

**UNIVERSIDAD SAN PEDRO**  
**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**  
**PROGRAMA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Efecto antimicrobiano in vitro del látex de *Synadenium grantii*,  
frente a *Escherichia coli*, Sullana - 2018**

**Tesis para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico**

**Autor:**

**Cavero Alvia, Azucena Stefany**

**Asesor:**

**Sánchez Moreno, Edwin George**

**Sullana – Perú**

**2018**

## INDICE GENERAL

	<b>Pag.</b>
<b>TEMAS</b>	
<b>E GENERAL</b>	<b>i</b>
<b>INDICE DE TABLAS</b>	<b>ii</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS</b>	<b>iii</b>
<b>PALABRAS CLAVES</b>	<b>iv</b>
<b>TITULO</b>	<b>v</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>viii</b>
<b>I INTRODUCCION</b>	<b>1</b>
<b>II METODOLOGIA Y MATERIALES</b>	<b>31</b>
<b>III RESULTADOS</b>	<b>35</b>
<b>IV ANALISIS Y DISCUSION DE LOS RESULTADOS</b>	<b>45</b>
<b>V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>47</b>
<b>VI AGRADECIMIENTO</b>	<b>49</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tablas</b>	<b>Pag.</b>
N° 01: Efecto Antimicrobiano Al 100 Látex	35
N° 02: Efecto Antimicrobiano Al 75% Látex	36
N° 03: Efecto Antimicrobiano Al 50% Látex	37
N° 04: Efecto Antimicrobiano Al 25% Látex	38
N° 05: Efecto Antimicrobiano Al 100% De Ciprofloxacino	39
N° 06: Efecto Antimicrobiano Al 75% De Ciprofloxacino	40
N° 07: Efecto Antimicrobiano Al 50% De Ciprofloxacino	41
N° 08: Efecto Antimicrobiano Al 25% De Ciprofloxacino	42
N° 09: Resumen Comparativo Antimicrobiano Entre El Látex De S. Grantii y El Medicamento Ciprofloxacino	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figuras</b>	<b>Pag.</b>
N° 01: Efecto Antimicrobiano Al 100 Látex	35
N° 02: Efecto Antimicrobiano Al 75% Látex	36
N° 03: Efecto Antimicrobiano Al 50% Látex	37
N° 04: Efecto Antimicrobiano Al 25% Látex	38
N° 05: Efecto Antimicrobiano Al 100% De Ciprofloxacino	39
N° 06: Efecto Antimicrobiano Al 75% De Ciprofloxacino	40
N° 07: Efecto Antimicrobiano Al 50% De Ciprofloxacino	41
N° 08: Efecto Antimicrobiano Al 25% De Ciprofloxacino	42
N° 09: Resumen Comparativo Antimicrobiano Entre El Látex De S. Grantii y El Medicamento Ciprofloxacino	43

## **PALABRAS CLAVE**

- ▯ Látex.
- ▯ *Synadenium grantii*.
- ▯ Antimicrobiano.
- ▯ *Escherichia coli*

## **KEYWORDS**

- ▯ Látex.
- ▯ *Synadenium grantii*.
- ▯ Antimicrobial.
- ▯ *Escherichia coli*

## **LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

Farmacia clínica y comunitaria

## **DISCIPLINA (OCDE)**

Ciencias del cuidado de la salud y servicios

**Efecto antimicrobiano in vitro del látex de *Synadenium grantii*, frente a *Escherichia. coli*, Sullana – 2018**

## RESUMEN

El presente proyecto de estudio titulado “Efecto antimicrobiano in vitro del látex de *Synadenium grantii*, frente a *Escherichia. coli*, Sullana – 2018”, tuvo como objetivo determinar el efecto antimicrobiano in vitro en tres concentraciones del látex de *Synadenium grantii* frente a *Escherichia, coli*; fue un estudio de tipo Analítico, Prospectivo; con un diseño Experimental, con Grupo Control, Longitudinal, Descriptiva. La población de estudio estuvo conformada por las placas inoculadas con cepa de *Escherichia coli*; teniendo como unidad de estudio o análisis a cada placa Petri que contiene el medio de cultivo con las cepas de los microorganismos y la concentración del látex de *Synadenium grantii*. Para la recolección de los datos se empleó las técnicas de la Observación, con sus instrumentos, una Ficha Técnica de análisis bibliográfico y una Ficha Técnica de Laboratorio; ambas fichas, contienen ítems que registraron la información relevante con los cuales se llegó con éxito al término del presente estudio. Los datos recogidos fueron analizados y procesados a través de tablas de tabulación, tablas de frecuencia y gráficos estadísticos, haciendo usos del paquete informático Excel 2013. Analizados y discutidos los resultados se concluye que el látex de *Synadenium grantii* tiene efecto antimicrobiano frente a cultivos de *Escherichia coli* ATCC 25922. .

**Palabras Clave:** Látex, *Synadenium grantii*. Antimicrobiano y *Escherichia. coli*

## ABSTRACT

The present study project entitled "In vitro antimicrobial effect of *Synadenium grantii* latex, against *Escherichia coli*, Sullana - 2018 ", aimed to determine the antimicrobial effect in vitro in three concentrations of *Synadenium grantii* latex against *Escherichia coli*; it was a study of Analytical, Prospective type; with an experimental, design with control group, longitudinal, descriptive. The study population consisted of plates inoculated with *Escherichia coli* strain; having as a unit of study or analysis each Petri plate containing the culture medium with the strains of the microorganisms and the concentration of the *Synadenium grantii* latex. For the collection of the data the techniques of the Observation were used, with its instruments, a Technical File of Bibliographic Analysis and a Technical File of Laboratory; both files contain items that recorded the relevant information with which it was successfully reached at the end of this study. The collected data were analyzed and processed through tabulation tables, frequency tables and statistical graphs, making use of the Excel 2013 computer package. Analyzed and discussed the results it is concluded that *Synadenium grantii* latex has antimicrobial effect against cultures of *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Keywords:** Latex, *Synadenium grantii*, Antimicrobial and *Escherichia.coli*.



## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el uso de antibióticos sin prescripción médica o por la automedicación ha generado la llamada resistencia a los antibióticos causando una gran preocupación en los laboratorios farmacéuticos llamándolos a probar nuevas alternativas para el tratamiento de diferentes infecciones. La resistencia a los antibióticos se produce cuando las bacterias mutan en respuesta al uso de estos fármacos.

Son las bacterias, y no los seres humanos ni los animales, las que se vuelven resistentes a los antibióticos. Estas bacterias farmacoresistentes pueden causar infecciones en el ser humano y en los animales y esas infecciones son más difíciles de tratar que las no resistentes.

La resistencia a los antibióticos hace que se incrementen los costos médicos, que se prolonguen las estancias hospitalarias y que aumente la mortalidad. Es por ello que ante esta crisis se deben tomar nuevas medidas para reducir el problema de farmacoresistencia y a la vez ayudar a familias con poco acceso a estos antibióticos a contar con una opción de medicina alternativa para tratar las dolencias que se puedan presentar.

El Perú no es ajeno a enfermedades causadas por microorganismos, es así que desde épocas milenarias el poblador peruano ha hecho uso de plantas medicinales en el tratamiento de dichas enfermedades, trasladándose ese conocimiento de generación en generación.

En este sentido podemos decir que existen plantas medicinales que presentan efectos fisiológicos múltiples, debido a que poseen más de un principio activo que actúan inhibiendo el crecimiento de microorganismos generando así un gran interés por parte de los investigadores en estudiar las sustancias naturales que posean propiedades antimicrobianas, tal como *Synadenium grantii* (planta de la

vida) que es de fácil cultivación para la población, también debido a que actualmente los microorganismos patógenos están siendo resistentes a los antibióticos de uso común dentro de estos microorganismos se encuentra E. coli,; por eso se dirige los estudios a utilizar productos naturales como métodos alternativos.

## 1.1. Antecedentes y Fundamentación Científica

### 1.1.1. Antecedentes de la Investigación

Al realizar una revisión exhaustiva en los centros de información científica, se encontró antecedentes de relevancia a las variables estudiada, así tenemos a:

Centurión, (2015) en su tesis “*Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de Caesalpinia spinosa (tara) frente a Streptococcus mutans ATCC 35668*”, donde el objetivo fue determinar el efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de Caesalpinia spinosa (tara) frente a Streptococcus mutans ATCC 35668. Fue una investigación de tipo Prospectivo, Comparativo de corte Transversal y su diseño fue Experimental. La muestra de estudio estuvo conformada por 64 observaciones, distribuidas en 4 grupos de 4 placas Petri cada uno, en cada placa se colocó el porcentaje de concentración de estudio, frente a tres controles: control positivo (Clorhexidina al 0.12%), control negativo (Etanol) y un porcentaje de concentración similar (para comparación). La presente investigación concluye que:

- El extracto etanólico de Caesalpinia Spinosa (Tara) posee efecto antibacteriano in vitro sobre el Streptococcus mutans ATCC 35668.
- El extracto etanólico de las vainas de C.Spinosa a las concentraciones de 5%, 10%, 20% y 30% tienen efecto antibacteriano sobre el Streptococcus mutans ATCC 35668.
- La concentración Mínima Inhibitoria de C.Spinosa fue del 30% sobre el Streptococcus mutans ATCC 35668.
- Se demostró en este estudio que la *C. Spinosa* podría ser una opción de tratamiento natural para prevenir la caries dental.

Cosco, (2010), en su tesis “*Actividad inhibitoria del crecimiento de Streptococcus mutans y de flora mixta salival por acción del aceite esencial de la Matricaria chamomilla manzanilla*”, donde el objetivo fue determinar la actividad inhibitoria del crecimiento de flora mixta salival, cepas aisladas del

grupo mutans de la flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM del aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* “manzanilla” a diferentes concentraciones. Fue una investigación de tipo Cuasi experimental in vitro, prospectivo y transversal. La población estuvo conformada por pacientes de la Clínica de Odontopediatria de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La técnica de muestreo fue no probabilística por conveniencia y estuvo conformada por 15 pacientes de la Clínica de Odontopediatria de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los datos obtenidos permitieron que la investigación concluya:

- Existe un efecto inhibitorio positivo a las concentraciones de 25%, 50% y 100% del aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” en cultivos de flora mixta salival, cepa aislada del grupo mutans de flora mixta salival y cepa patrón de *Streptococcus mutans*.
- Las concentraciones al 25% y 50% del aceite de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” no mostraron diferencias significativas entre ellas, sobre los tres grupos de estudio evaluados.
- Las concentraciones al 100% del aceite de *Matricaria chamomilla* “manzanilla” tiene una diferencia estadísticamente significativa con respecto a las concentraciones de 25% y 50% sobre los tres grupos de estudio evaluados.
- El grupo control de Clorhexidina 0.12% mostró diferencia estadísticamente significativa con respecto a las concentraciones al 25% y 50%, sobre los 3 grupos de estudio evaluados; mientras que con la concentración al 100% solo mostró diferencia estadísticamente significativa en los grupos de flora mixta salival y cepa aislada del grupo mutans de flora mixta salival.
- La concentración al 100% no mostró diferencia estadísticamente significativo con respecto al grupo control de Clorhexidina 0.12%.sobre el grupo cepa patrón *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM.
- La cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC®25175TM fue más sensible al aceite esencial de *Matricaria chamomilla* “manzanilla”, con una

media de 22mm de diámetro en sus halos de inhibición para la concentración al 100%.

➤ El grupo menos sensible a las concentraciones Matricaria chamomilla “manzanilla” fue la flora mixta salival con una media de 9mm de diámetro en sus halos de inhibición para la concentración al 100%.

Benites, (2015), en su tesis “*Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de Caesalpinia spinosa (“TARA”) sobre cepa de Candida albicans ATCC 90028.*”, donde el objetivo fue comparar el efecto antimicrobiano in vitro de cuatro concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* frente a *Candida albicans* ATCC 90028. Se llevó a cabo un estudio de tipo comparativo, longitudinal, prospectivo, experimental. La población estaba conformada por el conjunto de placas inoculadas con las cepas de *Candida albicans*, aplicándoseles el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) observando su efecto antibacteriano para dichas cepas. Los datos obtenidos permitieron que el investigador concluya:

➤ El extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) presenta efecto inhibitorio in vitro frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 90028.

➤ El efecto inhibitorio varía al utilizar el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* a diferentes concentraciones, y este efecto se incrementa en relación directamente proporcional a las concentraciones utilizadas en el estudio.

➤ La concentración inhibitoria mínima in vitro fue de 50 % para el extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* frente a las cepas de *Candida albicans* utilizadas en el presente estudio.

Ocares, (2012), en su tesis “*Acción antimicrobiana de extractos crudos de especies de plantas nativas sobre Escherichia coli y Salmonella spp*”. El objetivo fue evaluar la actividad antimicrobiana de extractos crudos de especies de plantas nativas, sobre *Escherichia coli* y *Salmonella spp*. Fue una investigación de tipo Experimental. Los datos obtenidos permitieron que el investigador concluya:

- Los extractos metanólicos de hoja de Lingue (*Persea lingue*), Ñirre (*Nothofagus antártica*), Luma (*Amomyrtus luma*), Picha (*Myrceugenia planipes*) y Meli (*Amomyrtus meli*) presentaron actividad antimicrobiana frente a todas las cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella* utilizados en este estudio. Los extractos metanólicos de Radal y Notro, sólo presentaron actividad antimicrobiana frente a *S. Typhimurium* ATCC 14028.
- Los extractos clorofórmicos de las 13 especies vegetales evaluadas mostraron nula actividad frente a las cepas de *E. coli* y *Salmonella*, debido a la baja capacidad de arrastre de compuestos bioactivos de este solvente o a la poca cantidad de compuestos apolares en las especies vegetales evaluadas.
- El pH ácido que presentaron los 28 extractos no arrojó efectos significativos en la inhibición del crecimiento de los distintos microorganismos.
- Los tres extractos que presentaron mayor efecto antimicrobiano en la prueba de inhibición en placa fueron los extractos metanólicos de las especies de Lingue (*Persea lingue*), Ñirre (*Nothofagus antártica*) y Picha (*Myrceugenia planipes*).
- Mediante la prueba de inhibición en caldo, se pudo observar que los tres extractos presentaron un efecto bactericida frente a todas las cepas utilizadas en este estudio.
- El extracto metanólicos de Picha presentó el más amplio y rápido efecto bactericida, obteniendo a las 6 horas de incubación una completa inhibición de la cepa *E. coli* ATCC 8939 y a las 8 horas de las cepas *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* enteropatógena (ECEP), *Salmonella* ATCC 14028 y *Salmonella* ATCC 9270.

Chávez, (2013), en su estudio titulado “*Efecto antimicrobiano del látex de *Jatropha curcas* frente a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA)*”. El objetivo fue el de demostrar el Efecto antimicrobiano del látex de *Jatropha curcas* frente a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA). Los datos obtenidos permitieron que la investigadora concluya:

➤ Las fracciones cetónica, metanólica y etanólica del látex de *Jatropha curcas* presentaron una actividad antimicrobiana selectiva importante frente al género de *Staphylococcus spp*, la investigación se centró principalmente a la especie de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, los ensayos de citotoxicidad en un modelo con *Artemia salina* y la concentración mínima inhibitoria no funcionaron debido a que la fracción FM003 precipita con los medios líquidos y la técnica con discos no permite la liberación de los compuestos bioactivos hacia los medios líquidos, efecto que no ocurrió cuando se midió la actividad antimicrobiana (medios sólidos) a través de la técnica de Kirby Bauer. Los ensayos con espectrometría de masas demostraron que la fracción FM003 presenta una estructura denominada Amodiaquina, es necesario repetir este ensayo con todas las condiciones requeridas para la identificación de moléculas específicas. La selectiva antimicrobiana y la robustez de los compuestos bioactivos del látex de *J. curcas* deben ser tomadas en cuenta para considerar a *Jatropha curcas* como un posible candidato para la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas frente MRSA.

Miranda, (2015), en su tesis “*Estudio fitoquímico, y evaluación de la actividad citotóxica y antimicrobiana in vitro del látex de euphorbia laurifolia en patógenos dérmicos*”. El objetivo fue el de realizar el estudio fitoquímico y la evaluación de la actividad citotóxica y antimicrobiana in vitro del látex de *E. laurifolia* en patógenos dérmicos. Los datos obtenidos permitieron que la investigadora concluya:

➤ Se desarrolló un perfil cromatográfico de la presencia de posibles compuestos terpénicos en la fracción hexánica del látex de *E. laurifolia*. Mediante la aplicación de cromatografía en capa fina se identificó que en el extracto hexánico se encuentra compuestos con Rf: 0,24; 0,36; 0,53; 0,61; 0,73; 0,87; 0,96.

➤ En el extracto etéreo se visualizó mayor cantidad de componentes con Rf: 0,24; 0,33; 0,36; 0,50; 0,53; 0,56; 0,58; 0,62; 0,66; 0,70; 0,75; 0,87; 0,96. Por otro lado, al utilizar como fase móvil tolueno y acetato de etilo, se reveló

compuestos con Rf: 0,24; 0,40; 0,53; 0,81. 2. El extracto hexánico del látex de *E. laurifolia* presenta actividad citotóxica sobre *A. salina*, ya que se determinó que la concentración a la que el 50% de las larvas mueren dentro de las 24 h de contacto con las diluciones utilizadas es de 214,5 ppm.

➤ El extracto hexánico del látex de *E. laurifolia* carece de actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Candida albicans*; al emplear el método de difusión en disco, método de mitscher, y el método de Inhibición antibacteriana según Yan, J. y Cheng, J., 2003.

Soto, (2015), en su estudio titulado “Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby (Asteraceae)”. El objetivo de la investigación fue el de evaluar el efecto antibacteriano in vitro de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby. Al analizar y discutir sus resultados, la investigadora concluye:

- Se obtuvo el extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby.
- Se realizó el estudio fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby, siendo los hallazgos flavonoides, saponinas esteroidales, y alcaloides no encontrando antraquinonas
- Se elaboró un gel antibacteriano, que cumplió con características físicas y organolépticas aceptables con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby a concentraciones de 12,5 y 25 mg/ml.
- Se determinó el efecto antibacteriano in vitro del gel formulado.

### **1.1.2. Fundamentación Científica**

Las teorías y conceptos científicas que dan soporte al presente estudio, están dadas por:



Centurión, (2015), cita a Brooks, G., Batel, J. y More, S. (1999), quienes definen el **Efecto Antibacteriano** como la destrucción o impedimento del desarrollo de las bacterias a través del uso de diferentes químicos.

Al hablar sobre los **Microorganismos Patógenos**, Ocares, (2012), señala que la transmisión de enfermedades a través del consumo de alimentos es un fenómeno ya conocido en todo el mundo, se ha constatado el aumento de su frecuencia, cambios en las etiologías predominantes y en la dinámica epidemiológica. De este modo, se han producido fenómenos mundiales tales como la reaparición del cólera epidémico en las Américas, el aumento de la frecuencia de *Salmonella enteritidis* vinculada al consumo de aves y huevos y la aparición de otros agentes en la transmisión a través de los alimentos como son *E. coli* 0157:H7 y *L. monocytogenes*. Es por esto que el Comité de Expertos de la OMS ha planteado que la mayoría de las enfermedades transmitidas por alimentos de origen microbiano son causadas principalmente por patógenos como: *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella*, *S. aureus* y *Toxoplasmodium gondii* (Burt, 2004. Citado por Ocares, M. 2012).

Ocares, (2012), señala que ***Escherichia coli***, es una bacteria que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, género Escherichia, es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, no formador de esporas que está presente en el intestino de los animales y del hombre, así como también en suelos.

***Escherichia coli***, fue inicialmente descrito por Theodor Escherichia en 1885 con el nombre de *Bacterium coli*, tras aislarlo a partir de muestras fecales procedentes de niños con enteritis (Jawetz *et al.*, 2008. Citado por Ocares, M. 2012). Las infecciones por *E. coli* en humanos se transmite directamente de los animales, por contacto persona a persona, por alimentos y aguas contaminadas (Bell, 2002. Citado por Ocares, 2012). La presencia de esta bacteria en alimentos indica contaminación de origen fecal, razón por la cual es usado como un indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos en agua, leche y otros productos (Jay, 2000, citado

por Ocares, 2012). Cepas de *E. coli* enteropatógena se ha convertido en la actualidad, en uno de los tipos de bacteria de mayor preocupación en la industria alimenticia, ya que se le ha catalogado como uno de los principales agentes causales de epidemias por contaminación de alimentos, provocando en los seres humanos severos trastornos gastrointestinales, principalmente en niños y ancianos (Carey *et al.*, 2008).

Los representantes de esta especie son bacilos gramnegativos, oxidasa negativos, con un tamaño promedio de 1,1-1,5  $\mu\text{m}$  de ancho y 2,0-6,0  $\mu\text{m}$  de largo. De acuerdo a sus requerimientos de oxígeno son anaerobios facultativos y pueden ser móviles por la presencia de flagelos peritricos o no móviles (Scheutz y Strockbine, 2005. Citados por Romeu, 2012).

Scheutz (2005). Citado por Romeu, (2012) señala que, desde el punto de vista taxonómico su clasificación es la siguiente:

- ✓ **Phylum** Proteobacteria.
- ✓ **Clase** Gammaproteobacteria.
- ✓ **Orden** Enterobacteriales.
- ✓ **Familia** Enterobacteriaceae.
- ✓ **Género** *Echerichia*.
- ✓ **Especie** *Echerichia coli*

Además de ello, Romeu, (2012), comenta que, *E. coli* forma parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal (TGI) del ser humano, otros mamíferos y las aves y constituye una de las especies bacterianas más abundantes en esta localización.

*Escherichia coli* se considera el microorganismo indicador de contaminación fecal por excelencia (Edberg *et al.*, 2000. Citado por Romeu, 2012). Por esta razón, la cuantificación de *E. coli* en cuerpos de agua de ambientes tropicales como principal representante del grupo de coliformes termo tolerantes ha cobrado importancia en la última década (Romeu, 2012).

Por ello, Romeu, (2012), hace mención a lo dicho por Ishii y Sadowski (2008), quienes señalan que, es necesario tomar en consideración que aunque *E. coli* se ha considerado el indicador de contaminación fecal por excelencia, dentro de la especie se han descrito grupos patógenos capaces de causar enfermedades intestinales y extraintestinales en el ser humano y los animales, que no se tienen en cuenta cuando se realizan análisis de calidad microbiológica de las aguas.

Romeu, (2012), hace mención de que se distinguen dos grandes grupos de *E. coli* patógenas según el tipo de infección que provocan. Un **primer grupo** está constituido por las cepas de *Escherichia coli* responsables de infecciones extraintestinales (tracto urinario, sepsis y meningitis neonatal) y un **segundo grupo** constituido por cepas patógenas intestinales, responsables de un elevado número de infecciones gastrointestinales.

En base a los síndromes y características de la enfermedad en humanos, las cepas de *E. coli* se han clasificado en cinco grupos de virulencia (Jay, 2000. Citado por Ocares, M. 2012):

- ▣ *E. coli* enteropatógena clásicos (ECEP).
- ▣ *E. coli* enterotoxigénicos (ECET).
- ▣ *E. coli* verotoxigénicos (ECVT)
- ▣ *E. coli* enteroinvasivo (ECEI)
- ▣ *E. coli* entero hemorrágicos (ECEH)

***E. coli* Enteropatógenos Clásicos (ECEP):** Estas cepas se pegan a las vellosidades intestinales impidiendo los mecanismos de absorción y secreción. Este efecto se caracteriza por la destrucción de las micro vellosidades y por una adherencia destructiva a la membrana de las células epiteliales (Rodríguez, 2005. Citado por Ocares, M. 2012).

***E. coli* Enterotoxigénicos (ECET) :** La ECET es considerada como la más importante causa de la “diarrea del viajero”. Estas cepas colonizan el epitelio

intestinal produciendo una diarrea acuosa. Los ECET poseen mecanismos de adhesión que les permiten colonizar la superficie de la mucosa del intestino delgado, soportando el peristaltismo intestinal (Rodríguez, 2005. Citado por Ocares, M. 2012).

***E. coli* verotoxigénicos (ECVT):** Su descubrimiento se produjo al observar que ciertas cepas de *E. coli* producían un efecto citopático irreversible en las células de la línea celular Vero. Algunas de las complicaciones de la infección por *E. coli* productora de verotoxinas son falla renal, disminución de plaquetas y anemia. Afecta a todas las edades, sin embargo, la mayor tasa de incidencia se registra en menores de 5 años (Rodríguez, 2005. Citado por Ocares, M. 2012).

***E. coli* entero hemorrágicos (ECEH):** Estas cepas se identificaron en 1982 en Estados Unidos, donde ocasionaron brotes en varios Estados, desde entonces se han descrito epidemias en diversos países del mundo. El agente etiológico principal es *E. coli* O157:H7, aunque intervienen otros. Presenta un cuadro diarreico con deposiciones acuosas y sanguinolentas, sin leucocitos en las heces, lo cual establece la diferencia con la shigelosis y la disentería causada por *E. coli* enteroinvasivo. En algunos casos se presenta síndrome urémico hemolítico y de púrpura trombocitopenia trombótica. El modo de transmisión puede darse por alimentos contaminados, principalmente por carne de res poco cocida. También se puede transmitir por leche cruda, carne molida sin una adecuada manipulación y un buen grado de cocción. Se han vinculado brotes por agua sin desinfección y más recientemente han sido detectados casos implicados a alimentos como frutas, hortalizas, zumos, yogur, etc. (Rodríguez, 2005. Citado por Ocares, M. 2012).

***E. coli* enteroinvasivo (ECEI):** Los serotipos pertenecientes a este grupo causan una diarrea similar a la causada por *Shigella dysenteriae*. Consiste en una diarrea febril inflamatoria, con leucocitos y glóbulos de pus, lo cual la diferencia de una diarrea por cólera o por la causada por *E. coli* enterotóxica. Los ECEI

tienen la capacidad de invadir las células epiteliales del colon, proliferar y causar necrosis (inflamación y ulceración de la mucosa) del tejido del colon y del tejido epitelial, lo que da como resultado final una diarrea sanguinolenta con fiebre (Rodríguez, 2005. Citado por Ocares, M. 2012).

La contaminación de alimentos por estas cepas de patógenos entéricos son una causa importante de enfermedades diarreicas en los países en vías de desarrollo que resulta en altos índices de morbilidad, mortalidad y pérdidas económicas significativas. *E. coli* enteropatógena (EPEC) es una causa importante de diarrea infantil en estos países y es responsable de brotes esporádicos en países desarrollados. EPEC se ha aislado de una gran variedad de alimentos tales como carne, mariscos, verduras, frutas, leche y en especial de productos lácteos. La sustitución de la lactancia materna para la alimentación con leche de vaca, que es un alimento barato y popular, aumenta considerablemente el riesgo de contraer diarrea por EPEC, especialmente para los bebés menores de 6 meses de edad (Carneiro *et al.*, 2006. Citado por Ocares, 2012).

Soto, (2015), señala que el Efecto antimicrobiano en las Plantas, viene a ser el empleo de partes vegetales con la finalidad de obtener efectos terapéuticos, entre las variadas aplicaciones terapéuticas de los vegetales se incluye la acción antibacteriana. Estos efectos en muchos casos han sido respaldados por estudios científicos, los hallazgos obtenidos del estudio de vegetales con potencial terapéutico podrán servir de apoyo médico-social para un mayor grupo poblacional, principalmente el más carente, estando también la industria farmacéutica más interesada en los conocimientos de esta área. Además de ello Soto, indica que nuevas fuentes de productos antimicrobianos, especialmente vegetales, están siendo investigadas, de otra parte el público hoy en día tiene más problemas con la auto prescripción y mal uso de antibióticos tradicionales lo cual genera una alta resistencia bacteriana; además se tiene más interés en tener autonomía sobre el cuidado médico, es por ello que una multitud de componentes vegetales se encuentra fácilmente disponible a través de los comercializadores

de plantas y productos naturales, tiendas naturistas, con lo que la automedicación con estas sustancias se hace cada vez más común. El uso de extractos de plantas, como también de otras formas alternativas de tratamientos médicos, tomó gran popularidad a finales de la década de 1990. Los compuestos fitoquímicos antimicrobianos son:

▣ **Flavonas, Flavonoides y Flavonoles:** Son estructuras fenólicas que contienen un solo grupo carbonilo; estos compuestos son sintetizados por las plantas en respuesta a la infección microbiana y su actividad sobre las bacterias probablemente se deba a su capacidad de generar complejos con proteínas extracelulares y proteínas solubles, así como una actividad sobre la pared celular, muy similar a la de las quinonas. Los flavonoides lipofílicos pueden perturbar la integridad estructural de la membrana celular.

▣ **Terpenoides y Aceites Esenciales:** Los terpenos o terpenoides son activos contra bacterias, virus, hongos y protozoarios. Se ha reportado que los terpenoides actúan contra *Listeria monocytogenes*. Se cree que esta actividad antimicrobiana se debe a una perturbación de la estructura de la membrana celular por su naturaleza lipofílicos (Araujo, J. 2008. Citado por Soto, M. 2015).

▣ **Alcaloides:** Reciben esta denominación los compuestos nitrogenados heterocíclicos, pertenecen a este grupo sustancias como la morfina, la heroína y la cocaína. El mecanismo de acción de los alcaloides parece ser mediante intercalación entre la pared celular y el DNA del microorganismo

▣ **Isoflavonoides:** Actúan como efectivas fitoalexinas, las cuales pueden ser definidas como compuestos antimicrobianos de pequeño peso molecular o metabolitos de estrés biológico, ellos pueden ser constitutivos o también ser inducidos por ataque biológico o heridas. Los constituyentes varían entre especies y también varían dependiendo la edad y el ambiente en el que se encuentra la planta. Estos flavonoides inhiben la germinación de esporas de hongos y causan daño en los sistemas de membranas. El recubrimiento de algunas semillas y algunas resinas de árboles son particularmente ricas en flavonoides antimicrobianos (Lizcano, A. 2008. Citado por Soto, M. 2015).

▣ **Esteroides y triterpenoides:** Los compuestos esteroidales pueden interferir determinados procesos de síntesis vitales en la célula bacteriana y los triterpenos; por su parte, pueden actuar siguiendo diversos mecanismos en dependencia de su naturaleza química; los de naturaleza hidrocarbúrica, por ejemplo; tienen generalmente acción depresora sobre la tensión superficial lo cual, cuando tiene lugar en el entorno de la célula bacteriana, altera la selectividad de la membrana citoplasmática para el intercambio de sustancias. Los triterpenos de naturaleza alcohólica pueden alterar la naturaleza coloidal del protoplasma de la célula provocando su muerte (Lizcano, A. 2008. Citado por Soto, M. 2015)

**La Planta de la Vida**, según Grandéz, G. (2010), es una planta cuya taxonomía es:

- ✓ Nombre Científico: *Synadenium grantii* Hook.
- ✓ Sinónimos: *Euphorbia pseudograntii*, *Synadenium umbellatum*.
- ✓ Variedades: *Synadenium grantii* 'Rubra'.
- ✓ Nombre Común: Lechero africano, planta de la vida, planta milagrosa, cura-cáncer, cura todo, gota cola, planta de resurrección, planta de sanación planta de la salvación y planta divina.
- ✓ Clasificación:
  - Familia: Euphorbiaceae.
  - Género: *Synadenium*.
  - Especie: *Synadenium grantii*.
- ✓ Origen: África Tropical, Sudáfrica.

Grandéz, G. (2010), señala las características esenciales de *S. grantii*, indicando que:

▣ **Elementos Fotoquímicos**

- la **Látex:** es una sustancia lechosa y fluida, la planta contiene abundante látex de color blanco, que es la sustancia que cura muchísima enfermedades; el látex puro es irritante si se aplica en zonas sensibles del cuerpo, lo que no ocurre

lo mismo en la mano pudiéndose manipular la sustancia sin ningún cuidado y protección.

Para suministrar esta sustancia vía oral a pacientes enfermos de cáncer o de cualquier otra enfermedad, actualmente se viene trabajando dos presentaciones, una es, la que denominamos el agua medicinal, la otra es capsulas; mientras que para tratamientos externo están las cremas de la hoja.

➤ **Productos Químicos de la Planta:** El *S. grantii*, es rico en alcaloide, diterpenos, triterpenos, glúcidos, flavonoides, esteroides y lípidos. El látex contiene un grupo de productos químicos llamados bufadienolides, que son muy similares en estructura y actividad como los otros glucósidos, digoxin y digitoxin cardiaco (drogas usadas para el tratamiento clínico del para cardiaco congestivo).

Las bufadienolides de *S. grantii*, han demostrado en la investigación clínica poseer el antibacteriano, el preventivo del cáncer, antitumores y acciones insecticidas.

➤ **Principios Activos**

**Phorbol:** es un compuesto orgánico natural de la familia del tigliane de diterpenos, se utiliza como herramienta biomédica de la investigación en modelos de la carcinogénesis.

Tiene la capacidad de actuar en tumores con configuración de neoplasia maligna y atenuar la proliferación de células neoplásicas del complejo tuberoso de la esclerosis.

**Ethanolic:** Es un éster que tiene acción cardiovascular, regula la presión arterial controlando la bradicardia en dosis bajas de (0.1-0.4 mg/kg) para una subida leve sostenida de la presión arterial acompañada por diuresis; y en dosis más alta de (0.6-1mg/kg) para una caída sostenida de la presión y reducción de la diuresis, restaurando la presión arterial y suprimiendo la bradicardia.



**Los Bufadienolides:** Es un grupo de sustancias químicas que son muy activos, han demostrado en la investigación clínica, poseer el antibacteriano, el preventivo antitumores del cáncer y acciones insecticidas.

**Amino Butyric Gamma:** Es un ácido que tiene acciones sedantes, actuando en el sistema nervioso sedativo y central, aumentando los niveles de un neurotransmisor en el cerebro.

Grandéz, G. (2010), señala las propiedades de *S. grantii*, indicando que tienen: **Propiedades asépticas y Fitoparasitarias**, e látex de la planta milagrosa es un poderoso bactericida, antiviral y anti hongos, es una sustancia utilizable en la desinfección de objetos, servicios higiénicos, manos entre otros, porque tiene el gran poder de eliminar todo tipo de microorganismos parásitos y patógenos; por eso también se utiliza para purificar el agua que se va a beber.

El látex de *Synadenium grantii* para el presente estudio, fue extraído de las plantaciones cultivadas en el Jardín Botánico de Plantas Medicinales “Phytotofárma del Chira” de la Universidad San Pedro filial Sullana.

Al hablar sobre **Medios de Cultivos** para microorganismos, Olivas, E. (2012), señala que los **medios de cultivo**, son soluciones que contienen los nutrientes necesarios para cultivar microorganismos, tales como bacterias, hongos y otros. Los microorganismos no pueden estudiarse individualmente debido a su tamaño tan pequeño, por lo que sólo pueden ser estudiados en poblaciones. Para ello es necesario cultivarlos en medios artificiales.

Además de ello, Olivas, E. (2012), informa que los medios de cultivo para los microorganismos pueden ser sólidos, líquidos o semisólidos. Los medios líquidos se pueden transformar en sólidos al adicionarles agar, gelatina o gel de sílice. Al disminuir la cantidad del agente solidificante, se obtiene el medio semisólido.

Además de ello Casado, C., Torrico, G., Medina, M. (2012) señalan que el desarrollo adecuado de los microorganismos en un medio de cultivo se ve afectado por una serie de factores de gran importancia y que, en algunos casos, son ajenos por completo al propio medio. Y estos factores son:

□ Disponibilidad de nutrientes adecuados: Un medio de cultivo adecuado para la investigación microbiológica ha de contener, como mínimo, carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas. En muchos casos serán necesarias ciertas vitaminas y otras sustancias inductoras del crecimiento. Siempre han de estar presentes las sustancias adecuadas para ejercer de donantes o captadores de electrones para las reacciones químicas que tengan lugar.

Todas estas sustancias se suministraban originalmente en forma de infusiones de carne, extractos de carne o extractos de levadura. Sin embargo, la preparación de estas sustancias para su aplicación a los medios de cultivo provocaba la pérdida de los factores nutritivos lábiles. Actualmente, la forma más extendida de aportar estas sustancias a los medios es utilizar peptona que, además, representa una fuente fácilmente asequible de nitrógeno y carbón ya que la mayoría de los microorganismos, que no suelen utilizar directamente las proteínas naturales, tienen capacidad de atacar los aminoácidos y otros compuestos más simples de nitrógeno presentes en la peptona.

Ciertas bacterias tienen necesidades nutritivas específicas por lo que se añade a muchos medios sustancias como suero, sangre, líquido ascítico, etc. Igualmente pueden ser necesarios ciertos carbohidratos y sales minerales como las de calcio, magnesio, sodio o potasio y sustancias promotoras del crecimiento, generalmente de naturaleza vitamínica. Muy a menudo se añaden al medio de cultivo ciertos colorantes, bien como indicadores de ciertas actividades metabólicas o bien por sus capacidades de ejercer de inhibidores selectivos de ciertos microorganismos.

□ Consistencia adecuada del medio: Partiendo de un medio líquido podemos modificar su consistencia añadiendo productos como albúmina, gelatina o agar, con lo que obtendríamos medios en estado semisólido o sólido. Los medios solidificados con gelatina tienen el gran inconveniente de que muchos microorganismos no se desarrollan adecuadamente a temperaturas inferiores al punto de fusión de este solidificante y de que otros tienen la capacidad de licuarla. Actualmente los medios sólidos son de uso universal, por su versatilidad y comodidad, pero hay también gran cantidad de medios líquidos cuyo uso está ampliamente extendido en el laboratorio.

□ Presencia (o ausencia) de oxígeno y otros gases: Gran cantidad de bacterias pueden crecer en una atmósfera con tensión de oxígeno normal. Algunas pueden obtener el oxígeno directamente de variados sustratos. Pero los microorganismos anaerobios estrictos sólo se desarrollarán adecuadamente en una atmósfera sin oxígeno ambiental. En un punto intermedio, los microorganismos microaerófilos crecen mejor en condiciones atmosféricas parcialmente anaerobias (tensión de oxígeno muy reducida), mientras los anaerobios facultativos tienen un metabolismo capaz de adaptarse a cualquiera de las citadas condiciones.

□ Condiciones adecuadas de humedad: Un nivel mínimo de humedad, tanto en el medio como en la atmósfera, es imprescindible para un buen desarrollo de las células vegetativas microbianas en los cultivos. Hay que prever el mantenimiento de estas condiciones mínimas en las estufas de cultivo a 35-37°C proporcionando una fuente adecuada de agua que mantenga la humedad necesaria para el crecimiento de los cultivos y evitar así que se deseeque el medio.

□ Luz ambiental: La mayoría de los microorganismos crecen mucho mejor en la oscuridad que en presencia de luz solar. Hay excepciones evidentes como sería el caso de los microorganismos fotosintéticos.

□ PH: La concentración de iones hidrógeno es muy importante para el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de ellos se desarrollan mejor en

medios con un pH neutro, aunque los hay que requieren medios más o menos ácidos. No se debe olvidar que la presencia de ácidos o bases en cantidades que no impiden el crecimiento bacteriano pueden sin embargo inhibirlo o incluso alterar sus procesos metabólicos normales.

□ Temperatura: Los microorganismos mesófilos crecen de forma óptima a temperaturas entre 15 y 43°C. Otros como los psicrófilos crecen a 0°C y los termófilos a 80°C o incluso a temperaturas superiores (hipertemófilos). En líneas generales, los patógenos humanos crecen en rangos de temperatura mucho más cortos, alrededor de 37°C, y los saprofitos tienen rangos más amplios.

□ Esterilidad del medio: Todos los medios de cultivo han de estar perfectamente estériles para evitar la de formas de vida que puedan alterar, enmascarar o incluso impedir el crecimiento microbiano normal del o de los especímenes inoculados en dichos medios. El sistema clásico para esterilizar los medios de cultivo es el autoclave (que utiliza vapor de agua a presión como agente esterilizante)

Los componentes de los medios son muy variados. La elección del medio se basa en el propósito del estudio, por ello Olivas, E. (2012) los clasifica en:

✓ *Medios sintéticos*: se preparan utilizando una composición exacta conocida, generalmente a base de compuestos altamente purificados.

✓ *Medios no sintéticos*: contienen ingredientes de composición imprecisa y pueden ser a base de extracto de carne, adicionados de sangre, suero u otras sustancias complejas.

✓ *Medios selectivos*: impiden el desarrollo de ciertos grupos microbianos y favorecen el desarrollo de otros. Por ejemplo puede omitirse una fuente nitrogenada orgánica, adicionando sólo una inorgánica. Pueden adicionarse ciertas sustancias como telurito de potasio, sulfito de bismuto, y otros. Algunos antibióticos también pueden ser añadidos para inhibir.

✓ *Medios diferenciales*: contienen sustancias nutritivas o indicadores que permiten desarrollar a las bacterias con una apariencia colonial distintiva.

- ✓ *Medios para pruebas de caracterización e identificación de los microorganismos:* están adicionados de sustratos específicos y permiten diferenciar unas especies de otras, con base en su capacidad enzimática específica.
- ✓ *Medios de enriquecimiento:* favorecen la multiplicación y aumento de un cierto grupo de microorganismos. Aquí se combina un medio selectivo y la variación de otros factores como pH, temperatura, iluminación, aereación, una fuente única de carbono, etc.
- ✓ *Medios enriquecidos:* algunas bacterias requieren medios especiales, complejos y sofisticados, ya que son incapaces de crecer en medios comunes.
- ✓ *Medios de mantenimiento:* preservan satisfactoriamente la viabilidad de los organismos, conteniendo concentraciones limitadas de nutrientes.

En este sentido, Olivas, E. (2012) señala que en la actualidad el trabajo requerido en la preparación de medios se ha simplificado, mediante la utilización de medios deshidratados que se obtienen comercialmente en las variedades deseadas. Algo similar a las mezclas deshidratadas para la elaboración de pasteles. Sólo se requiere disolver una cantidad conocida en un volumen medido de agua, repartir en los recipientes necesarios (tubos de ensayo, matraces, frascos) y esterilizar.

Un pequeño grupo de bacterias no se han logrado cultivar en ningún medio de cultivo, hasta la fecha, como *Mycobacterium leprae*, *Treponema pallidum* y las *rickettsias* (Olivas, E. 2012).

Además de todo lo dicho sobre los medios de cultivo, es bueno resaltar lo dicho por Olivas, E. (2012) quien señala que es indispensable la esterilización de los medios antes de usarlos, para eliminar todos los microorganismos presentes en ellos, cuidando que en los recipientes no vuelva a entrar ningún organismo. En esta forma, sólo se cultivarán los organismos deseados. La esterilización es un proceso mediante el cual se destruyen todas las formas de vida. Esterilizar es un término absoluto. Algo está estéril o no lo está, pero nunca está medio estéril.

Existen diferentes técnicas de esterilización para medios de cultivos, Olivas, E. (2012), hace mención a:

✓ **Esterilización con calor:** La temperatura elevada puede inactivar muchas enzimas, desnaturalizar proteínas y como consecuencia la muerte de los microorganismos. El efecto depende de la temperatura y del tiempo de exposición.

➤ **El calor húmedo** en forma de vapor saturado a presión es uno de los agentes más utilizados para la esterilización de medios de cultivo. Con el ambiente húmedo se favorece la penetración más rápidamente del calor a la célula, provocando una coagulación de las proteínas. Comúnmente se usa la autoclave, a 121 ° C, 15 libras de presión, por 15 min.

➤ **El calor seco** (aire caliente) utilizado en los hornos, da lugar a la oxidación de componentes celulares vitales. Es utilizado en materiales generalmente de vidrio, limpios y secos, como cajas de Petri, pipetas, algunos instrumentos quirúrgicos. Puede esterilizarse a 180°C una hora.

✓ **Esterilización por filtración:** El uso de filtros bacteriológicos es útil cuando se requiere esterilizar sustancias termolábiles, como vitaminas, aminoácidos u otras similares. Estas deben ser adicionadas a los medios previamente esterilizados, en condiciones asépticas.

✓ **La incineración:** su uso es limitado, como en la esterilización del asa microbiológica, cadáveres de animales de laboratorio, algunos desechos de hospitales y otros similares.

✓ **Repartición de los medios estériles:** Si los medios esterilizados se van a repartir en cajas de Petri u otros recipientes, éstos deben estar estériles y se debe trabajar dentro del área de esterilidad.

Según Casado, C., Torrico, G., y Medina, M. (2012) nos señalan que los medios de cultivo para el desarrollo de *E. Coli* son los siguientes:

**Agar S.S.:** Medio de cultivo utilizado para el aislamiento de *Salmonella* spp. y de algunas especies de *Shigella* spp. a partir de heces, alimentos y otros materiales en los cuales se sospeche su presencia. Fundamento 17 Es un medio de cultivo selectivo y

diferencial. La selectividad, está dada por la sales biliares y el verde brillante, que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas, de la mayoría de los coliformes y el desarrollo invasor del *Proteus* spp. Es diferencial debido a la fermentación de la lactosa, y a la formación de ácido sulfhídrico a partir del Tiosulfato de sodio. Los pocos microorganismos fermentadores de lactosa capaces de desarrollar, acidifican el medio haciendo virar al rojo el indicador de pH, obteniéndose colonias rosadas o rojas sobre un fondo rojizo. *Salmonella*, *Shigella* y otros microorganismos no fermentadores de lactosa, crecen bien en el medio de cultivo, y producen colonias transparentes. La producción de ácido sulfhídrico se evidencia como colonias con centro negro debido a la formación de sulfuro de hierro. Para aumentar la selectividad, se recomienda incubar previamente la muestra en Selenito caldo.

**Cuadro N° 01: Formula de Agar S.S.**

	Instrucciones
☐ Pluripeptona 5.0	☐ Suspender 60 g del polvo por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar hasta homogeneizar. Calentar a ebullición durante 2 o 3 minutos.  ☐ NO ESTERILIZAR EN AUTOCLAVE.  ☐ Enfriar a 45-50°C y distribuir unos 20 ml por placa. Secar la superficie del medio unos minutos en la estufa.
☐ Extracto de carne 5.0	
☐ Lactosa 10.0	
☐ Mezcla de sales biliares 8.5	
☐ Citrato de sodio 8.5	
☐ Tiosulfato de sodio 8.5	
☐ Citrato férrico 1.0	
☐ Agar 13.5	
☐ Verde brillante 0.00033	
☐ Rojo neutro 0.025 pH final: 7.0 ± 0.2	

Recomendaciones de cultivos según Casado, C., Torrico, G., y Medina, M. (2012):

- ✓ Siembra: Sembrar por estriado la superficie del medio de cultivo.

- ✓ Recomendaciones, se aconseja sembrar en forma conjunta una placa de agar E.M.B. (B02-101-05) o de agar Mac Conkey (B02-114-05).
- ✓ Incubación Durante 24-48 horas a 35-37 °C, en aerobiosis.
- ✓ Características del medio preparado: rojo naranja.
- ✓ Almacenamiento: Medio deshidratado: a 10-35 °C.
- ✓ Los resultados se detallan en el siguiente cuadro:

**Cuadro N° 02: Resultado de cultivo en Agar S.S.**

Microorganismos	Colonias
Salmonella typhimurium ATCC 14028	Transparentes, centro negro
Shigella flexneri	Incoloras
Shigella sonnei	Incoloras
Proteus mirabilis ATCC 43071	Transparentes, centro negro
Echerichia coli ATCC 25922	Rosadas a rojas
Klebsiella pneumoniae ATCC 700603	Rosadas cremosas y mucosas
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Incoloras, de muy escaso crecimiento

□ **Agar Hektoen:** Es un medio más diferencial y menos selectivo que el agar SS. Se utiliza para facilitar el aislamiento de las enterobacterias. La presencia de tres azúcares (lactosa, sacarosa y salicilina) permiten ampliar el poder diferencial de este medio. Este medio es capaz de detectar los gérmenes formadores de SH<sub>2</sub>, igual que el SS. Las cualidades del agar Hektoen se deben a su riqueza en peptonas y azúcares, que neutralizan el efecto inhibitorio de las sales biliares respecto a ciertos gérmenes de cultivo delicado (Shigella en particular). El crecimiento de Salmonella es excelente, igual que el de Shigella, obteniéndose colonias más numerosas y voluminosas que en los medios selectivos usuales. La inhibición tiene lugar, esencialmente, sobre E. coli y en menor medida sobre Proteus y Citrobacter. Hay que señalar que el vibrión colérico crece bien en este medio.

□ **C.P.S. ID3. :** Medio cromogénico desarrollado por Biomerieux, que permite la identificación de E. coli, P. mirabilis y E. faecalis, con la simple visualización del



cambio de color de la colonia sobre el medio (rojo burdeos, azul marrón). La identificación solo requiere la adición de un reactivo para confirmar o descartar la especie sospechada. Otros microorganismos diferentes requieren los sistemas de identificación habituales (API, p. ej) Granada, Islam o New GBS: Medios utilizados para detección de *Streptococcus agalactiae*, mediante la utilización de un sustrato cromogénico específico de este microorganismo.

□ **MacConkey:** es un medio diferencial y selectivo para el aislamiento de bacilos Gram negativos, fermentadores o no de lactosa, de la familia de las Enterobacteriaceas provenientes de muestras clínicas y no clínicas.

Actualmente existen muchos medios para el cultivo, aislamiento e identificación de Enterobacterias. Uno de estos medios fue desarrollado y publicado por MacConkey a comienzos del siglo XX. Este medio está basado en el hecho de que las sales biliares son precipitadas por los ácidos. Dentro de los microorganismos entéricos tenemos fermentadores de lactosa y no fermentadores. Los microorganismos fermentadores de lactosa dan colonias rosadas a rojas con o sin precipitado biliar, mientras que los no fermentadores aparecen como colonias transparentes. La presencia de sales biliares y cristal violeta inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias Gram positivas como *Enterococcus* y *Staphylococcus*. La selección de los productos que entran en su composición evitan el “swarming” del *Proteus* spp. Este medio está indicado en el trabajo con muestras clínicas con flora mixta. También puede ser utilizado en análisis de alimentos (Francisco Soria Melguizo, S.A. 2009).

## 1.2. Justificación de la Investigación

La presente investigación titulada “Efecto antimicrobiano del látex de *synadenium grantii* en cultivos in vitro de *e. coli*, Sullana – 2018”, tiene una justificación científica ya que sus procedimientos se ejecutaran bajo los principios del método científico y ello servirá para futuras investigaciones.

En este sentido podemos decir que existen plantas medicinales que presentan efectos fisiológicos múltiples, debido a que poseen más de un principio activo que actúan inhibiendo el crecimiento de microorganismos generando así un gran interés por parte de los investigadores en estudiar las sustancias naturales que posean propiedades antimicrobianas, tal como *Synadenium grantii* (planta de la vida) que es de fácil cultivación para la población, también debido a que actualmente los microorganismos patógenos están siendo resistentes a los antibióticos de uso común dentro de estos microorganismos se encuentra *E. coli*;; por eso se dirige los estudios a utilizar productos naturales como métodos alternativos. Por otro lado es relevante mencionar el aumento de pacientes inmunocomprometidos a los cuales los antibióticos les afecta., en tal sentido se plantea evaluar el efecto antimicrobiano in vitro del látex de la planta *Synadenium grantii* sobre la cepa de *E. coli*.

### **1.3. Problema de la Investigación**

#### **1.3.1. Planteamiento del Problema**

Se reconoce a *E. coli*, como el microorganismo indicador de contaminación fecal por excelencia, dentro de la especie se han descrito grupos patógenos capaces de causar enfermedades intestinales y extra intestinales en el ser humano y los animales, lo cual conduce a diseñar medidas de prevención dirigidas hacia la eliminación o disminución de ésta bacteria. En tal sentido, el uso de plantas medicinales frente a este problema de salud pública, ha sido una opción; ya que la medicina alternativa es empleada a nivel mundial con fines terapéuticos y que está tomando gran apogeo en el tratamiento de muchas enfermedades de origen antimicrobiano y antiséptico para el control y erradicación de las mismas.

Actualmente, las plantas medicinales recuperan parte del protagonismo que tuvieron en los primeros tratamientos médicos, ocurriendo un nuevo auge de las aplicaciones terapéuticas de las plantas.

El Perú no es ajeno a enfermedades causadas por microorganismos, es así que desde épocas milenarias el poblador peruano ha hecho uso de plantas medicinales en el tratamiento de dichas enfermedades, trasladándose ese conocimiento de generación en generación.

En tal sentido, la presente investigación está dirigida a determinar el efecto antimicrobiano del látex de *synadenium grantii* inhibiendo el crecimiento de *E. coli*; para luego, terminada la investigación, sus resultados servirán para sugerir el uso de dicha planta en el tratamiento de enfermedades de *E. coli*.

### **1.3.2. Formulación del Problema**

¿Cuál es el efecto antimicrobiano del látex de *Synadenium grantii* en cultivos in vitro de *E. coli*?

## **1.4. Conceptualización y Operacionalización de las variables de la investigación**

### **1.4.1. Variable independiente**

Látex de *Synadenium grantii*.

#### **a. Conceptualización**

Grandéz, G. (2010), señala que el látex es una sustancia lechosa y fluida, la planta *Synadenium grantii* contiene abundante látex de color blanco, que es la sustancia que cura muchísima enfermedades; el látex puro es irritante si se aplica en zonas sensibles del cuerpo, lo que no ocurre lo mismo en la mano pudiéndose manipular la sustancia sin ningún cuidado y protección.

### **b. Operacionalización**

La Operacionalización de la variable se realizó a través de la aplicación del látex de *Synadenium grantii* a concentraciones 25%, 50%, 75% y 100%, sobre cultivos de *E. coli* y observar su poder inhibidor de crecimiento microbiano.

### **c. Indicadores**

Los indicadores que permitieron verificar la Operacionalización de la variable fueron:

- Efecto antimicrobiano.
- Sin efecto antimicrobiano.

## **1.4.2. Variable Dependiente**

*Echerichia. coli.*

### **a) Conceptualización**

Para Camacho, A., et al (2009), *Echerichia coli* es un bacilo corto Gram negativo que se encuentra clasificado dentro de la familia *Enterobacteriaceae* (bacterias entéricas), existe como comensal en el intestino delgado de humanos y animales. Sin embargo, hay algunas cepas de *E. coli* patógenas que provocan enfermedades diarreicas. Estas *E. coli* se clasifican con base en las características que presentan sus factores de virulencia únicos, cada grupo provoca la enfermedad por un mecanismo diferente. Las propiedades de adherencia a las células epiteliales de los intestinos grueso y delgado son codificadas por genes situados en plásmidos. De manera similar las toxinas son mediadas por plásmidos o fagos.

### **b) Operacionalización**

La Operacionalización de la variable se realizará a través de los siguientes procedimientos:

- ✓ Siembra in vitro de la cepa bacteriana
- ✓ Incubación y crecimiento de la cepa bacteriana

- ✓ Sensibilidad de la bacteria al látex de *Synadenium grantii*

**c) Indicadores**

Para saber si se está operando correctamente se tendrá en cuenta los siguientes indicadores:

- ✓ Crecimiento de la bacteria *Echerichia coli*.
- ✓ Sin crecimiento de la bacteria *Echerichia coli*.

**1.5. Hipótesis de la Investigación**

**1.5.1. Hipótesis General**

El látex de *Synadenium grantii* tiene efecto antimicrobiano significativo en cultivos in vitro de *E. coli*.

**1.5.2. Hipótesis Específicos**

1. El 100% de concentraciones del látex de *Synadenium grantii* tiene efectos antimicrobiano significativo frente a la cepa de la bacteria *Echerichia coli* ATCC 25922.
2. El 75% de concentraciones del látex de *Synadenium grantii* tiene efectos antimicrobiano significativo frente a la cepa de la bacteria *Echerichia coli* ATCC 25922.
3. El 50% de concentraciones del látex de *Synadenium grantii* tiene efectos antimicrobiano significativo frente a la cepa de la bacteria *Echerichia coli* ATCC 25922.
4. El 25% de concentraciones del látex de *Synadenium grantii* tiene efectos antimicrobiano significativo frente a la cepa de la bacteria *Echerichia coli* ATCC 25922.

5. La bacteria *Echerichia coli* es significativamente sensible al látex de *Synadenium grantii*.

## **1.6. Objetivos de la Investigación**

### **1.6.1. Objetivo General**

Determinar el efecto antimicrobiano del látex de *Synadenium grantii* en cultivos in vitro de *E. coli*, Sullana – 2018.

### **1.6.2. Objetivos Específicos**

- 1) Determinación del efecto antimicrobiano del 100 % de concentraciones del látex de *Synadenium grantii* frente a cepa de *Echerichia coli* ATCC 25922.
- 2) Determinación del efecto antimicrobiano del 75 % de concentraciones del látex de *Synadenium grantii* frente a cepa de *Echerichia coli* ATCC 25922.
- 3) Determinación del efecto antimicrobiano del 50 % de concentraciones del látex de *Synadenium grantii* frente a cepa de *Echerichia coli* ATCC 25922.
- 4) El 25% de concentraciones del látex de *Synadenium grantii* tiene efectos antimicrobiano significativo frente a la cepa de la bacteria *Echerichia coli* ATCC 25922.
- 5) Determinar la sensibilidad de la bacteria *E. coli* ATCC 25922 al látex de *Synadenium grantii*.

## II. METODOLOGÍA

### 2.1. Tipo y Diseño de la Investigación

#### 2.1.1. Tipo

El presente estudio es de tipo Analítico, Prospectivo.

Analítico, porque el estudio presenta variable independiente (Látex) y variable dependiente (*E. coli*).

Prospectivos, porque la investigadora, para recoger los datos de las variables estudiadas, diseñó instrumentos para el registro de los datos medidos. Es decir los datos fueron obtenidos de fuentes primarias.

#### 2.1.2. Diseño

La presente investigación es Experimental, Experimental puro, Con grupo control, Transversal.

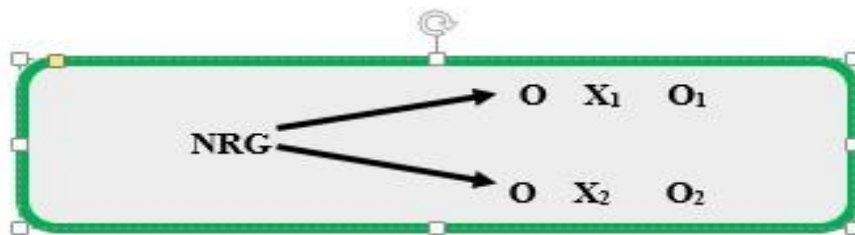
✓ **Experimental**, porque el investigador manipuló la variable independiente observando el efecto que tiene en la variable dependiente.

✓ **Experimental puro**, porque el estudio tuvo un rigor estricto en el control ambiental donde se realizan los procesos de la investigación.

✓ **Con Grupo control**, porque dentro de la muestra estudiada, se seleccionó un grupo que no se aplicó el tratamiento con látex, pero si con un antibiótico comercial.

✓ **Transversal**, porque las medidas serán tomadas, en una sola oportunidad, después del tratamiento. Esto será a las 24 horas después de la inoculación de la *E. coli* y la aplicación del látex.

El grafico de este diseño es:



Dónde:

- ✓ NR: significa que la muestra es no probabilística intencional, es decir la investigadora a elegido la muestra a conveniencia e interés propio.
- ✓ G: es el grupo o muestra en estudio
- ✓ O: la observación hecha a la variable dependientes antes de la aplicación del tratamiento.
- ✓ O<sub>1</sub>: observación hecha a la variable dependiente después del tratamiento a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de látex en el grupo experimental.
- ✓ O<sub>2</sub>: observación hecha a la variable independiente después del tratamiento a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de Ciprofloxacino en el grupo control.
- ✓ X<sub>1</sub>: tratamiento aplicado a la variable dependiente a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% de látex en el grupo experimental.
- ✓ X<sub>2</sub>: tratamiento a través del fármaco antimicrobiano comercial Ciprofloxacino a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% aplicado a la variable dependiente en el grupo control.



## **2.2. Población y Muestra**

### **2.2.1. Población**

La población de estudio estará representada por la cepa bacteriana de *Echerichia coli* adquirida en un laboratorio certificado.

### **2.2.2. Muestra**

La muestra del presente estudio, es una muestra no probabilística (no randomizado), es decir que el investigador la eligió a criterio y conveniencia propia. Dicha muestra estará representada por 16 placas Petri inoculadas con *Echerichia coli*.

## **2.3. Técnicas e Instrumentos de la Investigación**

### **2.3.1. Técnicas**

Las técnicas empleadas en la siguiente investigación son:

- ✓ La Observación, a través del cual la investigadora hizo observación en primer lugar a la información bibliográfica de relevancia a las variables. En segundo lugar observo a la variable dependiente antes y después del tratamiento
- ✓ El Tratamiento: se utilizó el método microbiológico antibiograma

### **2.3.2. Instrumentos**

Cada técnica empleada tiene su respectivo instrumento en los cuales quedara registrado los datos obtenidos a través de ellas; así podemos mencionar:

- ✓ Ficha técnica de observación de análisis bibliográfica.
- ✓ Ficha técnica de laboratorio.

- ✓ Fundamento estandarizado del método microbiológico de antibiograma.

### **2.3.3. Procesamiento y Análisis de la Información**

#### **a. Procesamiento**

El procesamiento de los datos que se obtendrán de la presente investigación serán procesados a través de:

- ✓ Tablas de frecuencia.
- ✓ Figuras estadísticas.

#### **b. Análisis**

Los análisis de los resultados se harán a través de la herramienta de la Estadística:  
Mediana

Tanto el procesamiento como el análisis serán realizadas a través del programa informático EXCEL 2013.

### III. RESULTADOS

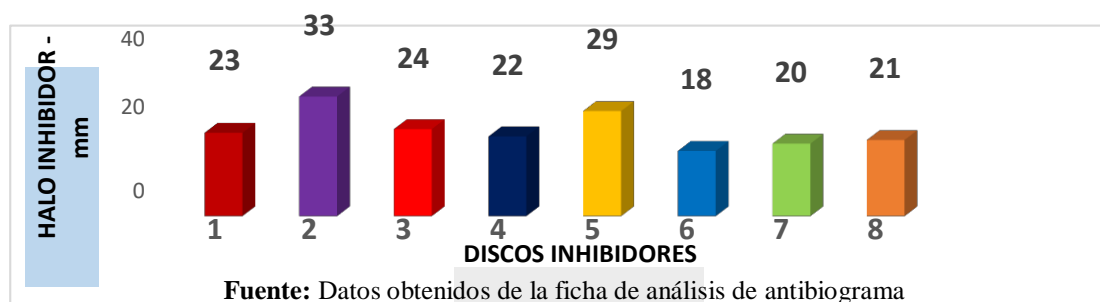
#### 3.1. Determinación del efecto antimicrobiano del látex de *Synadenium grantii* frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922

##### 3.1.1. Determinación del efecto antimicrobiano al 100% del látex de *Synadenium grantii* frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922

**Tabla N° 01:** Efecto antimicrobiano del látex al 100 % frente a cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

Placa Petri	Disco	Diámetro del halo de inhibición (mm)
1	1	23
	2	33
	3	24
	4	22
2	1	29
	2	18
	3	2
	4	21
		23.8

Fuente: Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma  
Elaborado por: A.S.C.A



Fuente: Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma  
Elaborado por: A.S.C.A

**Gráfico N° 01:** Efecto antimicrobiano del látex al 100 % frente a cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

**Interpretación:** En la tabla 01 y gráfico 01, se observa el efecto antimicrobiano del látex de *S. grantii* en una concentración al 100 %. Obteniéndose una media del halo de inhibición de 23.8 mm.

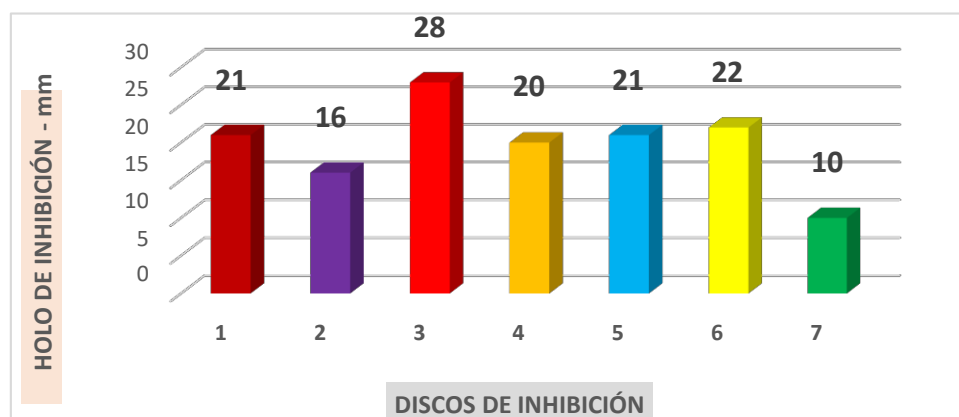
**3.1.2. Determinación del efecto antimicrobiano al 75% del látex de *Synadenium grantii* frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922**

**Tabla N° 02:** Efecto antimicrobiano del látex al 75 % frente a cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

Placa Petri N°	Disco	Dia metro del halo de inhibición (mm)
1	1	21
	2	16
	3	28
2	1	20
	2	21
	3	22
	4	10
		19.71

**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma

**Elaborado por:** A.S.C.A



**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma

**Elaborado por:** A.S.C.A

**Grafico N° 02:** Efecto antimicrobiano del látex al 75 % frente a cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

**Interpretación:** En la tabla 2 y grafico 2, se observa el efecto antimicrobiano del látex de *S. grantii* en una concentración al 75%. Arrojando una media de halo inhibición de 19.71 mm

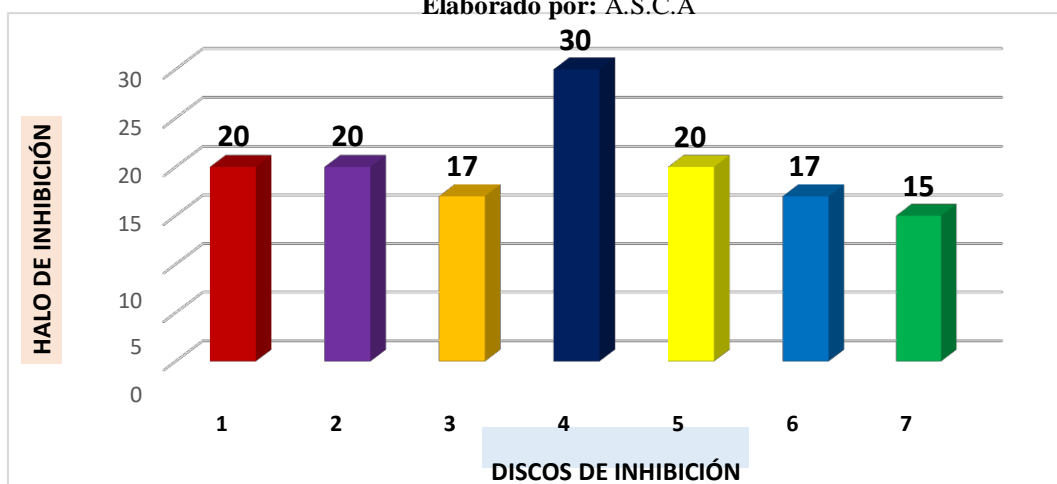
**3.1.3. Determinación del efecto antimicrobiano al 50% del látex de *Synadenium grantii* frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922**

**Tabla N° 03:** Efecto antimicrobiano del látex al 50 % frente a cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

Placa Petri N°	Disco	Diámetro del halo de inhibición (mm)
1	1	20
	2	20
	3	17
2	1	30
	2	20
	3	17
	4	15
		19.9

**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma

**Elaborado por:** A.S.C.A



**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma

**Elaborado por:** A.S.C.A

**Grafico N° 03:** Efecto antimicrobiano del látex al 50 % frente a cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

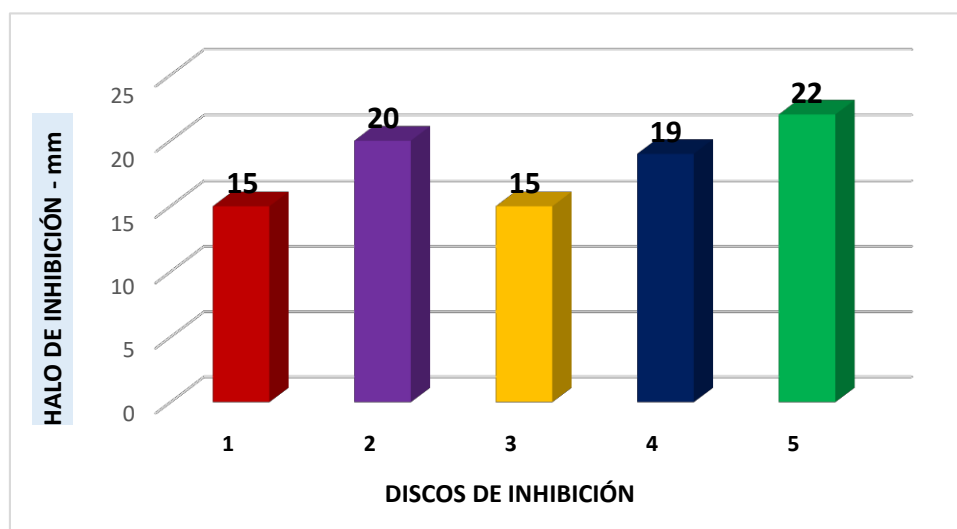
**Interpretación:** En la tabla 3 y grafico 3, se observa el efecto antimicrobiano del látex de *S. grantii* en una concentración al 50%. Se observa que la media del halo de inhibición, es de 19.9 mm.

**3.1.4. Determinación del efecto antimicrobiano al 25% del látex de *Synadenium grantii* frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922**

**Tabla N° 04:** Efecto antimicrobiano del látex al 25 % frente a cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

Placa Petri		
N°	Disco	Diámetro del halo de inhibición (mm)
1	1	15
	2	20
	3	15
2	1	19
	2	22
		18.2

**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma  
**Elaborado por:** A.S.C.A



**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma  
**Elaborado por:** A.S.C.A

**Gráfico N° 04:** Efecto antimicrobiano del látex al 25 % frente a cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

**Interpretación:** En la tabla 04 y gráfico 04, se observa el efecto antimicrobiano del látex de *S. grantii* en una concentración al 25%, donde la media del halo de inhibición es de 18.2 mm.

### 3.2 Determinación del efecto antimicrobiano del medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922

#### 3.2.1 Determinación del efecto antimicrobiano al 100% del medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922

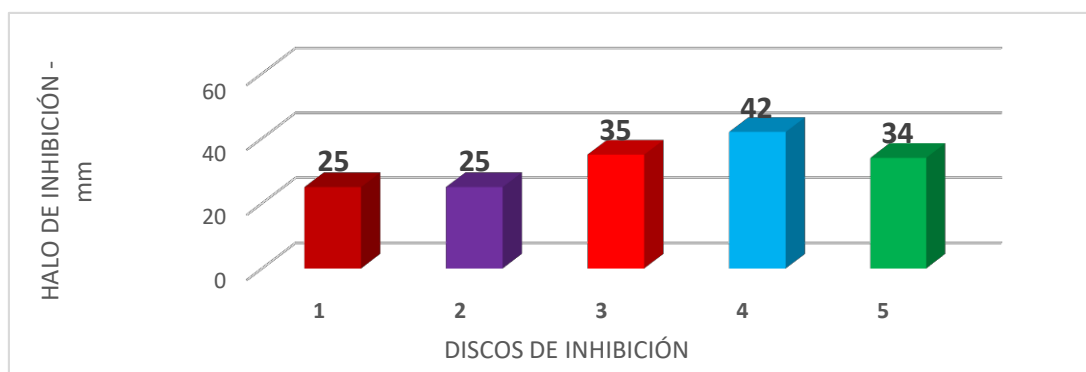
**Tabla N° 05:** Efecto antimicrobiano de Ciprofloxacino al 100% en cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

Placa Petri N°	Disco	Diámetro del halo de inhibición (mm)
1	1	25
	2	25
	3	35
2	1	42
	2	34

32.2

**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma

**Elaborado por:** A.S.C.A



**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma

**Elaborado por:** A.S.C.A

**Gráfico N° 05:** Efecto antimicrobiano de Ciprofloxacino al 100% en cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

**Interpretación:** En la tabla 05 y gráfico 05, se observa el efecto antimicrobiano del medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino en una concentración al 100%. El promedio del halo inhibitor es de 32.2 mm.

### 3.2.2 Determinación del efecto antimicrobiano al 75 % del medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922

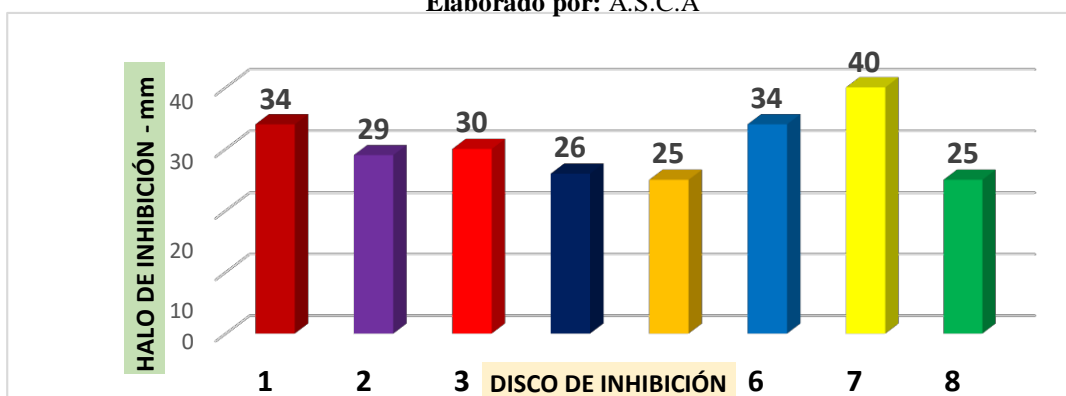
**Tabla N° 06:** Efecto antimicrobiano de Ciprofloxacino al 75 % en cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

Placa Petri N°	Disco	Diámetro del halo de inhibición (mm)
1	1	34
	2	29
	3	30
	4	26
2	1	25
	2	34
	3	40
	4	25

30.4

**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma

**Elaborado por:** A.S.C.A



**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma

**Elaborado por:** A.S.C.A

**Grafico N° 06:** Efecto antimicrobiano de Ciprofloxacino al 75 % en cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

**Interpretación:** En la tabla 06 y grafico 06, se observa el efecto antimicrobiano del medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino en una concentración al 75%. Aquí se observa que la media del halo inhibidor es de 30.4 mm.



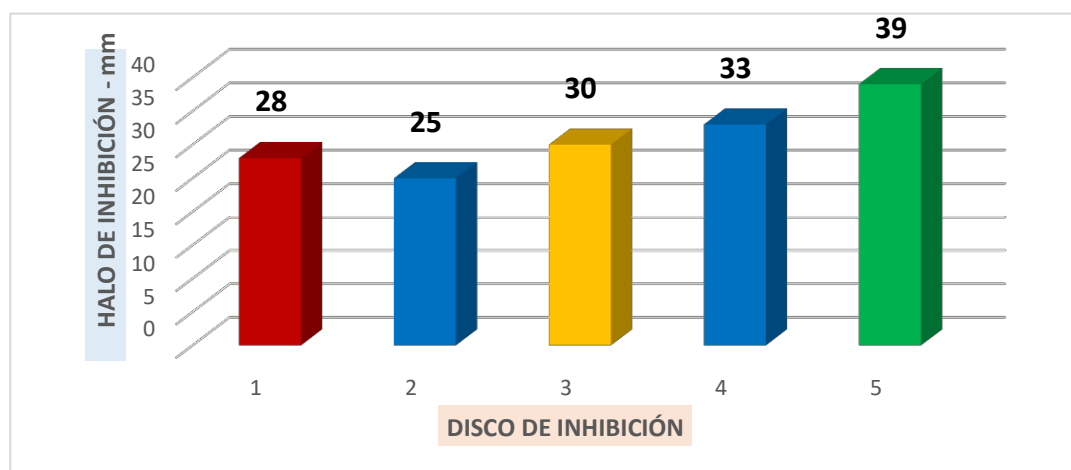
### 3.2.3 Determinación del efecto antimicrobiano al 50 % del medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922

**Tabla N° 07:** Efecto antimicrobiano de Ciprofloxacino al 50 % en cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

Placa Petri N°	Disco	Diámetro del halo de inhibición (mm)
1	1	28
	2	25
2	1	30
	2	33
	3	39
		31.0

**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma

**Elaborado por:** A.S.C.A



**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma

**Elaborado por:** A.S.C.A

**Gráfico N° 07:** Efecto antimicrobiano de Ciprofloxacino al 50 % en cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

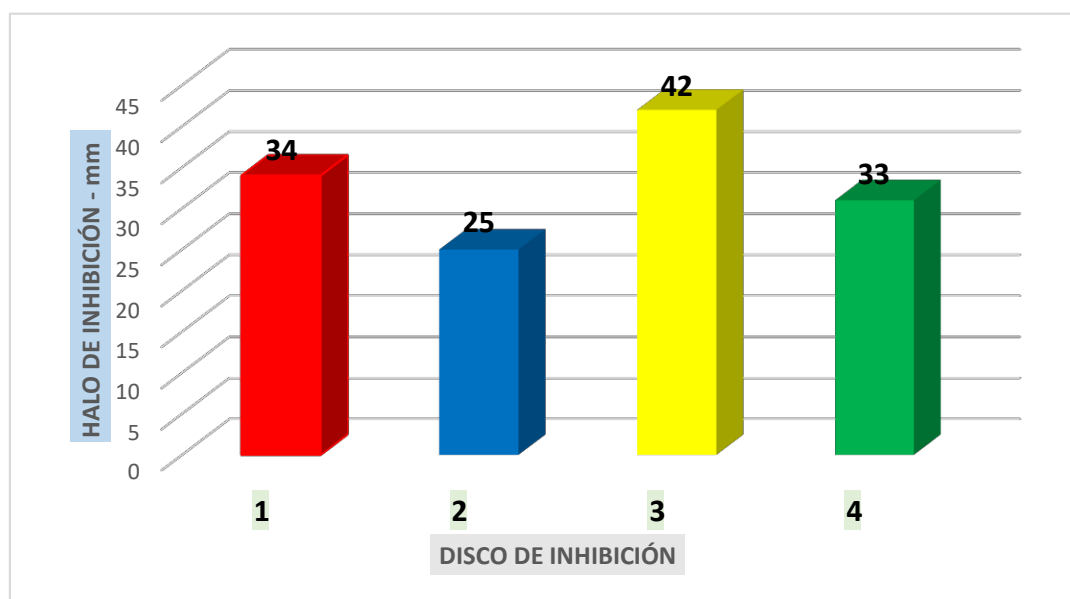
**Interpretación:** En la tabla 07 y gráfico 07, se observa el efecto antimicrobiano del medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino en una concentración al 50%. Se denota que el promedio del halo de inhibición es de 31 mm.

### 3.2.4 Determinación del efecto antimicrobiano al 25% del medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922

**Tabla N° 08:** Efecto antimicrobiano de Ciprofloxacino al 25 % en cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

Placa Petri N°	Disco	Diámetro del halo de inhibición (mm)
1	1	34
	2	25
2	1	42
	2	33
		33.5

**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma  
**Elaborado por:** A.S.C.A



**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma  
**Elaborado por:** A.S.C.A

**Gráfico N° 08:** Efecto antimicrobiano de Ciprofloxacino al 100 % en cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

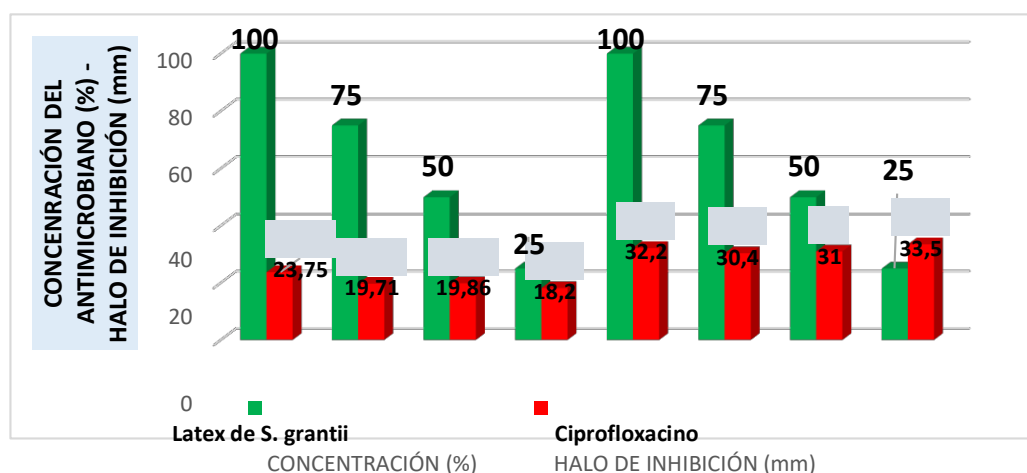
**Interpretación:** En la tabla 08 y gráfico 08, se observa el efecto antimicrobiano del medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino en una concentración al 25 %. El promedio del halo de inhibición es de 33.5 mm.

### 3.2.5 Determinación comparativa del efecto antimicrobiano entre el látex de *S. grantii* y el medicamento Ciprofloxacino, frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922

**Tabla N° 09:** Resumen comparativo del efecto antimicrobiano entre el látex de *S. grantii* y el medicamento Ciprofloxacino frente a cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922

Agente Antimicrobiano	Concentración (%)	Promedio Del Halo Inhibidor (Mm)	Promedio Total De Halo Inhibidor (Mm)
Látex de <i>S. grantii</i>	100	23.75	20.38
	75	19.71	
	50	19.86	
	25	18.2	
Ciprofloxacino	100	32.2	31.78
	75	30.4	
	50	31	
	25	33.5	

**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma  
**Elaborado por:** A.S.C.A



**Fuente:** Datos obtenidos de la ficha de análisis de antibiograma  
**Elaborado por:** A.S.C.A

**Figura N° 09:** Resumen comparativo del efecto antimicrobiano entre el látex de *S. grantii* y el medicamento Ciprofloxacino frente a cepas in vitro de *Echerichia coli* ATCC 25922.

**Interpretación:** La tabla 09 y grafico 09, se observa la comparación del efecto antimicrobiano del látex de *S. grantii* y medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino. Observándose el efecto causado por los dos agentes antimicrobiano.

## IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Análisis

En la tabla 01 y grafico 01, se registra los diámetros de los halos formados por la presencia del látex al 100% de concentración, teniendo un promedio de 23.8 mm de diámetro. Estos datos dan evidencia que el látex de *S. grantii* tiene un efecto antimicrobiano frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922.

En la tabla 02 y grafico 02, se registra los diámetros de los halos formados por la presencia del látex al 75% de concentración, arrojando un promedio de 19.71 mm de diámetro. Estos datos dan evidencia que el látex de *S. grantii* tiene un efecto antimicrobiano frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922.

En la tabla 03 y grafico 03, se registra los diámetros de los halos formados por la presencia del látex al 50% de concentración, arrojando un promedio de 19.90 mm de diámetro. Estos datos dan evidencia que el látex de *S. grantii* tiene un efecto antimicrobiano frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922.

En la tabla 04 y grafico 04, se registra los diámetros de los halos formados por la presencia del látex al 25% de concentración, arrojando un promedio de 18.2 mm de diámetro. Estos datos dan evidencia que el látex de *S. grantii* tiene un efecto antimicrobiano frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922.

En la tabla 09 y gráfico 09, se denota los resultados comparativos entre el látex de *S. grantii* y el medicamento antimicrobiano Ciprofloxacino, donde se observa que el diámetro de los halos inhibidor formados se da en todas las concentraciones, teniendo como promedio de 20.38 en el látex y de 31.78 en el Ciprofloxacino, evidenciándose el efecto antimicrobiano frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922 del látex de *S. grantii*.

Frente a los datos observados, se evidencia que el látex de *S. grantii* forma un halo inhibitor, cuyo diámetro en promedio es de 20.38 mm, en comparación al halo de Ciprofloxacino cuyo diámetro es de 31.78 mm, existiendo una diferencia de 11.4 mm. Esto permite señalar que la bacteria *Echerichia coli* ATCC 25922 es significativamente sensible al látex de *S. grantii*.

## 4.2. Discusiones

Al revisar estudios que tengan relevancia con la variable estudiada, no ha sido posible encontrar alguna publicación referente al efecto antimicrobiano del látex de *S. grantii*, frente a *E. coli*. Pero, si se tomó como antecedente a trabajos realizados con otras plantas medicinales con efecto antimicrobiano.

Ocares, M. (2012), realiza un estudio, donde concluye que los extractos metanólicos de hoja de Lingue (*Persea lingue*), Ñirre (*Nothofagus antártica*), Luma (*Amomyrtus luma*), Picha (*Myrceugenia planipes*) y Meli (*Amomyrtus meli*) presentaron actividad antimicrobiana frente a todas las cepas de *Escherichia coli* y *Salmonella* utilizados en este estudio. Además de ello señalan que los extractos metanólicos de Radal y Notro, sólo presentaron actividad antimicrobiana frente a *S. Typhimurium* ATCC 14028. Esta conclusión es compartida con el presente estudio, evidenciándose que el látex de *S. grantii* tiene efecto antibacterial frente a cepas de *Echerichia coli* ATCC 25922.

Chávez, A. (2013), al usar el látex de *del látex de Jatropha curca* como agente antibacterial, concluye que el látex de *Jatropha curcas* presentaron una actividad antimicrobiana selectiva importante frente al género de *Staphylococcus spp*, compartiendo esta actividad antibacterial con los resultados del presente estudio.

Miranda, A. (2015), quien hizo uso de *del látex de euphorbia laurifolia* como agente antimicrobiano, donde concluye que el extracto hexánico del látex de *E. laurifolia* carece de actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Candida albicans*; conclusiones que no son comartidas con

los resultados del presente estudio. Por otro lado Soto, M. (2015), en su estudio concluye que el gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby tiene efecto antimicrobiano; conclusión compartida con el presente estudio.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

### 5.2. General

El látex de *Synadenium grantii* tiene efecto antimicrobiano frente a cultivos de *Escherichia coli* ATCC 25922.

### 5.3. Específicos

1. La concentración del 100% de látex de *Synadenium grantii*, genera un halo de inhibición de 23.8 mm, generando un efecto antimicrobiano frente a cultivos de *Escherichia coli* ATCC 25922.
2. La concentración del 75% de látex de *Synadenium grantii*, genera un halo de inhibición de 19.71 mm, generando un efecto antimicrobiano frente a cultivos de *Escherichia coli* ATCC 25922.
3. La concentración del 50% de látex de *Synadenium grantii*, genera un halo de inhibición de 19.90 mm, generando un efecto antimicrobiano frente a cultivos de *Escherichia coli* ATCC 25922.
4. La concentración del 25% de látex de *Synadenium grantii*, genera un halo de inhibición de 18.2 mm, generando un efecto antimicrobiano frente a cultivos de *Escherichia coli* ATCC 25922.
5. La *E. coli* ATCC 25922, frente al látex de *S. grantii*, presenta una sensibilidad significativa, frente al látex de *Synadenium grantii*



#### **5.4. Recomendaciones**

Frente a los resultados obtenidos, se recomienda realizar estudios de sensibilidad de otras bacterias frente al látex de *S. grantii*, esto con el objeto de comprobar el poder antimicrobiano del látex de *S. grantii*.

A futuros investigadores realizar la extracción del látex de *Synadeum grantii* a no menos de 24 horas de la exposición con la bacteria, puesto que el tiempo es un factor para evitar que el látex se solidifique.

Realizar más estudios que demuestren las propiedades de toda la planta medicinal *S. grantii*, para que tengan un respaldo científico y puedan utilizarse como posible medicación en la terapéutica de enfermedades que azotan a la sociedad.

Realizar un estudio de toxicidad del látex de *Synadeum grantii* para seres humanos.

Realizar fórmulas preparadas para hacer ensayos frente a enfermedades bacteriales de seres humanos, previo estudio ético.

El uso de la bacteria debe hacerse en no más de 3 días, puesto que por su replicación suele morir rápidamente a falta de nutrientes.

## **VI. AGRADecIMIENTO**

Agradezco a Dios por la maravillosa madre que me ha dado y por guiar mis pasos. A mi madre que día a día me brinda su apoyo incondicional, por ser mi ejemplo de lucha a seguir, mi constante y más fiel admiradora. A mi hermana y hermanos por su apoyo constante, A mi padre mi ángel presente en cada momento de mi vida. A todos ellos gracias.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Benites, C. (2015). Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (“TARA”) sobre cepa de *Candida albicans* ATCC 90028. Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo. Perú. Recuperado de [Http://Repositorio.Upao.Edu.Pe/Bitstream/Upaorep/1313/1/Benites\\_Christian\\_Inhibitorio\\_In%20vitro\\_Etanolico.Pdf](Http://Repositorio.Upao.Edu.Pe/Bitstream/Upaorep/1313/1/Benites_Christian_Inhibitorio_In%20vitro_Etanolico.Pdf).

Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B. y Velázquez, O. (2009). Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. Universidad Autónoma de México. Recuperado de [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Colif-tot-fecales-Ecoli-NMP\\_6529.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Colif-tot-fecales-Ecoli-NMP_6529.pdf).

Casado, C., Torrico, G., y Medina, M. (2012). Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología. Recuperado de <https://libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf>.

Centurión, K. (2015). Efecto antibacteriano in vitro de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo. Perú. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/reh/v25n4/a04v25n4.pdf>.

Chávez, A. (2013). Efecto antimicrobiano del látex de *Jatropha curcas* frente a *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA). Universidad San Francisco de Quito. Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/2034/1/106173.pdf>.

Cosco, D. (2010). Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* y de flora mixta salival por acción del aceite esencial de la *Matricaria chamomilla*

manzanilla. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. Recuperado de <http://www.cop.org.pe/bib/tesis/Danyalejandrococorobles.pdf>

Francisco Soria Melguizo, S.A. (2009). MacConkey Agar: Ficha Técnica 770267. Recuperado de <http://www.f-soria.es/>

Grandéz, G. (2010). La planta de la vida *Synadenium grantii*. Recuperado de <https://kukuprojekt.files.wordpress.com/2014/08/libro-synadenium-grantii-hook.pdf>.

Miranda, A. (2015). Estudio fitoquímico, y evaluación de la actividad citotóxica y antimicrobiana in vitro del látex de *euphorbia laurifolia* en patógenos dérmicos. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. Recuperado de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4011/1/56T00534%20UDCTFC.pdf>.

Ocares, M. (2012). Acción antimicrobiana de extractos crudos de especies de plantas nativas sobre *Escherichia coli* y *Salmonella spp.* Universidad Austral de Chile. Chile. Recuperado de <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fao.15a/doc/fao.15a.pdf>.

Olivas, E. (2012). Manual de prácticas de laboratorio de microbiología. Universidad Autónoma de Juárez. México. Recuperado de <http://bivir.uacj.mx/Reserva/Documentos/rva2011296.pdf>.

Romeu, B. (2012). Caracterización de cepas de *Escherichia coli* de importancia clínica humana aisladas de ecosistemas dulceacuícolas de la Habana. Universidad de la Habana. Cuba. Recuperado de [http://tesis.repo.sld.cu/625/1/Beatriz\\_Romeu\\_Alvarez.pdf](http://tesis.repo.sld.cu/625/1/Beatriz_Romeu_Alvarez.pdf).

Soto, M. (2015). Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus Rusby* (Asteraceae). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. Recuperado de

<http://www.upao.edu.pe/Museo/pdf/05%20Metabolitos%20secundarios%20y%20efecto.pdf>

## VIII. ANEXOS Y APÉNDICES

### 8.1. Anexos

#### Anexo N° 01: Ficha Técnica de Observación de Laboratorio

Muestra (placa Petri)		Tratamiento Con medicamento		Tratamiento Con Látex	
placa	[ ] %	Disco	Halo de inhibición - mm	Disco	Halo de inhibición - mm
1	100	1			
		2			
		3			
		4			
2	75	1			
		2			
		3			
		4			
3	50	1			
		2			
		3			
		4			
4	25	1			
		2			
		3			
		4			

**Anexo N° 02: Ficha Técnica de Observación Bibliográfico**

<b>N°</b>	<b>AUTOR</b>	<b>TÍTULO</b>	<b>AÑO DE PUBLICACIÓN</b>	<b>NOTA RELEVANTE</b>
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				

### Anexo 03: Evidencias fotográficos

Foto N° 01: materiales e insumos para el antibiograma

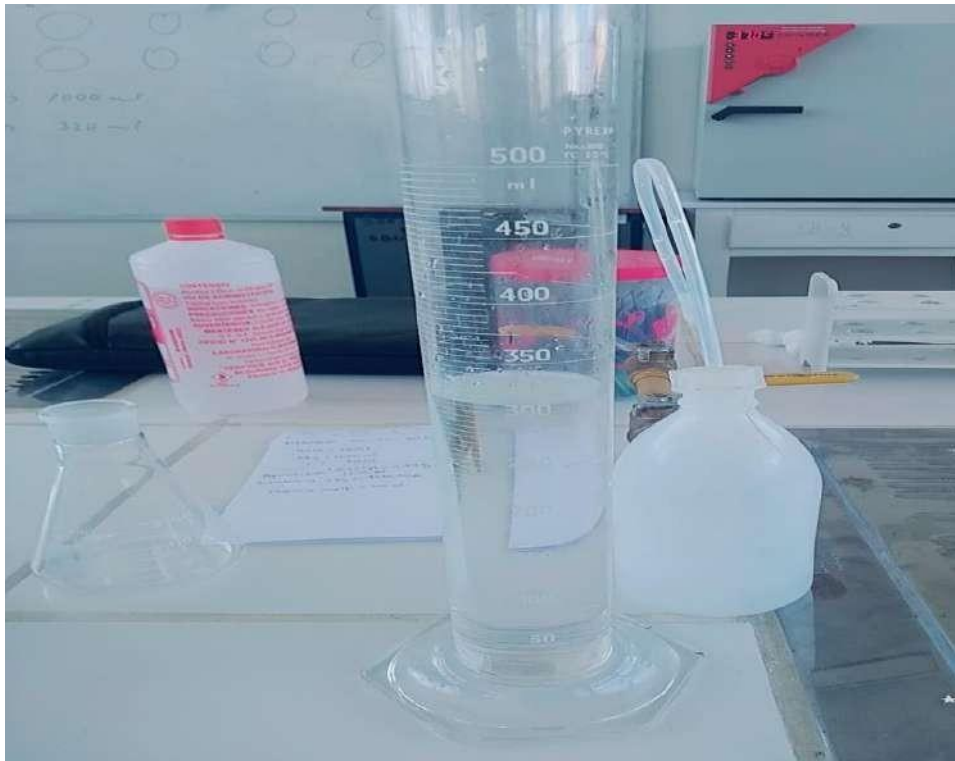


Foto N°2: Pesado de Medio de cultivo Agar nutritivo





**Foto N°3: 320 ml de agua destilada, utilizada en la dilución del medio**



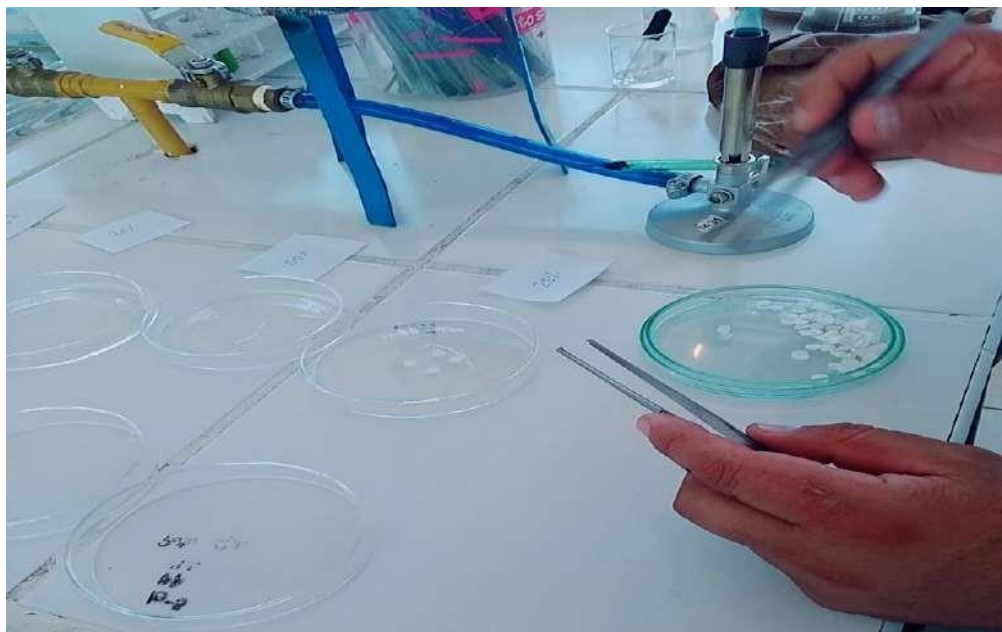
**Foto N°4: Preparación del medio Agar nutritivo + agua destilada**



**Foto N° 5: Solución de Agar Nutritivo autoclavado**



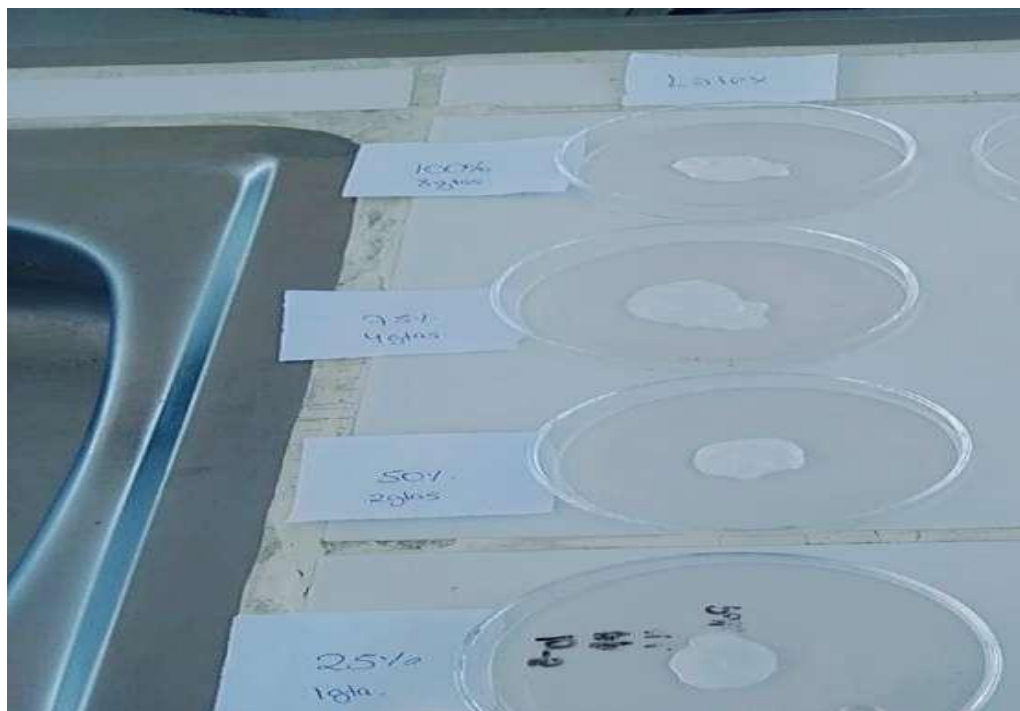
**Foto N° 6: Impregnación de discos de papel filtro en diferentes concentraciones de látex de *S. grantii* y el medicamento antimicrobiano.**



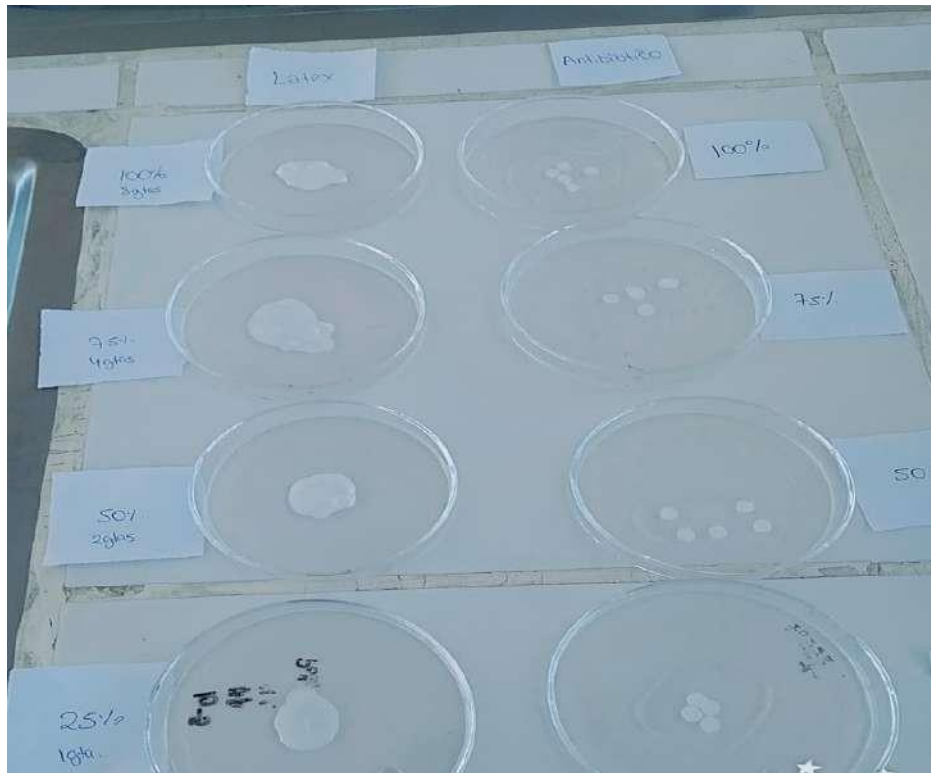
**Foto N° 7: Placas con medicamento antimicrobiano al 100%, 75%, 50% y 25%**



**Foto N° 8: Placa con látex de *S. grantii* al 100%, 75%, 50% y 25%**



**Foto N° 9: Placas con látex y medicamento con diferentes concentraciones con discos de papel filtrante**



**Foto N° 10: Traslado de medio de cultivo a las placas Petri a trabajar**

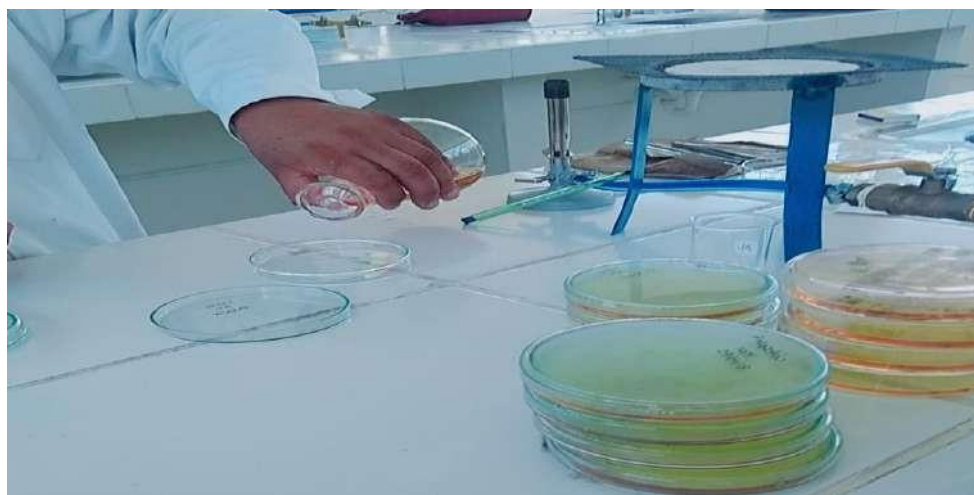
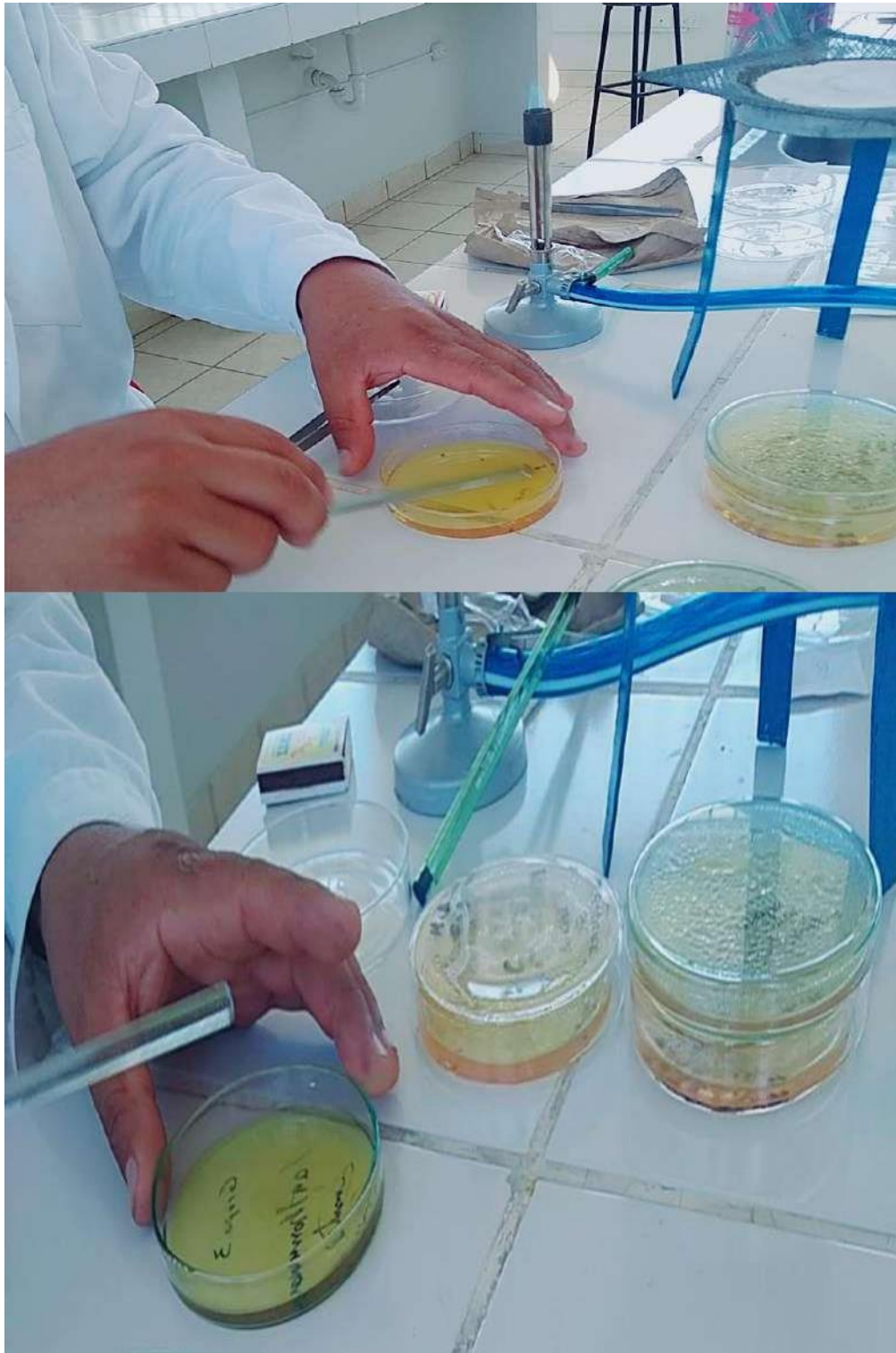


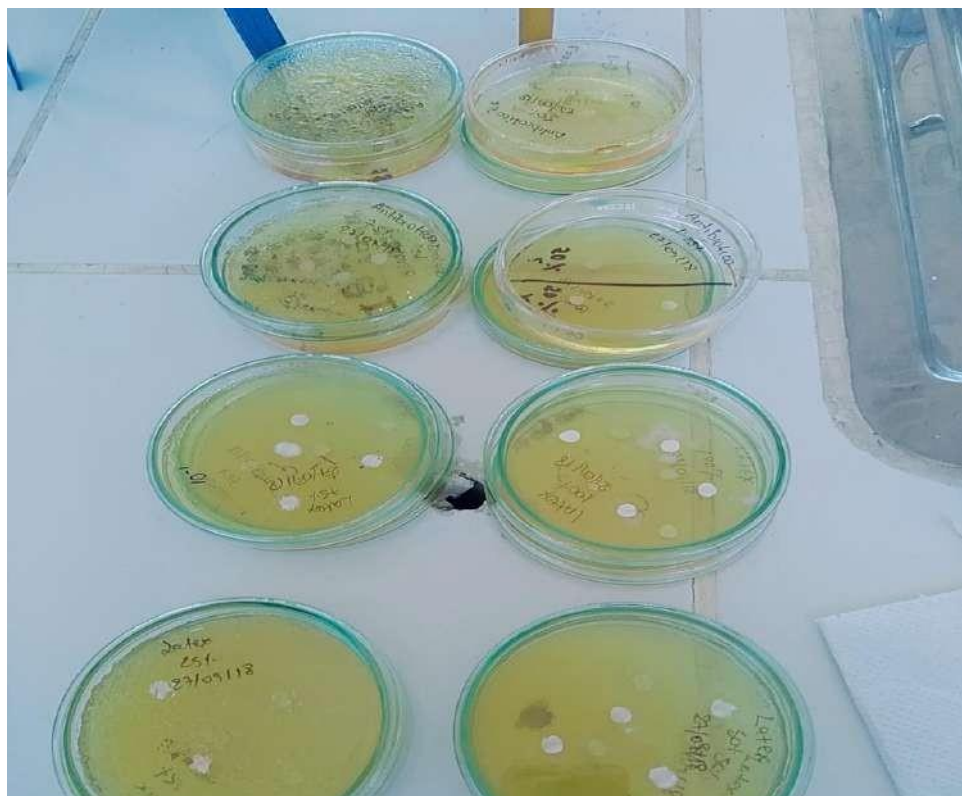
Foto N° 11: Inoculación de *Escherichia coli* en placas Petri



**Foto N ° 12: Colocación de discos de papel filtro impregnado con medicamento antimicrobiano a diferentes concentraciones, en placas inoculadas con E. Coli.**



**Foto N° 13: Colocación de discos de papel filtro impregnado con látex de *S. grantii* a diferentes concentraciones, en placas inoculadas con *E. Coli*.**



**Foto N ° 14: Placas con sus respectivos discos impregnados de antimicrobiano y/o látex son llevadas a incubación por 24 horas.**





**Foto N° 15: Placas a incubación por 24 Horas.**



**Foto N° 16: Lectura de halos formados en placas Petri a las 24 horas.**



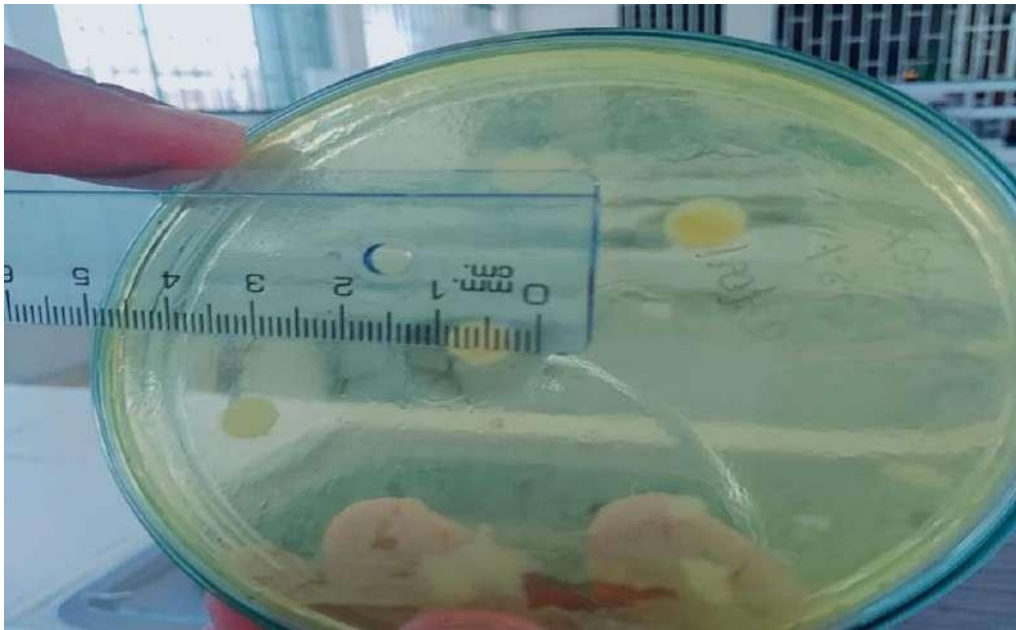
**Foto N° 17: Placa con látex al 25% con un halo de 1.5 cm aprox.**



**Foto N° 18 Placa con látex al 50% con un halo de 1.7cm**



**Foto N° 19: Placa con látex al 75 % con un halo de 1.5 cm aprox**



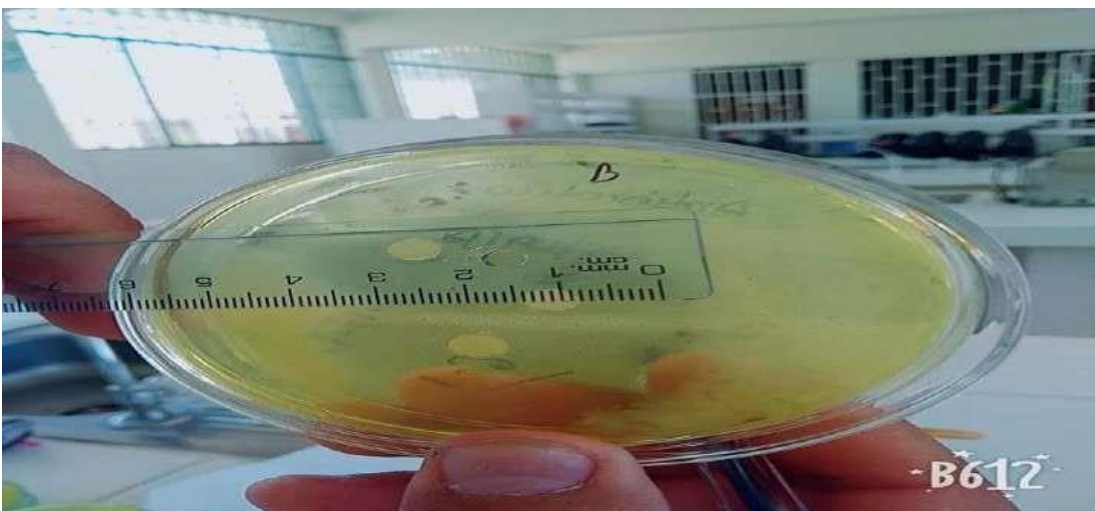
**Foto N° 20: Placa con látex al 100 % con formación de halo de 2.8 cm**



Foto N° 21: Placa con medicamento antimicrobiano a diferentes concentraciones con formación de halo inhibitor



Foto N° 22: Placa con medicamento antimicrobiano a diferentes concentraciones con formación d halo inhibitor



**Foto N° 23: Placa con látex de *S. grantii* y medicamento antimicrobiano, con formación de halo inhibitor al crecimiento bacteriano.**



## 8.2. Apéndices

BIOMEDICA  
Vol. 4, No. 3 y 4 - 1984

### ACTUALIZACIONES

## EL ANTIBIOGRAMA DE DISCOS. NORMALIZACION DE LA TECNICA DE KIRBY-BAUER

MAYE BERNAL R., \* MIGUEL GUZMAN U.\*\*

### INTRODUCCION

En el manejo clínico de la enfermedad infecciosa es indispensable la identificación del agente causal con el objeto de hacer un control terapéutico, en lo posible, específico. Tratándose de entidades de origen bacteriano, este concepto es aún más estricto, toda vez que el médico cuenta con gran cantidad de agentes antimicrobianos de los cuales debe seleccionar aquéllos que además de su fácil administración, buena penetración y baja toxicidad sean realmente activos contra el microorganismo causal (1). Estas consideraciones implican que el médico, además del buen conocimiento y comando de los aspectos clínicos, conozca en profundidad los antimicrobianos y su farmacología, ordene el aislamiento e identificación del agente etiológico y su sensibilidad frente a dichos antimicrobianos cuando ésto sea necesario; esto permitirá establecer un manejo más confiable evitando su uso indiscriminado y la posibilidad de seleccionar cepas bacterianas resistentes, peligro cada vez más creciente como lo destacan investigadores de la genética bacteriana en reciente declaración mundial, (2).

Para que los estudios de sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos tengan aplicación y validez clínica, es necesario que los procedimientos de laboratorio que la investigan sean confiables. La experiencia mundial en el campo

demuestra que es necesario una normalización de su metodología (3). El presente trabajo, tiene por objeto dar las directrices para la correcta realización e interpretación del antibiograma de disco que constituye el sistema más comúnmente utilizado para microorganismos de crecimiento rápido, (4).

El seguimiento estricto de estas directrices asegura al laboratorio la realización correcta del antibiograma y al médico un resultado confiable para el manejo de su paciente.

La prueba de sensibilidad utilizando el procedimiento del disco es una modificación de la técnica descrita por Bauer, Kirby, Sherris y Turk (5); es la técnica que se recomienda para los laboratorios clínicos. La prueba es rápida, práctica y reproducible (6, 7, 8). Los procedimientos de diluciones en agar o diluciones en caldo para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los antimicrobianos son también procedimientos satisfactorios (8).

### DISCO PARA ANTIBIOGRAMA

Los discos para antibiograma son producidos por casas comerciales bajo un riguroso protocolo de control internacional. Cada disco contiene una concentración predeterminada que permite una correlación más o menos precisa con la concentración mínima inhibitoria que dicho antibiótico

\* Unidad de Bacteriología Clínica, Grupo de Microbiología e Inmunología. Actualmente en el Grupo de Micobacterias, Instituto Nacional de Salud - Bogotá.

\*\* Jefe Grupo de Microbiología e Inmunología, Instituto Nacional de Salud - Bogotá. Profesor Asociado Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

alcanza "in vivo" según los resultados de resistencia o susceptibilidad. Solo deben utilizarse discos con nombre genérico (3).

La conservación de los discos es crítica ya que de ella depende la confiabilidad de los resultados. Se debe, por lo tanto, tener particular cuidado al respecto siguiendo las indicaciones siguientes: Los recipientes individuales que contienen los discos deben mantenerse refrigerados de 4-5°C. o almacenados a -20°C. hasta que sean utilizados; los discos que contienen drogas de la familia de la penicilina o de las cefalosporinas deben mantenerse siempre congelados, excepción de una pequeña cantidad de discos para el trabajo diario, los cuales pueden mantenerse refrigerados hasta por una semana. Los nuevos recipientes con discos de sensibilidad deben colocarse a temperatura ambiente antes de abrirlos para ponerlos en uso. Los dispensadores que contienen discos para pruebas de susceptibilidad deben almacenarse con un desecante en el refrigerador pero debe permitirse que alcancen la temperatura ambiente antes de ser utilizados. Se debe desechar todo disco cuya fecha de expiración, expresamente puesta por la casa manufacturadora, esté vencida. Los discos deben mantenerse secos hasta que se utilicen.

Las técnicas de antibiogramas por difusión han sido normalizadas para microorganismos de crecimiento rápido, tales como *Staphylococcus* y *Enterobacteriaceae* pero no son confiables cuando se aplican a microorganismos de crecimiento lento, los cuales pueden mostrar zonas de inhibición mucho más grandes que aquéllos de crecimiento rápido. Sin embargo, la total resistencia puede ser significativa; por lo tanto, la prueba de susceptibilidad de microorganismos exigentes en sus requerimientos nutricionales o que necesiten una atmósfera anaeróbica o concentraciones altas de CO<sub>2</sub> o que presenten una tasa de crecimiento particularmente lenta, deben estudiarse con métodos de antibiograma por dilución o específicos como los ya desarrollados y estandarizados de difusión para este tipo de microorganismos (3, 7).

CEPAS CONTROL

Para que los resultados del antibiograma de discos sean realmente confiables es de primordial importancia, además de los aspectos técnicos, introducir un control de calidad interno mediante el uso de las cepas control. Estas son de uso universal, se trata de cepas de *S. aureus*, *E. coli* y *Ps aeruginosa* las cuales tienen un patrón de sensibilidad ya conocido frente a los antimicrobianos (Cuadro No. 1), sensibilidad que debe ser reproducida en cada laboratorio asegurando con ello que el procedimiento empleado está operando en óptimas condiciones (9). Por las anteriores consideraciones, una cepa control de *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) multisensible, debe probarse con el conjunto de discos para gérmenes Gram positivos y una cepa multisensible de *Escherichia coli* (ATCC25922) con el conjunto de discos para microorganismos Gram negativos. Una cepa control de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853) debe ser probada

Cuadro No. 1

SENSIBILIDAD DE LAS CEPAS CONTROL  
ZONA DE INHIBICIÓN EN mm.

ANTIMICROBIANO	POTENCIA DEL DISCO	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Acido Nalidixico	30 mcg	13 - 10	21 - 25	15 - 22
Acido Oxalico	2 mcg	13 - 10	20 - 24	15 - 22
Amikacina	30 mcg	18 - 24	18 - 24	15 - 22
Ampicilina	10 mcg	24 - 35	15 - 20	15 - 22
Carbenicilina	100 mcg	24 - 29	24 - 29	20 - 24
Cefalotina	30 mcg	25 - 37	18 - 23	15 - 22
Cefamandole	30 mcg	28 - 34	24 - 31	15 - 22
Cefotaxima	30 mcg	23 - 28	23 - 28	15 - 22
Cefoxitina	30 mcg	23 - 28	23 - 28	15 - 22
Cilindamicina	2 mcg	23 - 29	15 - 22	15 - 22
Cloxacilina	30 mcg	19 - 26	21 - 27	6 - 12
Colistina	10 mcg	11 - 15	11 - 15	12 - 16
Eritromicina	15 mcg	23 - 30	8 - 14	15 - 22
Gentamicina	10 mcg	19 - 27	19 - 26	16 - 21
Kanamicina	30 mcg	19 - 26	17 - 25	6
Neomicina	30 mcg	18 - 26	17 - 23	15 - 22
Nitrofurantoina	300 mcg	20 - 24	20 - 24	15 - 22
Oxacilina	5 mcg	17 - 22	15 - 22	15 - 22
Penicilina G	10 U	26 - 37	15 - 20	15 - 22
Polimixina B	300 U	7 - 13	12 - 16	11 - 16
Sulfisoxazole	300 mcg	23 - 27	22 - 26	6
Tetraciclina	30 mcg	19 - 28	18 - 25	9 - 14
Trimetoprim-Sulfa	1.25/23.75 mcg	24 - 32	24 - 32	15 - 22
Tobramicina	10 mcg	19 - 29	18 - 26	19 - 25
Vancomicina	30 mcg	15 - 19	15 - 22	15 - 22



con Amikacina, Carbenicilina, Cloranfenicol, Clindamicina, Gentamicina, Kanamicina, Tetraciclina y Tobramicina. Esta cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, tiende frecuentemente a desarrollar mutantes resistentes a la Carbenicilina durante los pases sobre los medios de cultivo en el laboratorio; si esto sucede se debe usar una nueva cepa. Las cepas control deben probarse cada vez que se realicen las pruebas y, el tamaño de los halos de inhibición debe anotarse en una hoja de control de calidad para cada antibiótico (Fig. 1). El diámetro de la zona de inhibición para los microorganismos control debe caer dentro del rango indicado en el cuadro No. 1. Las variaciones en cada uno de los límites deben investigarse y corregirse para asegurar resultados válidos (4).

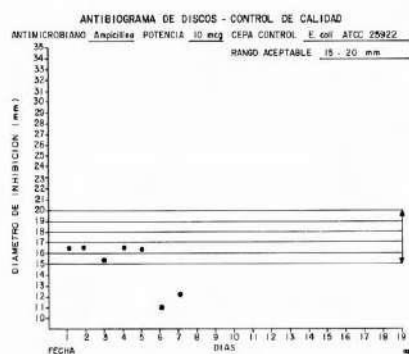


Figura 1

#### ANTIBIOTICOS RECOMENDADOS EN UN ANTIBIOGRAMA

Con el objeto de tener una guía general al realizar un antibiograma se debe seleccionar un número de antimicrobianos para el microorganismo en estudio, ya que no es recomendable, ni lógico, ni económico utilizar todos los antimicrobianos. Como regla general se pueden seleccionar antimicrobianos para microorganismos Gram positivos, y Gram negativos y dentro de estos últimos para microorganismos aislados de tracto urinario y para *Ps. aeruginosa*.

Los antibióticos recomendados para pruebas de susceptibilidad de microorganismos Gram positivos y Gram negativos aparecen en el cuadro 2; la lista debe entenderse como una simple sugerencia (4). En la selección de los antimicrobianos debe tenerse en cuenta los siguientes hechos:

El disco de Penicilina G es representativo de todas las penicilinas G.

El disco de Ampicilina es representativo de todas las aminopenicilinas tales como: Talampicilina, Pivampicilina, Bacampicilina, Hetacilina, Amoxicilina y Epicilina.

El disco de Oxacilina de 5 mcg es representativo de todas las penicilinas resistentes a las Beta-lactamasas tales como: Meticilina, Nafcilina, Cloxacilina, Flucloxacilina y Dicloxacilina, igualmente es representativo de todas las cefalosporinas de primera generación frente a *S. aureus*.

El disco de Cefalotina es representativo de todas las cefalosporinas de primera generación que incluye: Cefaloridina, Cefalexina, Cefradina, Cefazolina, Cefaloglicina, Cefadroxil, Cefacetril, Cefapirina. Las cefalosporinas de segunda y tercera generación deben probarse por separado ya que no hay sensibilidad cruzada entre ellas.

El disco de Tetraciclina es representativo de todas las Tetraciclinas. Los aminoglucosidos aunque íntimamente relacionados tienen variaciones individuales que obligan a probarlos individualmente. Este grupo incluye: Gentamicina, Tobramicina, Amikacina, Kanamicina, Sisomicina y Netilmicina.

Los Macrólidos sólo tienen un representante que es la Eritromicina.

Las Lincomicinas incluyen Lincomicina y Clindamicina. El disco de Clindamicina es representativo y debe incluirse de rutina.

El Cloranfenicol, la Vancomicina y la Nitrofurantoina deben probarse individualmente.

El grupo de las Polimixinas, incluye la Polimixina B y E. Solo una debe probarse usualmente para *Ps. aeruginosa*.

Cuadro No. 2

ANTIBIOGRAMA DE DISCOS  
 GUIA PARA LA SELECCION DE ANTIMICROBIANOS

OPCION	GRAM NEGATIVOS				GRAM POSITIVOS		
	INTESTINAL	URINARIA	SANGRE TEJIDOS	Ps. aeruginosa	Staphylococcus	Streptococcus faecalis (D)	OTROS
PRIMERA	Ampicilina	Acido oxolinico	Amikacina	Carbenicilina	Penicilina G.	Ampicilina	Ampicilina
	Gentamicina	Acido nalidixico	Ampicilina	Amikacina	Oxacilina	Cloranfenicol	Penicilina G
	Cloranfenicol	Norfloxacina	Gentamicina	Gentamicina	Eritromicina	Tetraciclina	Oxacilina
	Trimetoprim-Sulfa	Nitrofurantoina	Cloranfenicol	Tobramicina	Cloranfenicol	Eritromicina	Clindamicina
	Tetraciclina	Sulfisoxazole	Cefamandole	Polimixina B	Clindamicina	Penicilina G	Eritromicina Tetraciclina
SEGUNDA		Ampicilina	Cefoxitina	Colistina	Gentamicina		Gentamicina
		Cloranfenicol	Cefotaxima		Netilmicina		Trimetoprim-Sulfa
		Gentamicina	Kanamicina		Vancomicina		Cloranfenicol

La Carbenicilina y antibióticos relacionados deben probarse para *Ps. aeruginosa* y otros Gram negativos.

El Acido Oxolinico, Acido Nalidixico y la Norfloxacina deben probarse sólo para microorganismos aislados de tracto urinario.

La combinación trimetoprim-Sulfa debe probarse individualmente.

Un disco de Sulfonamida de 300 mcg es representativo de todas las sulfas. El disco de Sulfisoxazole es el más utilizado.

MEDIO DE CULTIVO

Se utiliza el medio de Muller-Hinton, el cual debe prepararse así:

1. Preparar el medio de acuerdo con las instrucciones de la casa manufacturadora.

2. Ajustar su pH a 7.2-7.4 con solución de NaOH 0.1N.
3. Esterilizar en autoclave a una temperatura de 121 °C por 15 minutos.
4. Mantenerlo en baño maría hasta que la temperatura sea de 48-50 °C.
5. Distribuir el medio en cantidad aproximada de 25 c.c. en cajas de Petri de 15 x 150 ml, estériles.

Cuando se van a estudiar microorganismos exigentes tales como *Streptococcus* se debe agregar al medio, antes de distribuirlo en las cajas de Petri, 5% de sangre desfibriada de cordero o conejo. Se debe dejar solidificar y mantenerlo luego a temperatura ambiente por un tiempo prudencial hasta que el exceso de humedad se evapore. Las cajas con el medio, pueden incubarse por 30 minutos a 35 °C. No debe haber gotas de

agua de condensación sobre la superficie de medio o sobre la tapa de las cajas de Petrí. El pH final de cada uno de los lotes del medio de Mueller-Hinton solidificado debe ser 7.2-7.4.

El medio así preparado puede ser utilizado inmediatamente o puede conservarse en refrigeración hasta por dos semanas, siempre y cuando las cajas de Petrí se guarden en recipientes herméticamente sellados para prevenir la evaporación. No se deben utilizar medios secos o envejecidos (3-7).

#### PREPARACION DEL INOCULO

Seleccionar 4 ó 5 colonias del microorganismo en estudio, preferencialmente de un cultivo puro o de un cultivo en que se haya obtenido el aislamiento primario del microorganismo. No utilizar cultivos de más de 24 horas. Transferir estas colonias, simplemente tocando la parte superior de cada una con asa bacteriológica a un tubo que contenga de 3-5 c.c. de caldo estéril de Mueller-Hinton o de Trypticase-soya.

Incubar este cultivo a 35°C. por un tiempo prudencial de 2 a 8 horas hasta que se produzca un crecimiento moderado. Diluir el cultivo con solución salina estéril o caldo estéril hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de McFarland lo cual corresponde aproximadamente a  $10^8$  microorganismos viables por ml (6).

#### ESTANDAR DE TURBIDEZ

Para preparar este estandar añadir 0.5 ml de  $BaCl_2 \cdot 2H_2O$  (1.175%) a 99.5 ml de  $H_2SO_4$  0.36N (1%). Mezclar perfectamente y distribuir en tubos tapa rosaca 13 x 100 en cantidad de 6-8 ml.; sellar herméticamente y almacenarlos en un lugar oscuro a temperatura ambiente. Preparar nuevo estandar cada 6 meses. Para hacer la comparación con el cultivo, se debe agitar el estandar preferiblemente con un agitador tipo vortex (3).

#### SIEMBRA DE LA MUESTRA

1. Sumergir un aplicador de algodón estéril, dentro de la suspensión del

microorganismo en estudio. No usar cultivos sin diluir.

2. Colocar el aplicador por encima del nivel del contenido del tubo y rotarlo contra las paredes del mismo para remover el exceso del inóculo.
3. Sembrar el inóculo uniformemente sobre la superficie del medio con el aplicador. Hacer esta siembra en tres direcciones. Evitar inóculos muy concentrados o muy diluídos.
4. Permitir que la superficie del medio sembrado se seque durante 5-20 minutos, manteniendo la caja con la tapa cerrada.
5. Colocar los discos sobre la superficie del agar con un dispensador o con pinzas estériles; con éstas, presionar los discos ligeramente sobre el agar para asegurar un contacto uniforme.
6. Colocar 6 discos en la periferia y 1 en el centro (Fig. 2) dejando entre disco y disco un espacio uniforme (aproximadamente de 2 cm.); para evitar que las zonas de inhibición queden imbricadas. Colocar los antibióticos que difunden bien en la parte externa y aquellos que producen halos de inhibición pequeña (tales como la Vancomicina, Colistina y Polimixina B) en la parte central.

#### ANTIBIOGRAMA DE DISCOS

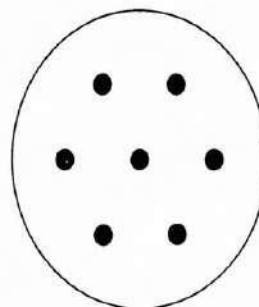


Figura 2

Patrón de distribución de los discos de antibióticos en el medio de cultivo

7. Incubar las cajas inmediatamente o en los próximos 30 minutos a 35°C. No usar temperaturas más altas porque algunas cepas de *Staphylococcus* resistentes a Meticilina pueden no detectarse. No incubar en cámara de CO<sub>2</sub>.
8. Leer las cajas después de 16-24 horas de incubación.

#### MICROORGANISMOS EXIGENTES

Para este tipo de microorganismos se recomiendan técnicas específicas para cada uno de ellos, así:

*Haemophilus influenzae*: Se utiliza el medio de Mueller-Hinton enriquecido con 1% de hemoglobina o 5% de sangre de caballo y 1% de isovitalax (BBL) o suplemento VX (Difco). El inóculo se obtiene a partir del crecimiento de un cultivo de 18 horas. Se emulsiona el cultivo con caldo de Mueller-Hinton a la turbidez necesaria y se siembra como en el caso convencional. No se requiere incubación en CO<sub>2</sub>. Las cepas que producen un halo  $\leq$  de 19 mm frente al disco de Ampicilina o Penicilina G son productoras de Beta-Lactamasa y por tanto no son susceptibles a la Ampicilina (3).

*Neisseria gonorrhoeae*: el antibiograma de discos se ha adaptado para investigar especialmente las cepas de *N. gonorrhoeae* productoras de Beta-lactamasa. Se utiliza medio base GC enriquecido con 1% de isovitalax o suplemento VX, pero no se le agrega hemoglobina. El inóculo se obtiene a partir de un cultivo de 18 horas, se emulsiona en caldo de Mueller-Hinton y se le da la turbidez necesaria. Se inocula en la forma convencional. Se incuba a 35°C. en CO<sub>2</sub>. Zonas  $\leq$  19 mm frente al disco de Penicilina de 10 U son productoras de Beta-lactamasa. Las cepas susceptibles darán zona  $\leq$  20 mm (3).

*Streptococcus pneumoniae*: Hay en la actualidad preocupación por la ocurrencia de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a Penicilina con CIM  $\geq$  2 mcg/ml. Se ha observado que hay cepas con relativa resistencia CIM 0.12 a 1.0 mcg/ml que no respon-

den al tratamiento con Penicilina. Este hecho hace necesario recomendar que cepas aisladas de LCR, sangre u otro líquido orgánico se prueben frente a un disco de Oxacilina de 1 mcg. Se utiliza el medio de Mueller-Hinton enriquecido con 5% de sangre de carnero. El inóculo se obtiene a partir de un cultivo de 18 horas, el cual se emulsiona en caldo de Mueller-Hinton, se ajusta la turbidez al patrón convencional y se siembra en la forma ya mencionada, se coloca un disco de Oxacilina de 1 mcg y se incuba a 35°C por 18 horas. Un halo  $\geq$  20 mm indica susceptibilidad, zonas  $\leq$  19 mm indican resistencia (3).

#### MEDICION DE LOS HALOS DE INHIBICION

Medir la zona de inhibición de cada disco contra una superficie oscura bajo luz reflejada. Medir el diámetro de la zona incluyendo los 6 mm del disco, con una regla sobre el respaldo de la caja de Petri sin remover la tapa. Una lectura de 6 mm indica que no hay zona de inhibición. Si se ha usado agar sangre para la prueba, la medición de la zona de inhibición debe hacerse sobre la superficie removiendo la tapa de la caja.

El punto final de inhibición completa del crecimiento se estima a simple vista, excepto para las sulfonamidas y para algunas especies de *Proteus*.

Con las sulfonamidas puede ocurrir un discreto crecimiento en la zona de inhibición, debido a que algunos microorganismos crecen por algunas generaciones antes de que la acción de la sulfonamida tenga lugar y debido también, al hecho de que el medio de Mueller-Hinton contiene Timidina la cual inhibe la actividad de la sulfonamida.

Las cepas de *Proteus mirabilis* y *Proteus vulgaris* pueden crecer dentro de los halos de inhibición alrededor de ciertos agentes antimicrobianos. Sin embargo, la zona de inhibición está usualmente bien delimitada y este tipo de crecimiento invasivo, debe ser ignorado.

Si se necesita un resultado muy rápido, el diámetro de la zona de inhibición puede leerse después de 6-8 horas de incubación pero estas lecturas deben confirmarse posteriormente, al término del período de incubación de 18 horas.

#### INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Los resultados obtenidos deben interpretarse de acuerdo con el cuadro N°. 3. En la interpretación de tales resultados es necesario tener en cuenta lo siguiente:

El diámetro de las zonas obtenido con aminoglucósidos depende del medio utilizado, debido a la variación del contenido de cationes y depende de la calidad del medio de Mueller-Hinton que ofrecen las casas productoras. Los rangos de interpretación son los siguientes:

	Resistente	Indeterminado	Sensible
Amikacin	11 mm	12-15 mm	16 mm
Gentamicina	12 mm	13-16 mm	17 mm
Tobramicina	12 mm	13-16 mm	17 mm

Las variaciones debidas a la influencia del medio son mucho más marcadas con la *Pseudomonas aeruginosa*; por lo tanto, la zona indeterminada se basa sobre la medida del diámetro de la zona que se tenga con la cepa control de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) y es de 3 a 6 mm menos que cada medida. Por ejemplo, si el diámetro medio de la cepa control es de 19 mm la interpretación debe ser  $\leq$  a 12 mm para cepas resistentes, 13-16 mm para cepas indeterminadas y  $\geq$  17mm para cepas susceptibles, estas interpretaciones estandar son tentativas, 7.

El disco para ampicilina, es representativo de Hetacilina y Amoxicilina. De las penicilinas resistentes a las penicilinasas el disco clásico es la *Meticilina* y sus resultados son aplicables a: Cloxacilina, Dicloxacina, Oxacilina, Nafxilina. La Oxacilina y la Nafxilina son sin embargo, más resistentes a degradarse durante el período de almacenamiento. Los discos de Cloxacilina no deben usarse debido a que ellos no captan las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilina.

Cuadro No. 3

#### ANTIBIOGRAMA DE DISCOS INTERPRETACION DE RESULTADOS

ANTIMICROBIANO	Disco (mcg)	Zona inhibición (mm)			OBSERVACIONES
		R <sub>1</sub>	I	S <sub>2</sub>	
Acido Nalidixico	30	13	18 - 14	19	Infección urinaria
Acido Oxolinico	2				Infección urinaria
Amikacina	10	11	12 - 13	14	
Ampicilina	10	11	12 - 13	14	Enterococos y Enterococo
Ampicilina	10	20	21 - 28	29	<i>Staphylococcus</i> y otros
Ampicilina	10	19		20	Penicilinas G
Carbaceilina	100	17	18 - 22	23	<i>Haemophilus</i>
Carbaceilina	100	13	14 - 16	17	<i>Proteus</i> y <i>E. coli</i>
Cefalotina	30	14	15 - 17	18	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Cefamandole	30	14	15 - 17	18	
Cefotaxima	30				
Cefoxitina	30	14	15 - 17	18	
Cindamicina	2	14	15 - 16	17	
Cloranfenicol	30	12	13 - 17	18	
Colistina	10	8	9 - 10	11	Infección urinaria
Eritromicina	15	13	14 - 17	18	
Gentamicina	10	12	13 - 14	15	
Kanamicina	30	13	14 - 17	18	
Neomicina	30	12	13 - 16	17	
Nitrofurantoina	300	14	15 - 18	17	Infección urinaria
Oxacilina	5	10	11 - 12	13	
Penicilina G	10 U	20	21 - 28	9	<i>Staphylococcus</i>
Penicilina G	10 U	11	12 - 21	22	Otros microorganismos
Polimixina B	300 U	8	9 - 11	12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Sulfisoxazole	300	12	13 - 16	17	
Tetraciclina	30	14	15 - 18	19	
Trimetoprim - Sulfa	10/250	10	11 - 15	19	
Tobramicina	10	11	12 - 13	14	
Vancomicina	30	9	10 - 11	12	

R = Resistente I = Intermedia S = Sensible

Los datos de susceptibilidad para el Acido Nalidico, Acido Oxolinico, Colistina, Nitrofurantoina y Sulfas diferentes a Trimetorm-Sulfa son válidos solamente para microorganismos aislados del tracto urinario.

Algunos microorganismos tales como enterococos y bacilos Gram negativos que pueden causar infecciones sistémicas responden a dosis altas de penicilina G, la sensibilidad debe interpretarse según la tabla incluida.

El disco de Cefalotina debe usarse para probar la susceptibilidad de todos los tipos de Cefalosporinas de primera generación, están incluidas en este grupo Cefalotina, Cefaloridina, Cefalexina, Cefazolina, Cafacetil, Cefradina y Cefapirina entre otras. Las cepas

invalidando el procedimiento(7). La siguiente lista incluye algunos de los errores más frecuentes que el laboratorio de Bacteriología Clínica debe evitar:

1. Utilización de un medio diferente al de Mueller-Hinton.
2. Preparación incorrecta del medio de Mueller-Hinton, particularmente en lo que se refiere a la determinación del pH.
3. Uso de medios con fecha de expiración vencida o uso de medio incorrectamente almacenado.
4. Preparación incorrecta y almacenamiento incorrecto del estandar de turbidez.
5. Almacenamiento incorrecto de los discos.
6. Inadecuada estandarización de la concentración del inóculo.
7. Omisión de eliminar el exceso de cultivo contenido en el aplicador antes de inocular el medio sólido.
8. Demora excesiva en la estandarización del cultivo o demora en la inoculación del medio sólido.
9. Demora excesiva en la aplicación de los discos después de haber hecho la inoculación en el medio sólido.
10. Demora excesiva en la incubación del medio después de haber sido puestos los discos.
11. Incubación a temperatura diferente de 35°C e incubación en atmósfera de CO<sub>2</sub>.
12. Lectura prematura de los resultados antes de un período de incubación de 16-18 horas.
13. Lectura incorrecta en la medición de los bordes de la zona de inhibición por incorrecta iluminación.
14. Lecturas hechas sin reglilla de medición.

15. Pruebas hechas con cultivos mixtos.

16. Realización de antibiogramas con microorganismos de crecimiento lento o anaeróbico.

17. Omisión de los controles de calidad con las cepas control y omisión de anotar los resultados de estas cepas control.

18. Error en la transcripción de los resultados de las pruebas individuales.

#### PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD DIRECTA EN MATERIAL CLINICO

La inoculación directa sobre medios para pruebas de susceptibilidad puede en ocasiones suministrar información preliminar invaluable en aquellos problemas de infección clínica que constituyen emergencia, por ejemplo se pueden realizar pruebas directas de muestras de urgencia sembradas sobre el medio en casos como LCR y otros líquidos corporales o material purulento, si la coloración de Gram indica la presencia de un número suficiente de bacterias o si se supone que un sólo tipo de microorganismo va a crecer. Sin embargo, debe evitarse realizar pruebas de sensibilidad de rutina sobre muestras clínicas directas.

La mezcla de microorganismos, muy común en nuestras clínicas, ofrece resultados incorrectos. Por otra parte, es muy difícil estandarizar la concentración de un inóculo en una muestra clínica directa. Los resultados de estos estudios de sensibilidad deben tomarse como resultados preliminares o tentativos y deben repetirse y confirmarse por uno de los procedimientos estandar recomendados.

Cuando las pruebas de inoculación directa no son satisfactorias se puede obtener una valiosa información preliminar haciendo una lectura de las pruebas de sensibilidad hechas en forma regular después de 5 a 6 horas de incubación a 35°C. Cuando esto se hace la prueba debe volverse a reincubar y leerse nuevamente después de un período de incubación de 16 a 18 horas (3, 6).

UTILIDAD EPIDEMIOLOGICA

Además de la utilidad que el antibiograma tiene en el manejo clínico individual, tiene la adición de permitir la vigilancia de resistencia que puede captarse para así establecer algunas medidas tendientes a controlarla (10). También conduce a definir sensibilidad de géneros y especies y la estabilidad de tal sensibilidad, lo cual permite al médico definir criterios de antibioterapia para tales microorganismos sin tener que recurrir sistemáticamente a la realización de antibiogramas (11).

Aspectos Especiales

En la interpretación de los resultados de inhibición, cuando estos caen en el rango intermedio (I), se debe tener en cuenta que no puede afirmarse que la cepa sea resistente (R), o sensible (S); si el antibiótico en cuestión es una alternativa importante en el manejo terapéutico del paciente, deberá hacerse antibiograma por dilución para dilucidar si el microorganismo es o no sensible.

NOTA: En algunas tablas que aparecen en este trabajo no están incluidos los datos de diámetros de sensibilidad para los antimicrobianos recientemente introducidos, ello se debe a que oficialmente no han sido incorporados en los manuales de referencia.

BIBLIOGRAFIA

1. Patiño JF. Guía para el uso de antibióticos en cirugía. Fundación OFA para el avance de las ciencias biomédicas. Bogotá, 1983.
2. Statement Regarding Worldwide Antibiotic Misuse. In: Molecular Biology, Pathogenicity and Ecology of Bacterial Plasmids. Edited by

Levy, Clowes and Koenig. Plenum Press. 1981, 145-155, New York.

3. National Committee on Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. Approved Standard ASM-2 Villanova, Pa. 1975.
4. Guidelines for Antimicrobial Susceptibility Testing. World Health Organization. Lab./79. 3.1: 979.
5. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 1966, 45: 493.
6. Acar JF. The disc susceptibility test. Chapter 2 in: Antibiotics in Laboratory Medicine pp. 24-25 Williams and Wilkins. Baltimore-London. 1980.
7. Thornsberry C, Gavan TL, Gerlach EH. New developments in antimicrobial agent susceptibility testing, Cumitech 6. American Society for Microbiology. 1977, Washington, D.C.
8. Thornsberry C. Hawkins. T.M. Agar disc diffusion susceptibility testing procedure. US Department of Health, Education and Welfare Public Health Service. Center for Disease Control Atlanta, Georgia 30333, 1977.
9. Coyle MB, Lampe MF, Aitkin CL, Feigl P, Sherris JC. Reproducibility of control Strains for Antibiotic susceptibility Testing. Antimicrob. Agents Chemother. 1976; 10: 436-440.
10. O'Brien TF, Acar JF, Medeiros A, Norton Ra, Goldstein F, Kent RL. International Comparison of Prevalence of Resistance to Antibiotics.
11. Bozón E, Guzmán MA, Guevera M, Aguilera A. Estudio comparativo entre la acción de un nuevo aminoglucósido (Netilmicina) y la de nueve antibióticos de uso común sobre cepas bacterianas colombianas. Biomédica 1982; 2: 163-171 (Bogotá).