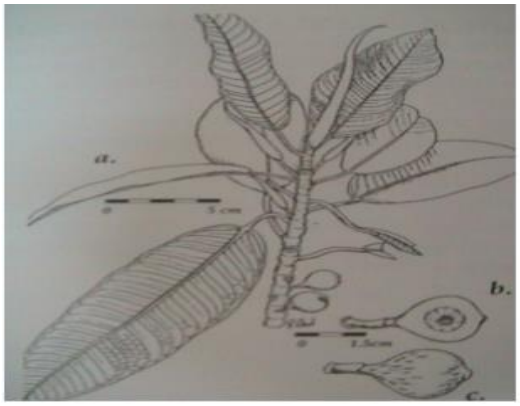


Figura 7. *Ficus insipida*

2.1.5. *Maquira coriacea*

a). CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Subclase	:	Hamamelidae
Orden	:	Urticales
Familia	:	Moraceae
Género	:	*Maquira*
Especie	:	*Maquira coriacea*
N. Común	:	“capinurí”, “capinurí del bajo árbol”

b) DISTRIBUCIÓN

Se encuentra distribuida en zonas neotropicales presentes principalmente en la parte norte de América del Sur, muy común en la cuenca amazónica, del Orinoco y la cuenca alta del río Paraguay. Prefiere los bosques de llanuras aluviales inundables. En Perú se encuentran en los departamentos de Loreto y Madre de Dios.

Figura 8. Mapa de distribución mundial de *Maquira coriacea*

C). HÁBITAT

En tierra firme, bosque primario, en planicie inundable, várzea o igapó.[33] Se le observa en ámbitos con pluviosidad elevada y constante; es una especie con tendencia esciófita, presente en zonas de bosque secundario tardío y bosque primario, en suelos arcillosos a limosos con tendencia ácida, en áreas temporalmente inundables por aguas claras (Várzeas”).

d). CARACTERÍSTICAS

Arboles dioicos de hasta 50 m con raíces tablares; ramitas pubérulas. Hojas elípticas a lanceoladas, generalmente ensanchadas hacia el ápice, asimétricas, (2.5) 6-16 x (1) 2.5-6 cm, ápice acuminado, base aguda a obtusa, haz glabrada, envés disperso pubérulo, venas secundarias 13-18 pares. Inflorescencias estaminadas en grupos de 1-6, globosas a subglobosas, 4-10 mm de diametro, sésiles o con pedúnculo hasta 5 mm de largo, involucro con brácteas en 3-6 series, flores libres; inflorescencias pistiladas solitarias o pareadas, subsésiles o con pedúnculo de hasta 1,5 mm de largo, involucro con brácteas en 3-4 series, flores solitarias. Infrutescencias con perianto frutal elipsoide a subgloboso, 15 mm de largo, disperso amarillo- pubérulo.[33]

e). FENOLOGIA, POLINIZACIÓN Y DISPERSIÓN.

Registros de floración durante la estación seca, en el mes de agosto. En el ámbito de Jenaro Herrera (73°45'W, 4°55'S, 140 msnm; 2690 mm precipitación total anual), se reporta que los árboles femeninos de esta especie tienen fructificación abundante y prolongada mayormente entre Diciembre-Mayo, pero pueden presentar dos picos de fructificación en algunos años.

La polinización es posiblemente efectuada por abejas pequeñas. Aves, mamíferos y roedores comen los frutos y posiblemente participan en la dispersión de esta especie.

f). USOS

Látex: Recién sacado del árbol es aplicado como antiinfamatorio en luxaciones y hernias. La mitad de una cucharada de látex diluido con la mitad de agua tibia se toma por las mañanas como tratamiento postparto, para la cura de las hernias y para disminuir los descensos vaginales.[11]

Figura 9. *Maquira coriacea*

2.2. ESPECIES BACTERIANAS

2.2.1. Género *Staphylococcus*

a). **CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA**

Reino	:	Bacteria
Filo	:	Firmicutes
Clase	:	Bacilli
Familia	:	Staphylococcaceae
Género	:	*Staphylococcus*
Especies	:	*Staphylococcus aureus*

b) CARACTERÍSTICAS GENERALES

Staphylococcus es un género de gran importancia en patología humana, constituyendo una de las causas más comunes de infecciones supurativas localizadas. Este género recibe su nombre por el aspecto de racimos de uvas que presentan estos microorganismos cuando se desarrollan en medios sólidos.

Aunque los estafilococos tienen una marcada tendencia a formar racimos (del griego staphyle, racimo de uvas), también se pueden observar células solas, en pares o en cadenas cortas. Los estafilococos tienen una estructura gram positiva típica en cuanto a su pared celular. Al igual que todos los cocos médicamente importantes, son no flagelados, no móviles y no forman esporas. Los estafilococos se desarrollan mejor en condiciones aeróbicas, pero son anaerobios facultativos. En contraste con los

estreptococos, los estafilococos producen catalasa. Más de una docena de especies de estafilococos colonizan a los seres humanos.[29]

La especie *S. aureus* una de las más importantes bacterias patógena para el hombre, siendo capaz de destruir directamente los tejidos o provocar enfermedades a través de las toxinas que produce. Poseen una enzima, la coagulasa, que los diferencia del resto de las especies del género; esta tiene la facultad de reaccionar con el fibrinógeno dando lugar a un coágulo de fibrina. Poseen igualmente una desoxirribonucleasa (DNasa) que es una nucleasa extracelular que despolimeriza el ADN. A esta enzima se la denomina termonucleasa por ser termoresistente. Otras especies son comunes en la flora cutánea, pero producen enfermedades de baja intensidad, en forma típica en asociación con alguna intervención mecánica en el hospedador, como la implantación de un catéter permanente.

c). CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

S. aureus es un coco inmóvil grampositivo cuyo diámetro varía de 0,5 a 1,5 µm, que se divide en más de tres planos para formar grupos de células irregulares semejantes a racimos de uvas. En extendidos de pus o líquidos, los cocos aparecen solos, en pares, en cadenas cortas pero semejantes a racimos. Unas pocas cepas producen una capsula o capa de mucosa que incrementa la virulencia del microorganismo y no originan esporas.

Los estafilococos son bacterias facultativos. Tiene actividad metabólica tanto oxidativa como fermentativa. Son relativamente resistentes al calor. Aunque su temperatura óptima de crecimiento es de 36 ± 1 ºC, pueden desarrollarse también a 45 ºC y hasta soportan temperaturas de 60 ºC durante media hora presentan una buena tolerancia a la desecación y son más resistentes que otras bacterias a ciertos desinfectantes como cloruro de mercurio y fenol.[13]

d). CULTIVOS

Los estafilococos crecen rápidamente en casi todos los medios bacteriológicos bajo condiciones aerobias o microaerofílicas. Se desarrollan con más rapidez a una temperatura de 37°C pero forman pigmento mejor a temperatura ambiente (20 a 25°C).[18]

En los cultivos en desarrollo, las células de *S. aureus* son uniformemente grampositivas y de tamaño regular, y se unen en racimos con la precisión de bolas de billar. En cultivos más viejos, en lesiones en vías de resolución y en la presencia de ciertos antibióticos, es frecuente que las células demuestren una mayor variabilidad en tamaño y que muchas pierdan su grampositividad.[29]

Se desarrollan bien en cultivos como TSB y agar sangre. Pueden crecer en medios que contengan cloruro sódico al 10 % y esta propiedad de tolerancia a la sal se usa para preparar medios de aislamiento. Entre ellos pueden usarse agar Chapman con

manitol y Cloruro de sodio al 7.55, agar feniletanol o agar Columbia. También pueden crecer en medios sintéticos que contengan aminoácidos y vitaminas. Para su desarrollo en condiciones de aerobiosis requieren uracilo y una fuente de carbono fermentable.

Las colonias de estafilococos son circulares, de 2 a 8 mm de diámetro, convexas, desde translucidas a opacas, grises-blanquecinas, amarillas o naranjas. Cuando se cultivan en medios enriquecidos, la producción de pigmento es óptima, particularmente cuando se dejan las placas a temperatura ambiente de 20 a 24 º C.

La pigmentación en agar sangre es más frecuente en *S. aureus*, cuyas colonias son amarillo dorado. La prueba más utilizada para distinguir *S. aureus* de otros estafilococos es la producción de coagulasa, que existe bajo dos formas, libre y ligada. Las cepas pueden dividirse por fagotipia, no así las de los estafilococos coagulasa negativa, ya que en la actualidad no existen procedimientos estandarizados de fagotipados para los mismos.

e). HÁBITAT

Es la especie de mayor interés en patología humana, está ampliamente repartida, como comensal, en mucosas, especialmente en nasofaringe y la piel.

En la cavidad bucal, se encuentra en cantidades normalmente pequeñas, bien como resultado de un efecto inhibidor de la saliva o por el de otras bacterias presentes. Aun así, *S. aureus* y se aísla con cierta frecuencia de placas dentales, especialmente en las asociadas a implantes, y en la saliva de individuos sanos.

f). PATOGENICIDAD

Los estafilococos, son miembros de la microflora normal de la piel humana y del sistema respiratorio y digestivo. Alrededor de 20 a 50% de los seres humanos son portadores nasales de *S. aureus*. Los estafilococos también se detectan con regularidad en ropa, ropa de cama y otros fómites en ambientes humanos.

La capacidad patógena de una determinada cepa de *S. aureus* es el efecto combinado de factores extracelulares y toxinas junto con las propiedades invasivas de la cepa. En un extremo de la gama de la enfermedad está la intoxicación alimentaria estafilocócica, que se atribuye únicamente a la ingestión de la enterotoxina preelaborada; en el otro extremo están la bacteriemia estafilocócica y los abscesos diseminados en todos los órganos.[3]

Las infecciones estafilocócicas se inician habitualmente tras su penetración por las glándulas sebáceas, los folículos pilosos o a través de lesiones cutáneas, ocasionando supuración. La formación de abscesos, lesiones características de estos microorganismos, se debe a la necrosis de los tejidos profundos causada por la

multiplicación bacteriana, y a la formación, en el caso de *S. aureus*, de una pared de fibrina como resultado de su actividad coagulasa. En el caso de infecciones graves: desde la dermis, las bacterias invaden los ganglios linfáticos y, difundiendo por la vía hemática, producen septicemias e infecciones metastásicas.

La patogenicidad de *S. aureus* va ligada a componentes estructurales, toxinas y enzimas, también influyen factores predisponentes del hospedador.

g). COMPONENTES ESTRUCTURALES

• Mureína. Induce a los monocitos a producir pirógenos endógenos, estimula la quimiotaxis de los polimorfonucleares, activa el complemento, determina la aparición de cuerpos opsónicos y tiene, en general, una actividad similar a las endotoxinas, y así produce leucopenia, trombocitopenia y un síndrome de shock séptico.

• Ácidos teicoicos (Polisacárido A). Inducen formación de anticuerpos opsonizantes, intervienen en la adhesión a las cubiertas de fibronectina de las células del hospedador, intensifican la activación del complemento y causan reacciones de hipersensibilidad inmediata cuando se inyectan por vía intradérmica e los seres humanos.

• Cápsula. Presente solo en algunas cepas. Es de naturaleza polisacárido, como cualquier elemento capsular, está dotada de actividad antifagocitaria por sus propiedades antiopsónicas.

• Proteína A. Situada superficialmente en la pared celular, puede, en algunos casos, liberarse al exterior. Habitualmente, su capacidad patogénica va ligada a su unión a la porción Fc de las inmunoglobulinas G (excepto IgG3); de esta forma, bloquea la fagocitosis al no poder unirse dicha porción a los receptores que para la misma poseen las células fagocíticas.

• Coagulasa ligada o factor de agrupamiento. Es una proteína que interactúa con el fragmento D del fibrinógeno, originando una cubierta de fibrina alrededor de una o varias unidades de estafilococos. De esta forma, se agregan unas bacterias con otras quedando protegidas de la fagocitosis.

h). TOXINAS

Las toxinas *α, β, γ* y *δ* son exotoxinas que lesionan membranas celulares, especialmente de hematíes, por lo que son conocidas como hemolisinas. En algunos casos se desconoce su mecanismo de acción y sus repercusiones patogénicas, ya que muchos datos se han obtenido a partir de ensayos *in vitro* o *in vivo* en animales de experimentación.

• Toxina *α.* es una proteína heterogénea que ejerce acción sobre una amplia gama de membranas celulares eucariotas. La toxina α es una hemolisina potente. Es la responsable de la β hemólisis en los cultivos. No actúa sobre hematíes humanos, pero sí sobre los de algunos animales, hemolizándolos. Además, es citotóxica para leucocitos y fibroblastos. Cuando se inyecta por vía intradérmica, causa necrosis de la piel o dermonecrosis. Inoculada por vía intravenosa, es letal para los animales de experimentación, produciendo fibrilación ventricular, agregación plaquetaria y espasmos de musculatura lisa. Es la hemolisina que más se ha relacionado con la patogenicidad humana. Sin embargo, se desconoce la forma exacta de su mecanismo de acción pareciendo que se integra en regiones hidrofobias de las membranas celulares alterando su integridad.

• Toxina *β.* Su efecto citotóxico se ejerce degradando la esfingomielina, actuando en mayor o menor intensidad sobre los hematíes, los leucocitos, los macrófagos y los fibroblastos, dependiendo del contenido de esta sustancia y su distribución superficial. Refuerza la β hemólisis de la toxina α en los medios de cultivo sólidos con sangre, si después de una incubación a 36 º ± 1ºC se hace otra posterior a 4º C.

• Toxina *γ.* Su mecanismo de acción es desconocido, es citotóxica para hematíes de diversos animales (incluso del hombre), para leucocitos y linfoblastos.

• Toxina *δ.* Degrada la fosfatidilserina y ejerce un efecto detergente sobre las superficies celulares. Como la toxina α, es dermonecrótica: Ejerce un efecto citotóxico sobre hematíes, macrófagos, leucocitos y plaquetas. En el íleon de conejo inhibe la absorción de agua y estimula la producción intracelular de AMPc (adenosin monofosfato cíclico), con lo que aumenta la liberación de agua y electrolisis a la luz intestinal, pudiendo ser la responsable de diarreas agudas.

• Leucocidinas. Son distintas de las hemolisinas. Están formadas por dos proteínas electroforéticas distintas: F (rápida) y S (lenta). Tiene acción sobre leucocitos polimorfonucleares y macrófagos, lesionando sus membranas y alterando de forma letal su permeabilidad. Esta toxina es un factor de virulencia importante en las infecciones extrahospitalarias por *S. aureus* resistentes a la meticilina.

• Exofoliatina. Responsable del síndrome estafilocócico de la piel escaldada (SEPE). Rompe las uniones celulares por estructuras de membrana, del estrato granuloso más superficial de la epidermis, provocando la separación y desaparición del mismo.

• Toxina 1 del síndrome de shock toxico. Esta proteína (TSST-1) origina por mecanismos no bien conocidos, un cuadro de shock grave. Parece suprimir la síntesis de IgM, inducir la producción de interleucina 1 y factor de necrosis tumoral por los macrófagos y aumentar la susceptibilidad del hospedador a las endotoxinas bacterianas.

• Enterotoxinas. Causan gastroenteritis. Son proteínas relativamente termoestables, que parecen actuar sobre el centro del vómito y aumentar el peristaltismo intestinal bien por inhibición simpática o por una acción irritante gastrointestinal directa.

i). ENZIMAS

• Catalasa. La descomposición del agua oxigenada en agua y oxigeno molecular, por la catalasa, podría interferir en la destrucción intrafagocítica mediada por radicales tóxicos de oxígeno.

• Coagulasa libre. Es un profermento que en presencia de protrombina, o un cofactor del plasma de conejo (coagulase reacting factor, CRF), o ambos, transforma el fibrinógeno en fibrina, determinando la formación de coágulos intravenosos.

• Hialuronidasa. Aumenta el poder invasivo de los estafilococos al hidrolizar el ácido hialurónico, mucopolisacarido constituyente fundamental de los tejidos.

• Estafilocinasa. Actúa sobre la fibrina por activación de una profibrinolisina, destruyendo los coágulos de fibrina y pudiendo, al menos teóricamente, facilitar la formación de microtrombos y las metástasis sépticas.

• Lipasas. Tales como fosfolipasas esterasas, capaces de metabolizar las grasas cutáneas.

• Nucleasas. Hidrolizan el ADN de las células eucariotas, por lo que podrían contribuir a las lesiones tisulares.

Produce una amplia gama de sustancias capaces de justificar su virulencia. Sin embargo, no todas las cepas tienen el mismo potencial de patogenicidad y en las que se aíslan de procesos infecciosos no están presentes todos los factores que se han mencionado. Estas sustancias y componentes estructurales son antigénicas en mayor o menor grado, pero rara vez se producirán anticuerpos neutralizantes de todos los efectos biológicos, aunque a veces individualmente puede producirse una neutralización específica (por ejemplo anticuerpos frente a la exfoliatina). Así pues, aunque en el suero de los pacientes se detecten algunos anticuerpos (por ejemplo, frente a los ácidos teicoicos), tras pequeñas infecciones de piel o mucosas, en bacteremias prolongadas o en focos secundarios infecciosos, su valor pronóstico es muy relativo. Parece que la defensa frente a las infecciones estafilocócicas es esencialmente celular, siendo la fagocitosis el factor más importante. En cualquier caso, como *S. aureus* forma parte de la microbiología normal del hospedador, son necesarias algunas condiciones para que se convierta en patógeno. Estas pueden reunirse en tres grupos:

• Trastornos de la barrera cutáneo-mucosa. Es el caso de los traumatismos, los cuerpos extraños, las intervenciones quirúrgicas, las quemaduras, y cualquier situación que altere la continuidad de esta barrera.

• Defectos de la fagocitosis. Se da en la quimiotaxis, tanto congénitos como adquiridos, también en los mecanismos bactericidas intraleucocitarios o en la opsonización.

• Trastornos generales de los mecanismos de defensa. Como en los casos de neoplasias, administración de corticoides o adicción a drogas, entre otros.

Mención especial merecen los diabéticos, no solo porque se colonizan más fácilmente, sino también por el estado hiperosmolar que determina alteraciones funcionales leucocitarias.

k). EPIDEMIOLOGÍA

S. aureus forma parte de la flora normal del ser humano. El sitio más frecuente de colonización es la zona anterior de las vías nasales, aunque también puede colonizar la piel (en particular si está lesionada), la vagina, las axilas, el perineo y la bucofaringe. Se sabe que 25 a 50 % de los sujetos sanos pueden estar colonizados por *S. aureus* de manera persistente o transitoria. La frecuencia de colonización es mayor entre los diabéticos insulinodependientes, los sujetos infectados por el VIH, los usuarios de drogas inyectables, los pacientes sometidos a hemodiálisis y los individuos con lesiones cutáneas. Los sitios de colonización actúan como reservorios de cepas para futuras infecciones por *S. aureus* y las personas colonizadas están expuestas a un

mayor riesgo de nuevas infecciones (por la especie colonizadora) que las personas no infectadas.[25]

En general, *S. aureus* es una causa importante de infecciones nosocomiales. Es la causa más frecuente de infección en las incisiones quirúrgicas. Los aislados nosocomiales son cada vez más resistentes a múltiples fármacos. A nivel comunitario, *S. aureus* sigue siendo una causa importante de infecciones cutáneas y de partes blandas, de infecciones respiratorias y (en las personas que consumen drogas inyectables) de endocarditis infecciosa. El número de infecciones de tipo comunitario por estafilococos se ha incrementado al aumentar los pacientes sometidos a infusiones terapéuticas domiciliarias.

Varios informes han descrito infecciones comunitarias (en medios tanto rurales como urbanos) causadas por *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) en sujetos sin exposición previa de tipo médico. A diferencia de las cepas de MRSA de origen nosocomial, estos microorganismos aislados en la comunidad han seguido siendo sensibles a muchos antibióticos no betalactámicos. Un aspecto preocupante ha sido la aparente capacidad que poseen las cepas comunitarias de MRSA para causar cuadros graves en personas inmunocompetentes; tal facultad quizá dependa de la presencia de diferentes genes toxígenos en estas especies, y también del empleo de agentes betalactámicos como tratamiento empírico de los pacientes infectados por ellas. Casi todas las personas que terminan por padecer infecciones por *S. aureus* lo hacen a partir de sus propias cepas colonizadoras.

Sin embargo, *S. aureus* también puede adquirirse de otras personas o por exposición ambiental. Por lo general, la transmisión se origina en una colonización transitoria de las manos del personal sanitario, que así transfieren estas cepas de un paciente a otro. También se ha señalado la propagación de estafilococos en aerosoles procedentes de las secreciones respiratorias o nasales de individuos intensamente colonizados.[18]

2.2.2. Género *Pseudomonas*

a). CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino	:	Bacteria
Filo	:	Proteobacteria
Clase	:	Gamma Proteobacteria
Familia	:	Pseudomonadaceae
Género	:	*Pseudomonas*
Especies	:	*P. aeruginosa*

b) CARACTERÍSTICAS GENERALES

Las *Pseudomonas* son bacilos gramnegativos, móviles y aerobios, algunos de los cuales producen pigmentos hidrosolubles. Tienen una amplia distribución en el suelo, el agua, las plantas y los animales. *Pseudomonas aeruginosa* a menudo está presente en pequeñas cantidades en la microflora intestinal normal y en la piel del ser humano

y es el principal microorganismo patógeno del grupo. Otras *Pseudomonas* pocas veces producen enfermedad. La clasificación de las *Pseudomonas* se basa en la homología de rRNA/DNA y en las características de cultivo comunes.[3]

Pseudomonas es un género de especies capaces de utilizar un amplio rango de compuestos, tanto orgánicos e inorgánicos, y capaces de vivir bajo muy diversas condiciones ambientales. Debido a esta característica, estos microorganismos son muy ubicuos, y podemos encontrarlos tanto en los ecosistemas terrestres como acuáticos y, son importantes como patógenos de plantas, animales y humanos.

El género *Pseudomonas* es bien conocido por su versatilidad metabólica y plasticidad genética. Las especies de *Pseudomonas* en general, crecen rápidamente y presentan gran habilidad para metabolizar una amplia variedad de substratos, incluyendo compuestos orgánicos tóxicos, como hidrocarburos alifáticos y aromáticos. Las cepas de las especies de *Pseudomonas* son frecuentemente resistentes a antibióticos desinfectantes, detergentes, metales pesados y solventes orgánicos.[21]

c). CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

Pseudomonas aeruginosa, es una bacteria acuática, que puede atacar también al hombre como oportunista y desencadenar inflamaciones del oído medio, infecciones de heridas con formación de un pus azul verdoso y en los individuos debilitados puede provocar incluso bacteriemias.[29] Es una bacteria flagelada con forma de bastoncillo, que produce pigmentos fluorescentes de colores que pueden variar

desde el rojo hasta el negro. Es gram negativo, es más delgado y más pálido a la tinción que otras enterobacterias, y muestra una disposición en bacterias individuales, en pares y a veces en cadenas cortas.[3]

P. aeruginosa tiene una amplia distribución en la naturaleza y suele estar presente en medios húmedos en los hospitales. Puede colonizar al ser humano normal en quien es un saprófito. Causa enfermedades en personas con defensas anormales.[3]

P. aeruginosa, no requiere de medios enriquecidos para su cultivo y puede sobrevivir y multiplicarse en un amplio intervalo de temperatura (20 a 42 °C) en casi cualquier ambiente, lo que incluye entornos ricos en sales. El microorganismo utiliza mecanismos productores de energía por oxidación y altas concentraciones de oxidasa de citocromo (positivo para oxidasa). Aunque es necesaria una atmósfera aeróbica para el crecimiento y metabolismo óptimos, casi todas las cepas crecen con lentitud anaeróbicamente si hay nitrato como aceptor de electrones.[29]

d), CULTIVO

Crece con facilidad en muchos medios de cultivo, se desarrolla a una temperatura entre 10°C y 42°C. Su temperatura óptima de crecimiento es de 35°C a 37°C. Se aíslan de muestras clínicas 70-90%. Producen hemólisis, produce amoniaco como fuente de nitrógeno y glucosa como única fuente de carbono y energía Oxidasa positiva.

P. aeruginosa es a menudo identificada, de modo preliminar, por su apariencia perlada y olor a uvas *in vitro*. La identificación clínica definitiva de *P. aeruginosa* frecuentemente incluye, tanto identificar la producción de piocianina y fluoresceína como determinar su habilidad de crecer a 42 °C. *P. aeruginosa* es capaz de crecer en combustibles como querosene o gasóleo, ya que es un microorganismo capaz de nutrirse a partir de hidrocarburos, causando estragos de corrosión microbiana, y creando una gelatina oscura que a veces se identifica erróneamente con un alga.

P. aeruginosa en un cultivo puede producir múltiples colonias de diferentes tipos. También tiene diferentes actividades bioquímicas y enzimáticas y diferentes tipos de susceptibilidad antimicrobiana. A veces no está claro si los tipos de colonia representan diferentes cepas de *P. aeruginosa* o si son variantes de la misma cepa. Los cultivos de pacientes con fibrosis quística a menudo generan microorganismos de *P. aeruginosa* que forman colonias mucoides como resultado de la producción excesiva de alginato, un exopolisacárido. En los pacientes con fibrosis quística, el exopolisacárido al parecer proporciona la matriz para que los microorganismos vivan en una biopelícula.[3]

e). HÁBITAT

P. aeruginosa es una bacteria muy extendida, y puede encontrarse en el agua, la tierra, animales o plantas, ya que sus necesidades alimenticias son mínimas, aunque las enfermedades producidas por esta bacteria están asociadas a su preferencia por

los medios húmedos. En los seres humanos puede encontrarse en las zonas más húmedas del cuerpo, como son las axilas, los oídos y la zona alrededor del ano.

f). PATOGENICIDAD

Es un patógeno oportunista de individuos immunocomprometidos, *P. aeruginosa* infecta los pulmones y las vías respiratorias, las vías urinarias, los tejidos, (heridas), y también causa otras sepsis (infecciones generalizadas en el organismo. *Pseudomonas* puede causar neumonías a grupos, lo que en ocasiones precisa ayuda mecánica para superar dichas neumonías, siendo uno de los microorganismos que con mayor frecuencia se han aislado en muchos estudios. La piocianina es un factor de virulencia de la bacteria; sin embargo, las investigaciones indican que el ácido salicílico puede inhibir la producción de piocianina. La fibrosis quística está también predispuesta a la infección de los pulmones. *P. aeruginosa* puede también causar dermatitis, ocasionada por disminución del control de la calidad del agua de bebida. La causa más común de altas fiebres en infecciones es *P. aeruginosa*. También ha estado involucrado en foliculitis de tinas de agua caliente, en especial aquellas sin un control higiénico continuo.

g). CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES

Cápsula: Exopolisacáridos mucoide, adhesina, inhibe la acción bactericida de los antibióticos, protege de la fagocitos, inhibe la actividad de neutrófilos y linfocitos.

Pili: Adhesinas

Lipopolisacáridos: Actividad endotoxina, es un antígeno que contiene Lípido A que participa en varios efectos biológicos de la septicemia.

h). PIGMENTOS

Piocianina: (pigmento azul). Altera la función ciliar estimulando la respuesta inflamatoria mediante el daño tisular con la producción de radicales de oxígeno tóxico.

i). TOXINAS

- Exotoxina A: Inhibe la síntesis proteica en las células hepáticas, corazón, riñón, pulmón y bazo. Inhibe la captación de aminoácidos a nivel celular.

- Citotoxina: Actúa sobre la mayoría de las células eucarióticas, produciendo desorden en las membranas y una baja de sus efectos bactericidas.

- Exotoxina B: Contribuye a la patogenicidad.

j). ENZIMAS:

- Elastasa: Actúa en las células de las paredes arteriales.

- Colagenasa: Produce infección en la córnea.

k). **FACTORES PREDISPONENTES DEL HOSPEDERO**

Hay factores del hospedero que influyen en el desarrollo de la infección como: el sitio de depósito del agente (piel, membranas mucosas, tracto respiratorio,

gastrointestinal o urinario) y los mecanismos de defensa. Las sepsis por *P. aeruginosa* pueden aparecer en muchos lugares anatómicos, incluyendo piel, tejido subcutáneo, huesos, oídos, ojos, tracto urinario y válvulas cardíacas. La localización varía con la puerta de entrada y la vulnerabilidad del paciente. Entre las infecciones causadas por este patógeno se encuentran bacteremias, neumonías, meningitis y absceso cerebral, infecciones urinarias e infecciones cutáneas como abscesos subcutáneos, vesículas y petequias, infecciones oftálmicas como las conjuntivitis y queratitis, infecciones otorrinolaringológicas como otitis externa, otitis media y mastoiditis, infecciones del aparato digestivo (diarreas), así como, infecciones en quemaduras y heridas traumáticas o quirúrgicas.

Una de las misiones fundamentales del sistema inmunitario es la defensa contra las infecciones. Las inmunodeficiencias primarias o secundarias, así como el uso de inmunosupresores, alteran la normal producción de anticuerpos y el funcionamiento adecuado del mismo, aumentan la susceptibilidad a las sepsis. *P. aeruginosa* se destaca por su elevada frecuencia de aislamiento y severidad en cuadros clínicos producidos a pacientes inmunocomprometidos, ya que la mayoría de las infecciones causadas por esta bacteria ocurren en pacientes hospitalizados con debilidad general o depresión de la inmunidad.

I). EPIDEMIOLOGIA

P. aeruginosa es la causa frecuente de infecciones intrahospitalarias, que representa el 11-13.8% de todas las que se producen en ese ámbito. En las unidades de cuidados intensivos (UCI) es responsable de un porcentaje aún más alto de infecciones, con tasas de 13.2-22.6%. Este microorganismo se identificó como la segunda causa más común de neumonía adquirida en la comunidad (NAC), neumonía asociada con la atención médica (NAAM) y neumonía asociada con el respirador (NAR), superada en frecuencia por *Staphylococcus aureus*. En las UCI pediátricas, *P. aeruginosa* es la causa más frecuente de neumonía intrahospitalaria (NI). Es un patógeno importante en los pacientes quemados, cuya frecuencia de colonización aumenta significativamente durante la primera semana de internación. También es responsable de un 6% de los casos de infecciones de la herida quirúrgica, del 9% de las IU intrahospitalarias y de hasta el 16.3% de las IU en las UCI.

Se informaron bacteriemias por *P. aeruginosa* en el 4-6% de los casos, con tasas más altas (14-20%) en los pacientes quemados, internados en la UCI. También es un patógeno importante en personas con inmunodeficiencias primarias y adquiridas. Los receptores de trasplantes de órganos sólidos y de médula ósea tienen tasas aumentadas de bacteremia por *P. aeruginosa* en comparación con la población general hospitalaria, al igual que los pacientes con infección por el VIH (tasas 10 veces más altas). *P. aeruginosa* es una causa importante de infección en los casos de interrupciones de la barrera cutánea, como en los pacientes quemados y en aquellos

con necrólisis epidérmica tóxica. Además, esta bacteria suele aislarse de pacientes con lesiones de pie diabético.

La vigilancia de los aislamientos de *P. aeruginosa* de pacientes internados mostró tendencias crecientes de resistencia antimicrobiana. Los datos del 2003 demostraron tasas de resistencia a imipenem (21.1%), fluoroquinolonas (29.5%) y cefalosporinas de tercera generación (31.9%) más altas que las informadas entre 1998 y 2002. Los aislamientos multirresistentes (MR) de *P. aeruginosa* son bastante comunes en las UCI. Los programas de vigilancia indicaron que, entre 1997 y 2002, en el 10.4% de los hemocultivos se aisló *P. aeruginosa* MR (resistencia a ceftazidima, piperacilina, gentamicina y ciprofloxacina). Las tasas fueron más elevadas en Europa y Latinoamérica en comparación con América del Norte. Es motivo de preocupación el aislamiento frecuente de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos, una clase de antibióticos indicados con frecuencia frente a la resistencia a las fluoroquinolonas y a las cefalosporinas.[9]

III. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y EQUIPOS

3.1.1. Material Biológico

Secreciones laticíferas

- *Artocarpus altilis* "pan de árbol" (látex)
- *Couma macrocarpa* "Leche caspi" (látex)
- *Ficus insipida* "ojé" (látex)
- *Maquira coriacea* "capinurí" (látex)
- *Croton lechleri* "sangre de grado" (látex)

Agentes bacterianos

- 10 Cepas de *Pseudomonas aeruginosa*
- 13 Cepas de *Staphylococcus aureus*

3.1.2. Medios de Cultivo

- Caldo Peptonado
- Agar Cetrimide
- Agar Manitol Salado
- Caldo Tripticasa de Soya
- Agar Tripticasa de Soya
- Agar Müller Hinton

3.1.3. Soluciones y Reactivos

- Ácido sulfúrico
- Agua destilada
- Alcohol de 70°
- Alcohol industrial
- Cloruro de bario
- Cloruro de sodio

3.1.4. Equipos

- Autoclave: FAMAREL
- Balanza Analítica
- Cabina de flujo laminar: LABCONCO
- Criopreservador: SANYO
- Estufa: MEMMERT
- Horno esterilizador: MEMMERT
- Refrigerador (Contaminados): COLDEX
- Refrigerador (No Contaminados): MABE
- Rotador

3.1.5. Otros

- Algodón
- Asas bacteriológicas
- Frascos de vidrio: 200ml, 500ml y 1000ml
- Guantes descartables
- Hisopos estériles
- Mandil
- Mascarillas
- Mecheros de alcohol

- Micropipetas 100 *u*L y 1000 *u*L
- Pipetas volumétricas 1ml, 5ml y 10 ml
- Placas de Petri
- Probetas graduadas 50ml, 100 ml, 200ml, 500ml
- Tubos de ensayo
- Tubos de acero inoxidable 5mm de diámetro
- Vernier

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Área de Estudio

El presente estudio se realizó en la ciudad de Iquitos, provincia de Maynas, departamento de Loreto. Iquitos presenta una precipitación media anual de 2100.5 mm, una temperatura media anual de 27.2 °C, y la humedad relativa media anual de 72.9%. La época de lluvias comprende los meses de noviembre a abril y los meses más secos se sitúan entre julio y agosto. [34]

Geográficamente se encuentra entre las coordenadas 3°49'40'' latitud Sur y 72°22'39'' longitud Oeste, con una altitud aproximada de 124.4 m.s.n.m.[34]

Los ensayos microbiológicos se llevaron a cabo en el laboratorio de la Unidad Especializada de Microbiología, del Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonia Peruana– UNAP (CIRNA – UNAP), ubicado en el Psje. los Paujiles s/n AA. HH. Nuevo San Lorenzo, distrito de San Juan Bautistas, Provincia de Maynas. La obtención de las secreciones laticíferas se realizó en el jardín botánico del CIRNA-UNAP y en el Instituto de Medicina Tradicional IMET de Essalud, ubicada en calle Jesús de Nazareth N°205 – Iquitos.

3.2.2. Obtención de Látex

Los diferentes tipos de látex se obtuvieron de las siguientes especies de árboles: *Ficus insipida* “ojé” y *Maquira coriacea* “capinuri”; ubicados en las instalaciones de CIRNA-UNAP y *Artocarpus altilis* “pandisho”, *Couma macrocarpa* “leche caspi” y *Croton lechleri* “sangre de grado”; ubicados en las instalaciones del Instituto de Medicina Tradicional (IMET).

La extracción del látex se llevó a cabo por medio de un tratamiento sistemático de "sangrado", que consistió en hacer un corte en forma de ángulo a través de la corteza profundizando hasta el cambium. Bajo condiciones asépticas, se colocó un frasco de vidrio pequeño estéril al final del corte del árbol para recoger el látex (jugo lechoso), que fluía lentamente de la herida del árbol. Se evaluó 3 especímenes de cada especie arbórea: *Ficus insipida*, *Maquira coriacea*, *Artocarpus altilis*, *Croton lechleri*, *Couma macrocarpa*. Se obtuvo un total de 1000 ml de látex de cada especie, requerido para este estudio.

3.2.3. Detección de antibiosis

Esta etapa estuvo orientada a determinar si las secreciones laticíferas producían o no antibiosis frente a las cepas bacterianas para este fin se empleó el método de difusión en agar, por la técnica del pocillo[27] y como medio de cultivo agar Müller Hinton (MH).[6]

3.2.4. Reactivación de las Cepas Bacterianas

Las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa fueron* proporcionadas por la unidad especializada de Microbiología del Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRNA) de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP); todas las cepas estaban almacenadas en un equipo criopreservador a -70 °C, en caldo Tripticasa de soya (TSB) con 20% de glicerol. Se

sembraron en tubos de ensayo conteniendo 4ml de Caldo Tripticasa de soya para su reactivación, y se incubaron a 37 °C por 24 horas.

3.2.5. Crecimiento en Medio Agar Soya Tripticasa (TSA)

A partir de los cultivos reactivados, se realizaron siembras en Medio TSA y se incubaron a 37 °C por 24 horas, con el propósito de obtener colonias aisladas de cada cepa bacteriana de este modo se confirmó que se estaba trabajando con cultivos puros.

3.2.6. Pruebas para confirmar la pureza de los cultivos de las especies bacterianas en estudio.

3.2.6.1. Confirmación de la pureza de cultivo de *S. aureus*

- **Tinción de Gram.**

A los cultivos en proceso de evaluación, se procedió a teñir según la técnica de Gram, debiéndose observar a las células de *S. aureus* en forma de racimos de uvas coloreadas de azul o violeta.[18]

- **Prueba de la Catalasa.**

A los cultivos de *S. aureus* obtenidos se les realizó la prueba de la catalasa, para lo cual se colocó una gota de peróxido de hidrogeno sobre un portaobjetos con ayuda de una micropipeta y se procedió a realizar una suspensión de la bacteria en estudio. El desprendimiento de burbujas procedentes de la emisión de oxígeno indicó que la prueba era positiva.[18]

- **Prueba de la Coagulasa**

Se realizó un cultivo de la cepa en 3 ml de Caldo Cerebro Corazón (BHI) y se incubó a 37°C por 24 h. Luego, se repicó dicha cepa a un tubo conteniendo 0.4 ml de plasma sanguíneo, el cual fue incubado a 37°C por 24 h. La prueba se consideró como positiva porque se pudo observar un coagulo dentro del tubo.[18]

3.2.6.2. Confirmación de la pureza de cultivo de *P. aeruginosa*

- **Tinción de Gram**.

A los cultivos en proceso de evaluación, se procedió a teñir según la técnica de Gram, en el cual se pudo observar a las células de *P. aeruginosa* en forma de bacilos coloreados de rojo.[18]

- **Prueba de la Oxidasa**

Se utilizó tiras de papel de filtro impregnados con dicloruro de tetrametil-p-fenilendiamino (reactivo para oxidasa) en dimetilsulfóxido (DMSO). El DMSO hizo que las células sean permeables al reactivo. Se extrajo una colonia del medio en crecimiento y se frotó en las tiras de papel. La aparición de un color azul púrpura dentro de los 30 segundos nos indicó que la prueba fue positiva (como suele ser el caso de las *Pseudomonas).*[18]

- **Determinación del tipo de Metabolismo frente a la glucosa**

Las cepas se sembraron por picadura en dos tubos con el medio Ox/Fer o de Hugh & Leifson; uno de los cuales (tubo de anaerobiosis), fue calentado en baño maría a 100°C durante 10 min.; y luego enfriado. Posterior a la siembra, al tubo de anaerobiosis se le adicionó 1ml de parafina estéril y ambos fueron incubados a 37°C durante 24 h. La presencia de una coloración amarilla en la superficie solo del tubo

no calentado (aerobiosis), nos indicó que la bacteria posee metabolismo oxidativo frente a la glucosa tal como suele suceder con las cepas de *Pseudomonas aeruginosa.* [18]

- **Producción de pigmentos**

Se procedió a sembrar las cepas en Agar Cetrimide para lo cual se procedió a incubar a 37°C por 24 h; pasado ese tiempo se pudo visualizar colonias pigmentadas de color amarillo fosforescente; característica que nos confirmó que efectivamente eran las cepas de *P. aeruginosa*.[18]

- **Crecimiento a 42 °C**

Las cepas de *Pseudomonas* se sembraron en caldo soya tripticasa y se incubaron a 42°C por 24 h., condiciones bajo las cuales *P. aeruginosa* mostró crecimiento.[18]

3.2.7. Preparación del inóculo y prueba de sensibilidad

Las cepas en estudio fueron sembradas en agar tripticasa de soya (TSA) e incubadas a 37°C por 24h para obtener cultivos jóvenes. Luego se prepararon suspensiones bacterianas en 5 ml de solución salina fisiológica estéril hasta alcanzar una densidad celular equivalente al estándar 0.5 del Nefelómetro de McFarland (1.5 x 10^8 UFC/ml).

Se sumergió un hisopo estéril en la suspensión y se rotó varias veces presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de cultivo. Luego se procedió a inocular en toda la superficie de la placa con agar Müller Hinton, por el método de siembra en superficie. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 min para que cualquier exceso de humedad sea absorbido.

Luego se procedió a hacer los pocillos con una pinza de sacabocado previamente esterilizado haciendo orificios de 6mm de diámetro, en cada pocillo se colocó 100 ul de las secreciones laticíferas de las especies vegetales: *Artocarpus altilis* "pan de

árbol", *Couma macrocarpa* "leche caspi", *Ficus insipida* "ojé", *Maquira coriacea* "capinuri" y *Croton lechleri* "sangre de grado".

Las placas se incubaron a 37°C por 24h, al cabo del cual se evaluaron los resultados mediante la lectura en milímetros (mm), del halo de inhibición que generaron los látex y con la ayuda de un Vernier. Se usó como control positivo un disco de cefepime 30*ug* para *P. aeruginosa* y a tetraciclina 30*ug* para *S. aureus*. Antibióticos recomendados para este tipo de estudios.

El criterio que se utilizó para analizar actividad antibacteriana fue determinar la presencia o ausencia de halos de inhibición producido por las secreciones laticíferas frente a los microorganismos de prueba,[31,32] a aquellos extractos que presentaron actividad antibacteriana se les determinó la concentración inhibitoria mínima.

3.2.8. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

Se realizó por el método de macro dilución en caldo, para lo cual se preparó cultivos de 18 h, de las bacterias en estudio, en Agar Tripticasa de Soya. Luego se preparó una suspensión bacteriana en solución salina estéril a una turbidez equivalente al estándar 0.5 de la escala de McFarland (aproximadamente 1.5 x 10^8 UFC/ml). A continuación, se hizo una dilución al 1/1000 (aproximadamente 1.5 x 10^6 UFC/ml) transfiriendo 100 µL (0.1 ml) de la suspensión bacteriana a 9.9 ml de caldo tripticasa de soya (TSB).

Previo a esto se tenía listos 10 tubos con 1 ml de caldo tripticasa de soya para cada prueba (tubo N°1 al tubo N°10). Por otro lado, se preparó una solución madre del extracto vegetal a una concentración de 500 mg/ml. Se añadió 1ml de la solución madre del extracto vegetal al tubo N°1 que contenía 1ml de Caldo Tripticasa de Soya (la concentración del látex de este tubo fue de 250mg/ml), se mezcló bien con la ayuda de un vórtex. A partir de este tubo, se prepararon diluciones seriadas, para lo cual se tomó 1ml y se transfirió al tubo N°2 (concentración del extracto = 125 mg/ml),

después de mezclar bien el contenido, se transfirió 1ml al tercer tubo, del cual la concentración del extracto fue 62.5 mg/ml y así sucesivamente hasta el tubo N° 10, del cual se tomó y descartó 1 ml. De este modo, se obtendrán diluciones dobles de cada extracto desde 250 mg/ml hasta 0.49 mg/ml. A continuación, se añadió a cada tubo con la secreción laticífera (Tubo N°1 al 10), 1ml del inóculo preparado de la cepa que contenía aproximadamente 1.5 x 10^6 UFC/ml, esto dio un inóculo final aproximado de 7.5 x 10^5 UFC/ml y las concentraciones finales de las secreciones laticíferas fueron desde 125 mg/ml hasta 0.24 mg/ml. Los tubos fueron incubados a 37 °C durante 18 horas y luego se procedió a calcular la CIM. Se consideró como la concentración mínima a la que correspondía al tubo con menor concentración del extracto donde no hubo desarrollo bacteriano.

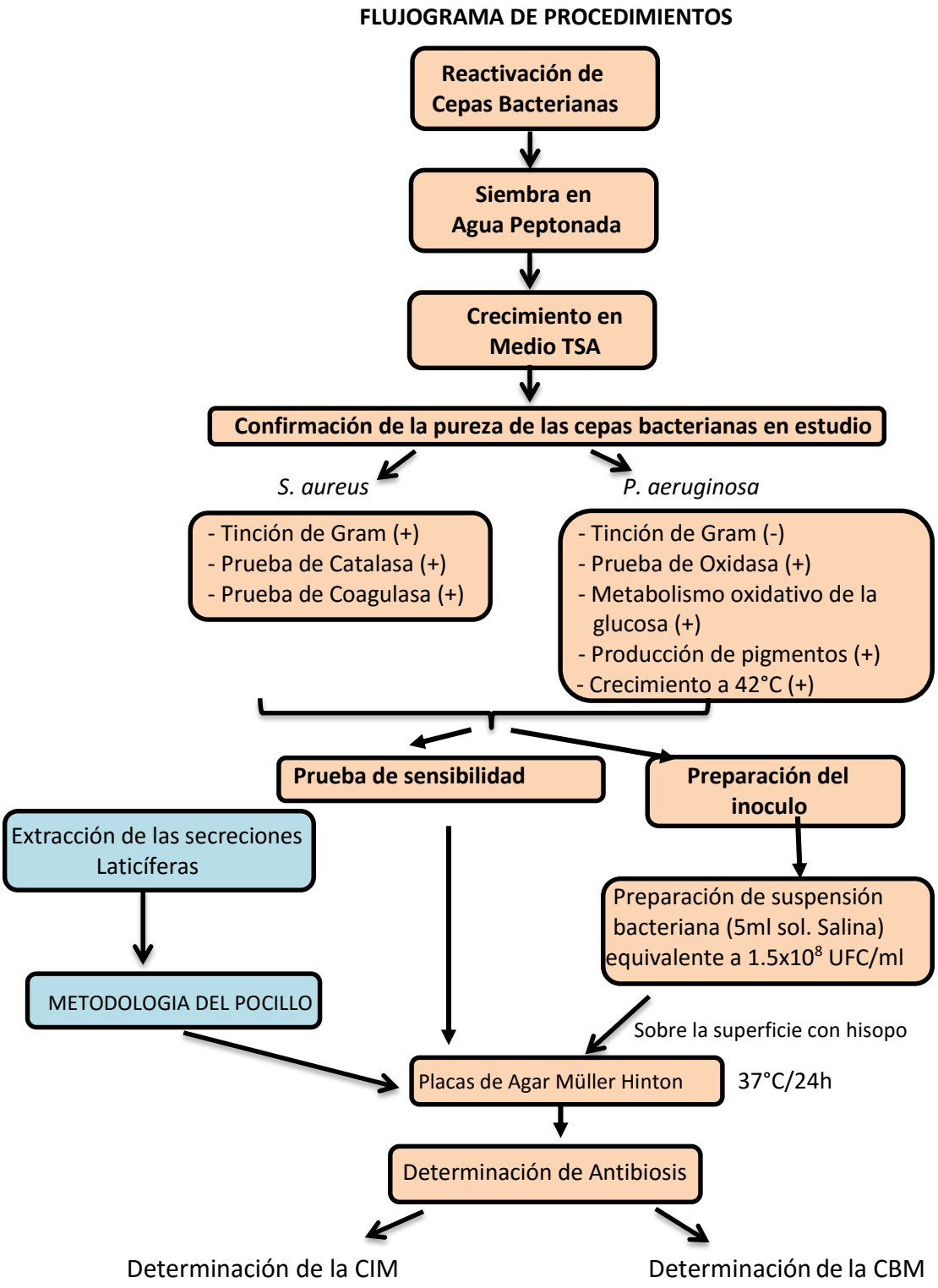
3.2.9. Determinación de la Concentración Bactericida Mínima (CBM)

A partir de cada uno de los tubos en los cuales no se observó desarrollo bacteriano, en la determinación de la CIM, se inoculó 0.1 ml en placas de Petri con Agar Tripticasa de Soya y se aplicó la técnica de siembra en superficie, las que se incubaron a 37°C durante 18 horas. Para determinar la CBM, se contó el número de UFC en las placas, la cual se consideró como la menor concentración del extracto cuyo sub cultivo produjo un número de colonias menor a 0.1% del inóculo original (7.5 x 10^5UFC/ml)), es decir se consideró la CBM al subcultivo que produjo menos de 75 colonias.

3.2.10. Análisis Estadístico

Los resultados se evaluaron mediante estadística descriptiva. Se usaron los programas MS Excel, Past v.2.09 y el software R 3.0.1 para los análisis de las cepas que tuvieron reacción positiva.

Figura 10: Determinación de la actividad antibacteriana de las secreciones laticíferas



IV. RESULTADOS

4.1. SUSCEPTIBILIDAD DE LAS CEPAS BACTERIANAS FRENTE A LAS SECRECIONES LATICÍFERAS

4.1.1 Susceptibilidad de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* frente a las secreciones laticíferas mediante la técnica de los pocillos.

En cuanto a las pruebas de sensibilidad *in vitro* realizadas mediante la técnica del pocillo, todos los látex en estudio no presentaron ninguna actividad antibacteriana frente a las cepas de *Pseudomonas aeruginosa,* dado que no se observó ninguna formación de halo de inhibición alrededor de los pocillos, permitiendo a la bacteria desarrollarse libremente en la superficie del agar.

4.1.2 Susceptibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* frente a los látex mediante la técnica de los pocillos.

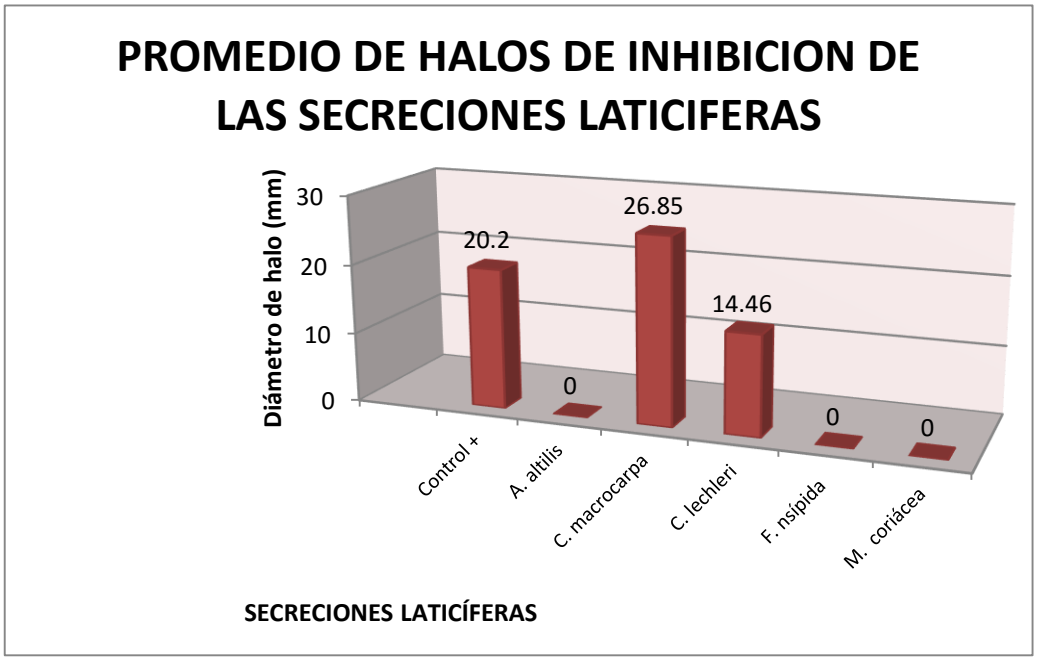
4.1.2.1. Análisis de efectividad

CUADRO N° 1: Medida del diámetro del halo de inhibición (mm) de las secreciones laticíferas frente a las cepas de *S. aureus*

Cepas	TETRACICLINA	*Artocarpus altilis*	*Couma macrocarpa*	*Croton lechleri*	*Ficus insipida*	*Maquira coriacea*
St 1	20	-	25	13	-	-
St 2	19.5	-	21	12	-	-
St 3	22	-	39	16	-	-
St 4	13.6	-	34	14	-	-
St 5	21	-	18	13	-	-
St 6	20.5	-	20	15	-	-
St 7	18.5	-	19	17	-	-
St 8	22.5	-	28	14	-	-
St 9	22	-	22	13	-	-
St 10	20	-	20	16	-	-
St 11	19	-	38	17	-	-
St 12	21.5	-	41	14	-	-
St 13	22.5	-	24	14	-	-

Fuente: Datos obtenidos de tesis.

Figura 11: Sensibilidad antimicrobiana de las secreciones laticíferas frente *Staphylococcus aureus***.**



Fuente: Base de datos de tesis.

En las pruebas in vitro de sensibilidad realizadas mediante la técnica del pocillo de éste estudio, Se observó que la secreción laticífera de *Couma macrocarpa* "leche caspi" y *Croton lechleri* "sangre de grado" fueron efectivas frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* en el que, *Couma macrocarpa* obtuvo el mayor promedio con 26.85 mm en su diámetro de halo, seguido de *Croton lechleri* con 14.46mm de diámetro; sin embargo, los látex de *Artocarpus altilis, Ficus insipida y Maquira coriacea* no presentaron sensibilidad antimicrobiana (Cuadro n° 1) (Figura 11).

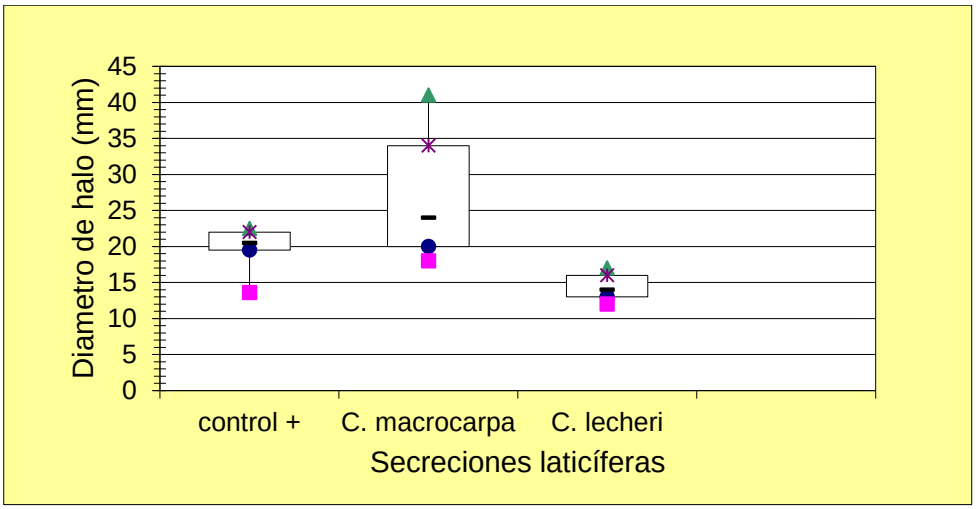
CUADRO N° 2: Datos descriptivos de los halos de inhibición del látex de *Couma macrocarpa* **frente a** *Staphylococcus aureus***.**

LATEX	Datos descriptivos del halo de inhibición que mostró *Couma macrocarpa* y *Croton lechleri* frente a *Staphylococcus aureus* (mm) en comparación con el control +				
	PROMEDIO	DS	MEDIANA	VALOR MAXIMO	VALOR MINIMO
Couma macrocarpa	26.85	8.31	24	41	18
Croton lechleri	14.46	1.61	14	17	12
Control +	20.2	2.38	20.5	22.5	18.5

Fuente: Base de datos de tesis. DS = Desviación estándar

En el análisis realizado el látex de *Couma macrocarpa* "leche caspi" mostró gran actividad frente a las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus,* lo cual se evidenció con la formación de halos de inhibición; los cuales alcanzaron un promedio de 26.845 mm, con máximo de 41mm y un mínimo de 18mm una DS de 8.31 y una mediana de 24. Seguido del látex de *Croton lechleri* "sangre de grado", que mostró actividad frente a las cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus,* con la formación de halos de inhibición; que alcanzaron un promedio de 14.46 mm, con máximo de 17mm y un mínimo de 12mm una DS de 1.61 y una mediana de 14. (Cuadro n°2).

Figura 12: Dispersión de los halos de inhibición de las secreciones laticíferas



Fuente: Base de Datos de tesis.

El modelo caja y bigote [4,23] indicó que los diámetro de los halos de *Croton lechleri* frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* no están dispersos, obteniéndose un máximo de 17 mm y un mínimo de 12 mm, mientras que *Couma macrocarpa* mostró sus datos más dispersos con un máximo de 41 mm y un mínimo de 18 mm (Figura 12)

4.1.3 Cálculo de la CIM Y CBM para látex de las plantas que dieron resultados positivos frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*

CUADRO N° 3: Concentración inhibitoria mínima (CIM) y concentración bactericida mínima (CBM) de los látex frente a *Staphylococcus aureus*

Secreción laticífera	*Staphylococcus aureus*	
	CIM (mg/ml)	CBM (mg/ml)
Croton Lechleri	62.5	125
Couma macrocarpa	125	250

Fuente: Base de datos de tesis.

El látex que tuvo la menor concentración inhibitoria y la menor concentración bactericida mínima frente a las cepas de *S. aureus* fue *Croton lechleri* con una CIM de 62.5 mg/ml y una CBM de 125 mg/ml; seguida por *Couma macrocarpa* con una CIM DE 125 mg/ml y una CBM de 250 mg/ml.

V. DISCUSIÓN

El Perú cuenta con una gran variedad innumerables de plantas medicinales las cuales han sido y siguen siendo empleadas en el tratamiento de diferentes enfermedades, motivo por el cual su estudio se hace necesario. Justamente esto fue lo que motivó la realización de este trabajo.

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que:

El látex de *Croton lechleri* tuvo actividad frente a las cepas de *Staphylococcus aureus,* mientras que frente a *Pseudomonas aeruginosa* no se observó actividad alguna*;* lo cual coincide con lo reportado por Leon & Santiago (2007), quienes prepararon películas de quitosano-alcohol polivinílico por radiación gamma embebidas en extractos hidroalcohólico, alcohólico y acuoso de sangre de grado (*Croton lechleri*), y evaluaron sus propiedades antimicrobianas frente a cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa.* Llegando a la conclusión de que las películas, al igual que el látex de sangre de grado, tienen actividad sólo frente a *S. aureus*. Por otro lado, Huapaya *et al* (2010), realizaron un control microbiológico de extractos de *Croton lechleri,* evaluando su actividad antibacteriana frente a coliformes totales y coliformes fecales; para lo cual analizaron 50 muestras de *Croton lechleri* provenientes de Lima, San Martin, Huánuco y Ucayali. Llegando a determinar una marcada actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* en extractos provenientes de Ucayali en diluciones de 50% y 100%.

Así mismo, Corrales & Castillo (2013), evaluaron el potencial antibacteriano *in vitro* de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos aeróbicos de pacientes con úlceras cutáneas del Sanatorio de Agua de Dios, Cundinamarca, Colombia, con el objetivo de aislar e identificar los aislamientos bacterianos utilizando el sistema automatizado BBL-CrystalTM. Para la evaluación de la susceptibilidad

antimicrobiana *in vitro,* realizaron pruebas de difusión en disco, dilución en agar y difusión en pozo, métodos estandarizados por *The Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI); usando como sustratos el extracto etanólico y de éter de petróleo de *Croton lechleri.* Obtuvieron siete aislamientos bacterianos a partir de las úlceras cutáneas de pacientes del sanatorio, el estudio también incluyó ensayos con cepas de referencia ATCC: *Staphylococcus aureus* (ATCC) y de *Escherichia coli* (ATCC) como control. En los ensayos de sensibilidad antimicrobiana *in vitro,* se concluye que los extractos de *Croton lechleri* fueron efectivos frente a la mayoría de aislamientos bacterianos del estudio, siendo el extracto etanólico el de mayor potencial antibacteriano y la técnica de difusión en pozo la que presento mejor sensibilidad y reproducibilidad.

El látex de *Couma macrocarpa* también mostró actividad frente a *Staphylococcus aureus* más no mostro actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa.* Resultados con los cuales no se pueden discutir ni aceptar puesto que no se encontró estudio alguno realizado con esta planta específica pero; el estudio fitoquímico de numerosas especies de la familia Apocynaceae que es a la familia a la que pertenece, ha conducido al aislamiento de metabolitos muy diversos, con una amplia variedad de actividades biológicas especialmente anticancerosa[12,13], leishmanicida[8], antibacteriana[20] y anti VIH (inhibidores de la transcriptasa reversa)[28,30]; por lo cual siendo *Couma macrocarpa* parte de esta familia y conteniendo en su composición muchos metabolitos similares puedo afirmar que efectivamente tiene actividad frente a *Staphylococcus aureus.*

VI. CONCLUSIONES

- Ninguna secreción laticífera usada en este estudio mostró actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa.*

- Solo las secreciones laticíferas de *Couma macrocarpa* y *Croton lechleri* tuvieron actividad frente *Staphylococcus aureus.*

- De las concentraciones inhibitorias y bactericidas mínimas de los extractos con actividad, *Croton lechleri* mostró valores menores frente a *Staphylococcus aureus*.

- Los resultados obtenidos en el presente estudio, estimulan a continuar las investigaciones sobre diversos aspectos todavía desconocidos: actividad antibacteriana de los componentes de la sangre de grado frente a *Staphylococcus aureus.*

- El látex de *Couma macrocarpa* y *Croton lechleri* mostraron que poseen actividad frente a *Staphylococcus aureus.*

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda hacer estudios fitoquímicos de *Couma macrocarpa* puesto que mostró tener actividad frente a *S. aureus,* con el fin de validarla científicamente como antibacteriano; puesto que no se encontró ningún estudio anterior que se haya realizado en dicha planta con este fin.

- Seguir haciendo estudios antibacterianos para otras plantas con respecto a *P. aeruginosa* ya que la mayoría de estudios se observa actividad ante otras bacterias pero pocas plantas muestran efectividad frente a esta bacteria.

- Realizar más investigaciones acerca de secreciones laticíferas de plantas amazónicas contra bacterias debido a la escasez de información acerca de este tema.

- Continuar con este tipo de investigaciones ayuda a la creación de nuevas medicinas que contrarresten el efecto nocivo de las bacterias.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Berdonces JL. 1998. Gran enciclopedia de las plantas medicinales: El Dioscórides del tercer milenio. Madrid: Ed. Tikal. ISBN. p. 84 – 305 – 8496.

2. Brack A. 1999. Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú. Cuzco: Centro Bartolomé de las Casas. p. 143 – 156 – 203 – 301 – 370 – 382.

3. Brooks GF., Carroll KC., Butel, JS., Morse SA., Mietzner TA. 2010. Microbiología médica. 25a. edición. p. 185 – 190.

4. Buzzini P., Pieroni A. 2003. Antimicrobial activity of extracts of *Clematis vitalba* towards pathogenic yeast and yeast – like microorganims. Fitoterapia 74: 397 – 400.

5. Cárdenas W., Cabieses F. 1997. Algunas plantas antihelmínticas. Lima: Instituto de Medicina Tradicional. p. 11-17.

6. Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI M07-A8. 2009. Pruebas de Sensibilidad a los antimicrobianos por dilución para bacterias que crecen en condiciones aeróbicas. Estándar aprobado – 8ª edición. Documento. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. Disponible en:

   www.simpleshowoflove.weebly.com/uploads/.../agar_dilution_assay.pd..

7. Corrales RL., Castillo CA. 2013. Evaluación del potencial antibacterial *in vitro* de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. Vol.11. no.19. Bogotá: Nova; Jan. /June.

8. Delorenzi JC., Freire De Lima L., Gattass CR., De Andrade CD., HE L., Kuehne ME., Saraiva EM. 2002. “In vitro activities of iboga alkaloid congeners coronaridine and 18-methoxy-coronaridine against *Leishmania amazonensis*”. Antimicrobial Agents Chemother; p. 42, 111-115.

9. Edmonds P., Suskind R., Mac Millan BG. & Holder IA. 1972. Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in a burns Hospital. Disponible en:

   https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC380585/

10. FAO. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. 2006. Árbol de Pan. Disponible en:

    Htt://www.fao.org/ag/AGA/AGAD/FRG/ofris/es/Datg4.HTM.

11. Gustav N. 2000. Árbol De La Llanura Aluvial Amazónica *Maquira coriácea* (Karsten) C.C. Berg: Aspectos de Ecología y Manejo. IIAP. Folia Amazónica. Vol. 11 (1-2). Disponible en:

    Http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/Folia11_articulo1.pdf

12. Gunasekera SP., Badawi MM., Cordell GA., Farnsworth NR., Chitnisl M. 1979. “Plant anticancer agents X isolation of camptothecin and 9-methoxycamptothecin from *Ervatamia heyneana*”. J. Nat. Prod., p. 42, 475-477.

13. Garbett NC. & Graves DE. 2004. “Extending nature's leads: The anticancer agent ellipticine”. Curr. Med. Chem. Anticancer Agents; p. 4, 149-172.

14. Haddadin AS. 2002. Methicillin resistant staphylococcus aureus (MRSA) in the intensive care unit. Postgrad Med J. 78(921): 385-92.

15. Huapaya YJ., Flores FM., Larrea CH. 2010. Control microbiológico y evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de *Croton lechleri* "Sangre de grado". Disponible en:

www.medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2003/Art2_Vol3_N1-2.pdf

16. Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias-Organización internacional de maderas Tropicales INIA-OINMT. 1996. Manual de identificación de especies forestales de la subregión andina. Lima, Perú. Disponible en:

www.itto.int/files/itto.../S-PD-150-91-R1-I-Manual%20de%20Identificación-1.pdf

17. Janzen DH. 1983. Isla de la ecología. Vol. 41, N° 3. Oikos. pp 402 – 410

18. Jawetz, Melnick & Adelberk. 1999. Microbiología médica. 17ava ed. Santa fe de Bogotá, Colombia. p. 227 – 233.

19. Leon K. & Santiago J. 2007. Propiedades antimicrobianas de películas de quitosano-alcohol polivinílico embebidas en extracto de sangre de grado. Rev. Soc. Quím. V.73. No 3. Lima, Perú: julio/set. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2007000300005

20. Lindsay EA., Berry Y., Jamie JF., Bremner JB. 2000. “Antibacterial compounds from *Carissa lanceolata* R.Br.” Phytochemistry. pp. 55, 403-406.

21. López S., y Oswaldo. 2002. *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a betalactamicos e inhibidores de betalactamasas (Piperacilina/Tazobactam). Revista de Posgrado de Ia V Cátedra de Medicina - N° 121 – Noviembre. Disponible en: http://med.unne.edu.ar/revista/revista121/pseudomonas.htm

22. MOBOT. Missouri Botanical Garden. 2004. Disponible en línea desde 10/03/04: http://mobot.mobot.org/W3T/Search/vast.html.

23. Morais LAS., Do Carmo MGF., Viegas ECDF et al. 2000. Evaluation of antimicrobial activity of extracts of medicinal plants on three tomato phytopathogens. ISHR Acta Horticulturae 569. Disponible en:

http://actahort.org/books/569/index/htm

24. Mori T., Ruiz E., Bardales J., García M., Tresierra A., Arévalo A., Bendayán ME., Dávila CR., Espinoza F., Reátegui R., Angulo J., Quevedo, C., Zapata EE. 2010. Efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* "camu camu" y *Cyperus luzulae* "piripiri" sobre microorganismos patógenos. Iquitos-Perú: UNAP. p.18.

25. Murray P. 2002. Microbiología médica. 4° edición. Madrid: el sevier Science. p. 209 – 333.

26. OMS. 2002. Prevención de las infecciones nosocomiales. Guía Práctica. 2ª edición. Ginebra, Suiza. 71pp.

27. Ramírez L. 2009. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia et technica año XV, N° 42, Agosto 2009. Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN 0122-1701.

28. Silva EM., Cirne-Santos CC., Frugulhetti IC., Galvao-Castro B., Saraiva EM., Kuehne ME., Bou-Habib DC. 2004 “Anti-HIV-1 activity of the iboga alkaloid congener 18-methoxycoronaridine”. Planta médica; 2004. pp. 70, 808-812

29. Sherris J., Ryan K., Ahmad N., Ray G., Drew L., Plorde J. 2011. Sherris microbiología médica. p. 331 – 470.

30. Suffredini IB., Varella AD., Oliveira AA., Younes RN. 2002. “In vitro anti-HIV and antitumor evaluation of amazonian plants belonging to the Apocynaceae family”. Phytomedicine. pp.9, 175.

31. Toribio MS., Oriani SD., Toso RE., Tortone CA., Fernández J. 2007. Susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a extractos vegetales obtenidos de plantas nativas y naturalizadas de la provincia de la Pampa, Argentina. Boletín Latinoamericano y del caribe de Plantas Medicinales y aromáticas. Vol. 6 Num.6. Sociedad latinoamericana de fotoquímica Santiago, chile. pp 367-368

32. Toribio MS., Oriani SD., Toso, RE., Tortone, CA., Fernández, JG. 2009. *Staphylococcus aureus* sensible a extractos metanólicos obtenidos de plantas nativas de la provincia de la Pampa, Argentina.

33. Vásquez MR. 1997. Flórula de las Reservas Biológicas de Iquitos, Perú. Missouri Botanical Garden. p. 283,505 – 511 – 520.

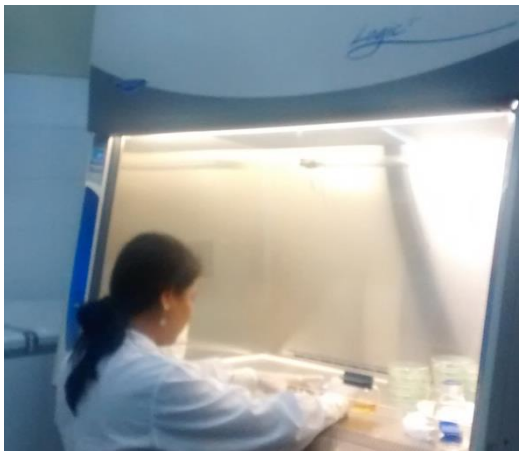
34. www.essalud.gob.pe/instituto-de-medicina-tradicional/

IX. ANEXOS

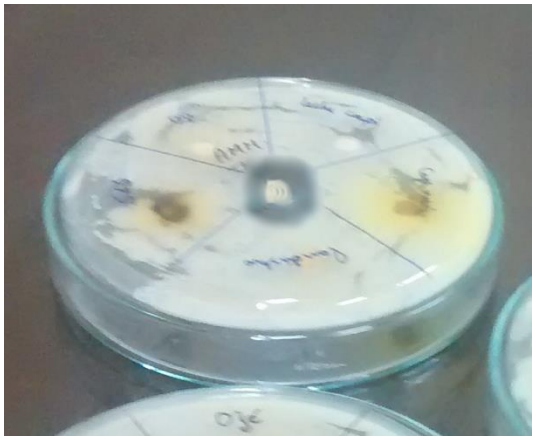
ANEXO 1: OBTENCIÓN DE LOS LATEX

ANEXO 2: REACTIVACIÓN DE LA MUESTRA

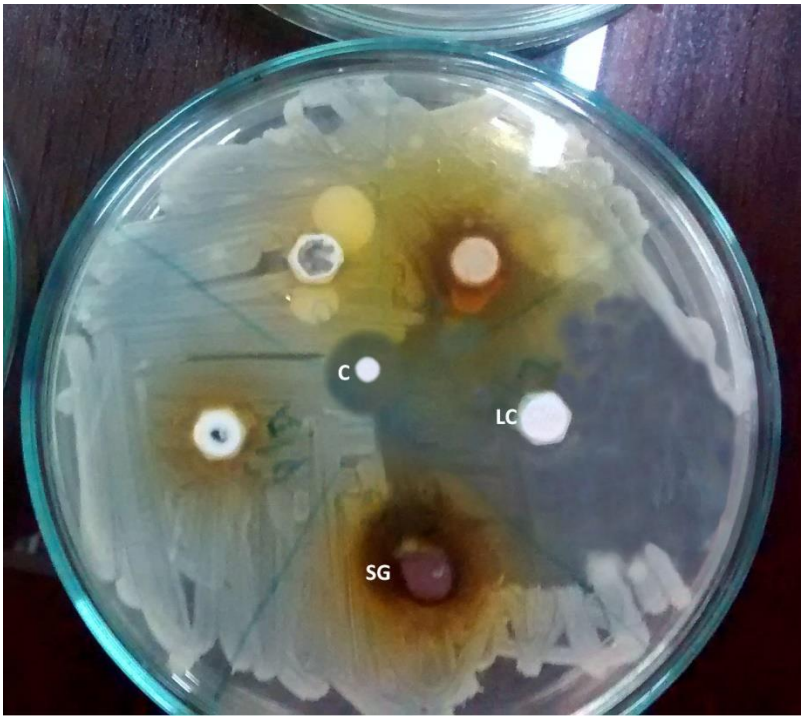
ANEXO 3: SIEMBRA EN AGAR MÜLLER HILTON PARA LA PRUEBA DE SENSIBILIDAD



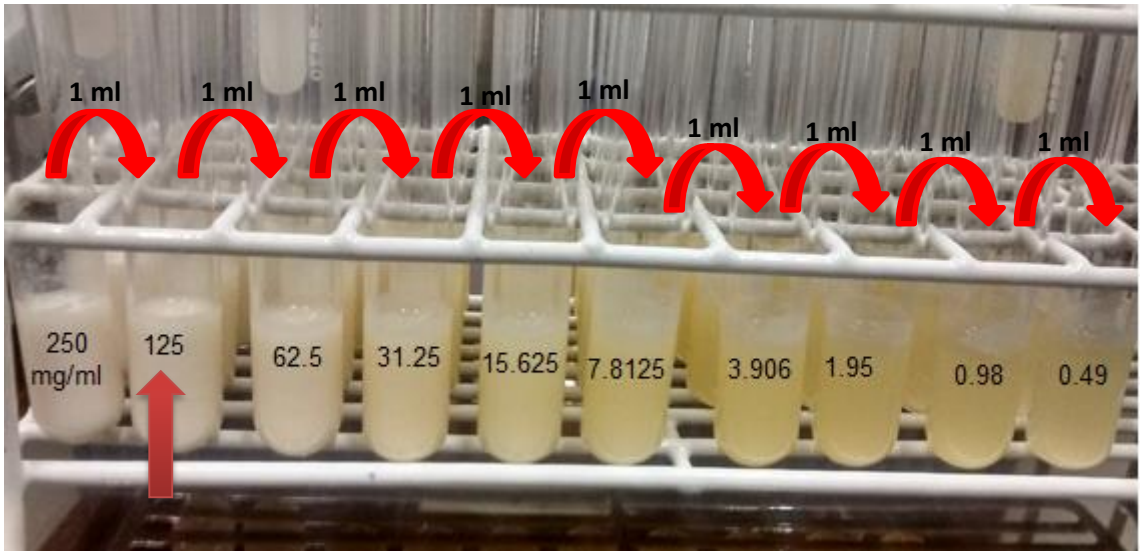
ANEXO 4: ANTIBIOGRAMA DE LOS LÁTEX FRENTE A *Pseudomonas aeruginosa* EN EL CUAL NO SE OBSERVA LA PRESENCIA DE HALO.



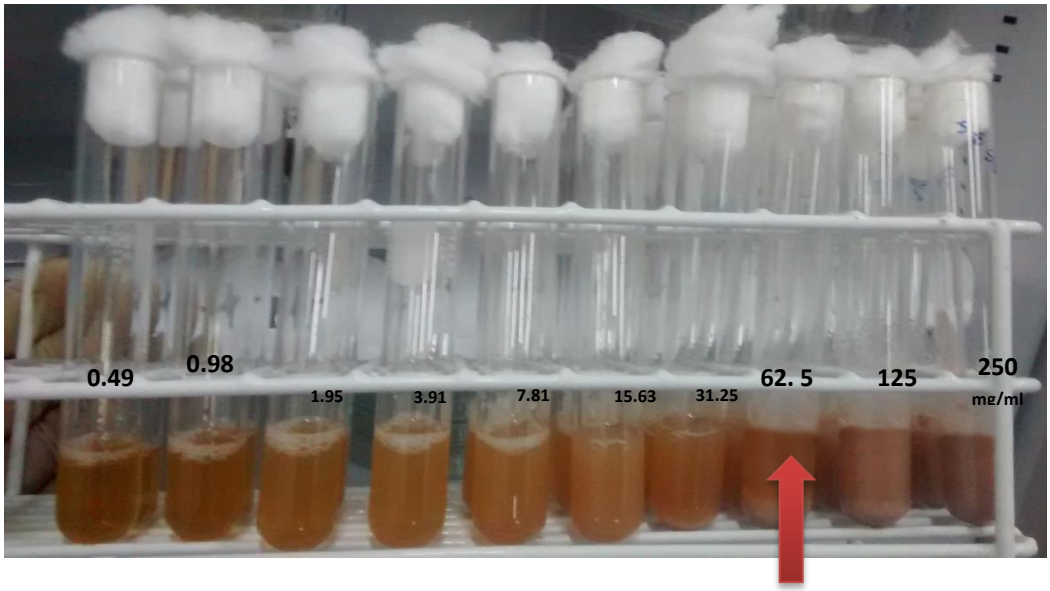
ANEXO 5: HALO DE INHIBICIÓN DEL LÁTEX DE *Couma macrocarpa* "leche caspi" y *Croton lechleri* "sangre de grado" FRENTE A *S. aureus*



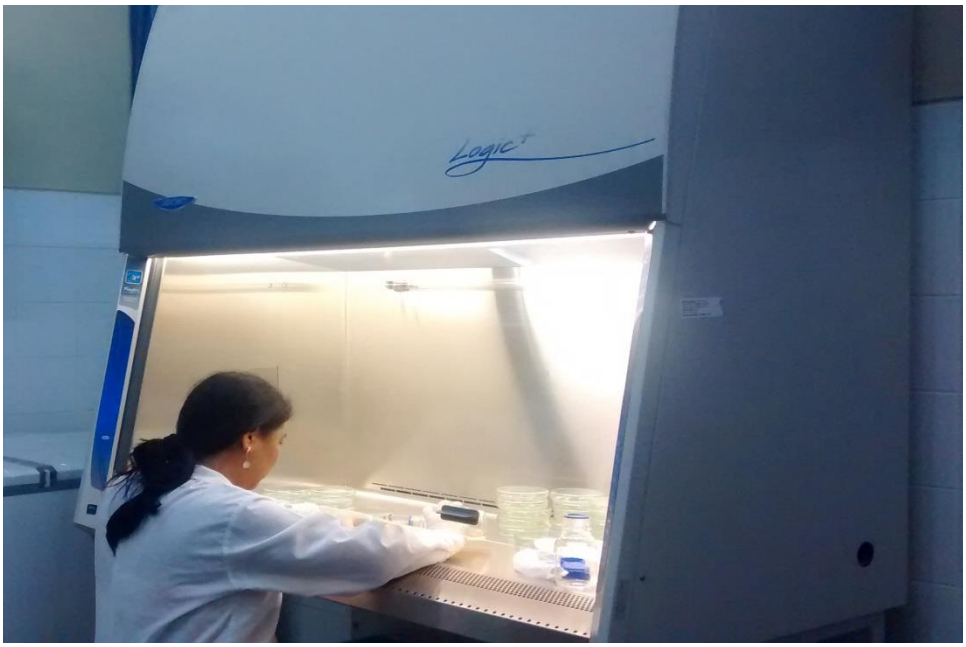
ANEXO 6: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA – CIM DE *Couma macrocarpa*



ANEXO 7: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA – CIM DE *Croton lechleri*

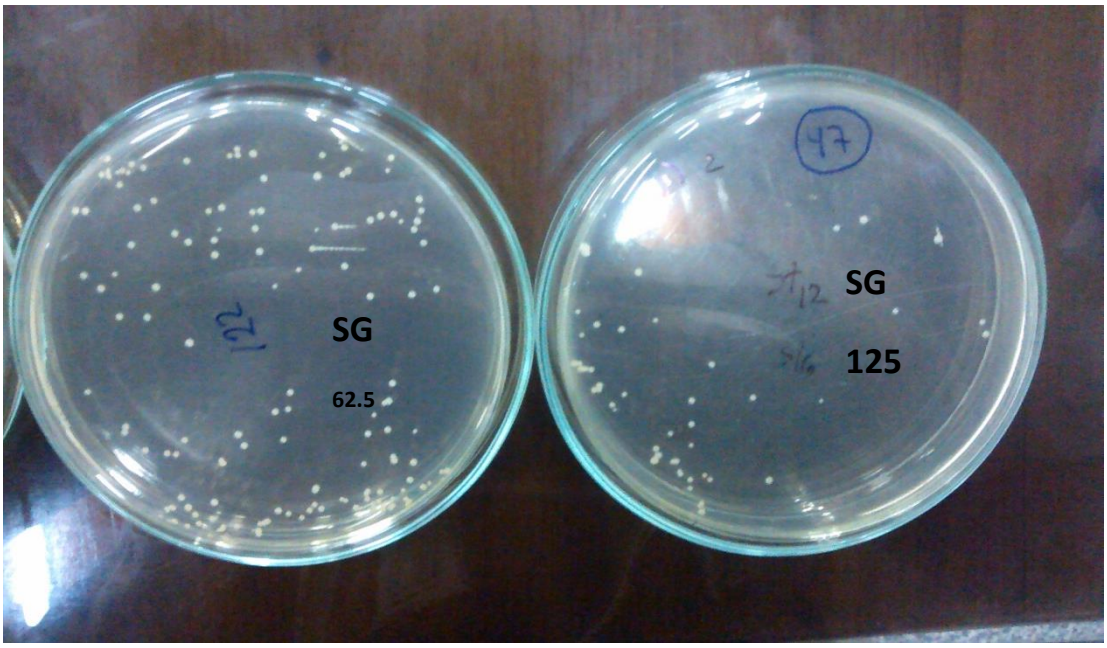


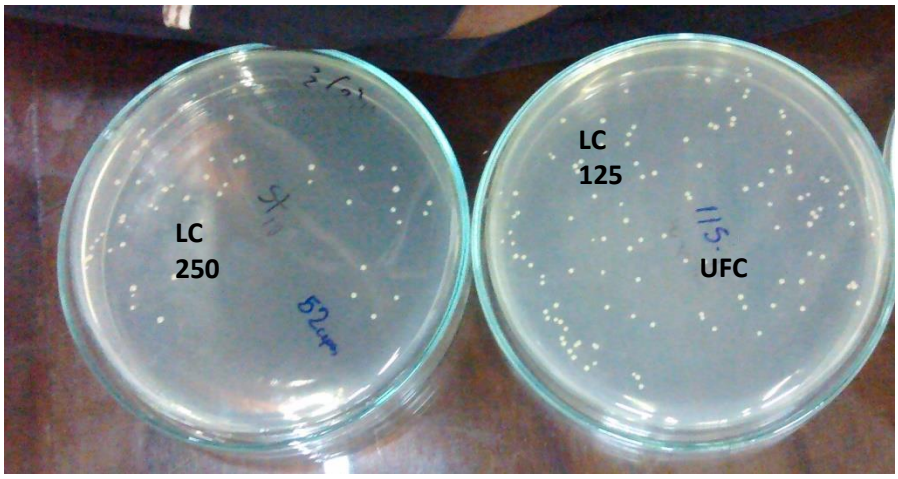
ANEXO 8: SEMBRADO DEL INÓCULO DEL TUBO EN EL CUAL NO HUBO CRECIMIENTO BACTERIANO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CBM



ANEXO 9: RECUENTO DE COLONIAS AISLADAS - CBM

***Couma macrocarpa* "leche caspi"**




LC
250
LC
125
UFC