

Ensayo de la actividad antimicrobiana de *Pluchea carolinensis* (salvia de playa)

Celso Pérez, Yaisme Balcinde, Carmen Suárez*, Vania Hernández*, Alina Falero, Blanca Rosa Hung.

Dpto. de Procesos Biotecnológicos, Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). Avenida 25 y 158, Apartado Postal 6414, Cubanacán, Playa, Ciudad de La Habana. Correo electrónico: celso.perez@cnic.edu.cu * Dpto. de Microbiología, Hospital Clínico-Quirúrgico "Joaquín Albarrán". Avenida 26 y Avenida Independencia, Puentes Grandes, Ciudad de La Habana. Cuba.

Recibido: 19 de septiembre de 2006. Aceptado: 5 de diciembre de 2006.

Palabras clave: *Pluchea carolinensis*, actividad antimicrobiana, fitoterapia, antibióticos.
Key words: *Pluchea carolinensis*, antimicrobials, phytotherapy, antibiotics.

RESUMEN. La fitoterapia de diversas enfermedades que afectan al hombre y los animales incluye toda una amplia variedad de preparados vegetales que tradicionalmente han demostrado ser efectivos. Una de las plantas más empleadas por la farmacopea popular en Cuba es *Pluchea carolinensis* o salvia de playa. Diversos autores han reportado propiedades de esta planta como anti-inflamatoria y anti-pirética, antialérgica, hepatoprotectora, antitrombótica, antineoplásica, antiulcerosa, estrogénica, antidiabética, expectorante, anti-hemorrágica y diurética. El presente trabajo tuvo como objetivos indagar en la posible actividad antimicrobiana de esta planta. Un estudio preliminar *in vitro* de diferentes fracciones de extractos de hojas de *Pluchea carolinensis* demuestra que es capaz, no solamente de inhibir el crecimiento de cepas patógenas de colección, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterobacter faecalis* ATCC 2912 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27851, cepas de micobacterias como *Mycobacterium fortuitum* ATCC 6842 y *Mycobacterium* sp. B3683 y MB 3683, sino también, de aislamientos clínicos de *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. y *Pseudomonas* sp., realizados a partir de pacientes portadores de patologías del tracto respiratorio. Las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (MIC) corresponden a los 100 mg/mL para las cepas tipo *E. faecalis* ATCC 2912 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y las micobacterias *Mycobacterium* sp. MB3683 y *Mycobacterium fortuitum* ATCC6842, siendo de 10 mg/mL para *Mycobacterium* sp. B3683. Los valores para *Pseudomonas* sp. 2043 y *Escherichia coli* 2072 alcanzaron los 100 mg/mL, mientras que para *Klebsiella* sp. 2065 fue de 1,0 mg/mL. Solo para el aislamiento *Klebsiella* sp. 2240 los valores de MIC fueron los más pequeños, de 0,1 mg/mL. Estos aislamientos clínicos poseen resistencia múltiple a antibióticos, por lo que los resultados indican que *Pluchea carolinensis* pudiera brindar una solución alternativa a la terapia con antibióticos, establecida en la medicina actual.

ABSTRACT. The phytotherapy of various maladies affecting humans and animals includes a wide variety of plant preparations, traditionally effective. In Cuba, one of the most popular plants in pharmacopeia is *Pluchea carolinensis* (beach sage). Various authors have reported this plant as anti-inflammatory, anti-pyretic, anti-allergic as well as liver-protector, anti-trombotic, anti-neoplastic, anti-ulcer, estrogenic, anti-diabetic, expectorant anti-bleeding and diuretic. The goal of the current work is to search possible antimicrobial activity of this plant. An *in vitro* study of different fractions of fresh leaves extracts of *Pluchea carolinensis* has demonstrated growth inhibition, not only of culture collection strains of pathogenic bacteria, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterobacter faecalis* ATCC 2912 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27851 and mycobacteria, *Mycobacterium fortuitum* ATCC 6842 y *Mycobacterium* sp. B3683 and MB 3683 but also of clinical isolates: *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp. and *Pseudomonas* sp., from patients having pathologies of the respiratory tract. The Minimal Inhibitory Concentrations (MIC) for *E. faecalis* ATCC 2912 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, as well as for *Mycobacterium* sp. MB3683 and *Mycobacterium fortuitum* ATCC6842 were 100 mg/mL, being 10 mg/mL for *Mycobacterium* sp. B3683. For *Pseudomonas* sp. 2043 and *Escherichia coli* 2072 the MICs were 100 mg/mL, whereas for *Klebsiella* sp. 2065 was 1.0 mg/mL. In contrast, MIC for the isolate *Klebsiella* sp. 2240 was 0.1 mg/mL. Since these isolates have shown multi resistance to antibiotics, the above results suggest

that *Pluchea carolinensis* might be used as an alternative way to current medical antibiotic therapy.

INTRODUCCION

Pluchea carolinensis (Jacq.) G. Don, *Asteraceae* o salvia de playa es una planta muy utilizada en la medicina tradicional en muchas regiones del mundo, debido fundamentalmente a sus propiedades anti-inflamatorias y febrífugas.¹ En Cuba ha sido utilizada como anticatarral, analgésico y antipirético, además de otras aplicaciones.²⁻⁴ Ha sido demostrado su efecto como analgésico y anti-inflamatorio en ratas.⁵ Por otra parte, el tamizaje fitoquímico ha sido positivo para esteroides, flavonoides, glucósidos y triterpenos, aceites esenciales, taninos y alcaloides.⁶ Muchos de sus efectos farmacológicos se le atribuyen a los flavonoides, compuestos relativamente abundantes en la planta.^{7,8} Además, es conocido que muchas de estas sustancias presentes en las plantas sirven como mecanismo de defensa contra microorganismos, insectos y herbívoros.⁹ Ha sido reportada la actividad antibacteriana en extractos de raíz de *Pluchea indica*, una especie afín, así como el aislamiento e identificación de compuestos responsables de tal actividad.¹⁰ Sin embargo, *Pluchea carolinensis* no es conocida en general por sus propiedades antimicrobianas.

La resistencia a antibióticos se ha generalizado en microorganismos causales de las enfermedades más comunes que afectan al hombre (por ejemplo, las diarreas y del tracto

respiratorio, meningitis e infecciones de transmisión sexual). Estos microorganismos incluyen *Streptococcus pneumoniae* resistentes a penicilina, *Enterococci* resistentes a vancomicina, *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina, *Salmonella* y *Mycobacterium tuberculosis* multi-resistentes. A esto se añade el desarrollo de la resistencia a drogas utilizadas en el tratamiento de la malaria, así como la resistencia emergente a drogas anti-HIV.¹¹ El presente trabajo tuvo como objetivos investigar la acción antimicrobiana de *Pluchea carolinensis*, con el fin de incorporar esta planta a la estrategia del tratamiento de enfermedades que muestran resistencia generalizada a los antibióticos empleados en la medicina actual.

MATERIALES Y METODOS.
Material vegetal

El material vegetal consistió de hojas frescas de plantas jóvenes de *Pluchea carolinensis* (salvia de playa), colectado en la estación de lluvia en los jardines del Centro Nacional de Investigaciones Científicas.

Cepas de microorganismos

Cepas bacterianas de colección: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27581, suministradas por la Dirección de Diagnóstico Microbiológico del Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). Cepas de *Mycobacterium fortuitum* ATCC 6842, *Mycobacterium* sp. B3683 y MB 3683, radicadas en la colección del Laboratorio de Microbiología del CNIC. Aislamientos clínicos con resistencia múltiple a antibióticos, realizados a partir de pacientes portadores de patologías en el tracto respiratorio: *Escherichia coli* 2072, *Klebsiella* sp. 2240, *Klebsiella* sp. 2065, *Pseudomonas* sp. 2043, Laboratorio de Microbiología del Hospital Clínico-Quirúrgico “Joaquín Albarrán”. Los patrones de resistencia a diferentes antibióticos de estos aislamientos se muestran en la Tabla 1.

Medios de cultivo

Medio NB,¹² con la siguiente composición, por L: caldo nutritivo (OXOID), 8 g; extracto de levaduras (OXOID), 1 g; Glicerol (Merck), 5 g. En el caso de las micobacterias, se añadió Tween 80 (Merck), 1 g. Para la preparación de los medios sólidos se añadió Agar No. 3 (OXOID), 20 g.

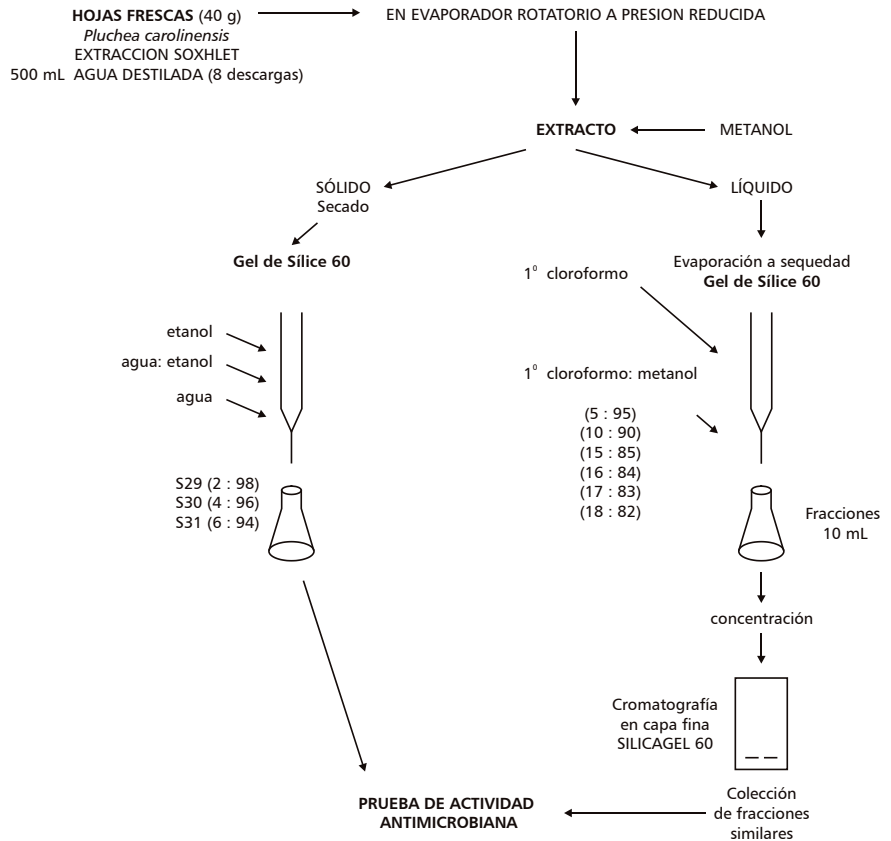


Fig. 1. Esquema de fraccionamiento de hojas de *Pluchea carolinensis*.

Tratamiento del material y obtención de las diferentes fracciones

Todos los extractos fueron preparados a partir de hojas, secadas previamente en horno a 50 ° C, durante 48 h y reducidas a polvo. Los ensayos iniciales de actividad antimicrobiana fueron realizados en suspensiones acuosas o etanólicas, 10 % (p/v). Las suspensiones acuosas fueron obtenidas mediante esterilización en autoclave, 20 min, 1 atmósfera, en tanto que las alcohólicas fueron extraídas con etanol absoluto durante 48 h a temperatura ambiente, evaporadas a 50 ° C y resuspendidas en igual volumen de agua destilada. Adicionalmente, se preparó un esquema de fraccionamiento (Fig. 1) a partir de 40 g del polvo. Todas las fracciones eluidas fueron ensayadas para la actividad antimicrobiana, luego de resuspender en 1 mL de agua destilada estéril.

Ensayos de actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de los extractos vegetales fue ensayada mediante el método de difusión en agar.¹³ Los microorganismos fueron crecidos previamente en medio líquido NB, 20 mL, a 37 ° C durante 24 h, con agitación en zaranda orbital, 200 r/min. Aproximadamente

10⁶ UFC (unidades formadoras de colonias) de cada una de las cepas o aislamientos clínicos fueron sembradas previamente en césped sobre placas NB. Posteriormente, discos de papel de filtro, embebidos con 20 µL de cada uno de los extractos fueron colocados sobre las placas. Luego de 24 h de incubación a 37 ° C, las placas fueron examinadas visualmente para evaluar la presencia de halos de inhibición de crecimiento. Los diámetros de los halos de inhibición mayores que 6 mm fueron considerados como respuesta positiva de actividad antimicrobiana.¹³ No se incluyeron controles con antibióticos, por cuanto los antibióticos deben producir halos de inhibición de crecimiento mucho mayores respecto a los extractos donde los principios activos deben estar muy diluidos.

RESULTADOS

Fraccionamiento preliminar y actividad antimicrobiana.

En general, para aplicaciones curativas, la farmacopea recomienda la decocción acuosa del material vegetal fresco al 5 % (p/v).¹⁴ En este estudio, se trabajó con el material secado, según se describe en *Materiales y Métodos*. Los ensayos iniciales de la actividad antimicrobiana

Tabla 1. Patrones de resistencia a antibióticos de aislamientos clínicos.

Aislamiento	Origen	Resistencia
<i>Escherichia coli</i> 2072	Secreción purulenta vías respiratorias	CRO, CB, S, STX, CIP, CAZ, GEN, AMP
<i>Klebsiella sp.</i> 2240	Secreción traqueal	CRO, CB, S, STX, CIP, CAZ, GEN, AMP, CTX, CD
<i>Klebsiella sp.</i> 2065	Secreción traqueal	CRO, CB, S, STX, CIP, CAZ, GEN, AMP, CTX, CD
<i>Pseudomonas sp.</i> 2043	Secreción traqueal	CRO, CB, SXT, CIP, CAZ, GEN, AMP, CTX, CD

CAZ (Ceftazidina) 30 µg; CRO (Ceftriazone, ROSEPHIM) 30 µg; CB (Carbenicilina) 100 µg; CTX (Cefotaxina) 23 µg; S (Estreptomicina) 10 µg; CIP (Ciprofloxacina) 21 µg; GEN (Gentamicina) 10 µg; AMP (Ampicilina) X µg; CD (Cefaloridina) ≥18 µg; STX (Sulfaprim) 10 µg.

de extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Pluchea carolinensis* indicaron que la respuesta es positiva en ambos casos. Estos resultados iniciales fueron utilizados en el diseño del fraccionamiento seguido (Fig. 1). El diseño incluyó además de etanol, metanol y cloroformo. Estos disolventes deben favorecer *a priori* la extracción de los principios activos, debido a su naturaleza orgánica. De las seis fracciones procedentes de la fase líquida, solo S26 mostró actividad contra cepas tipo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27581, mientras que S27 lo hizo solamente contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27581.

Por otra parte, la actividad antimicrobiana de las fracciones derivadas de la fase sólida (Fig. 1) que fueron obtenidas variando las proporciones agua : etanol, resultó notable (Tabla 2). Tales fracciones, designadas como S29, S30 y S31 mostraron una respuesta positiva en prácticamente todas las cepas de colección ensayadas, incluyendo los aislamientos clínicos *Escherichia coli* 2072, *Klebsiella sp.* 2065, *Pseudomonas sp.* 2043, por lo

que se decidió continuar con ellas y desechar las fracciones derivadas de la fase líquida en la extracción inicial. Las proporciones agua : etanol correspondientes a las fracciones S29, S30 y S31 fueron (2 : 98), (4 : 96) y (6 : 94), respectivamente.

De acuerdo con estos resultados, aparentemente la extracción de principios activos con agua : etanol resulta más eficiente que la de cloroformo : metanol.

Estimación preliminar de las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC).

De las tres fracciones S29, S30 y S31, se eligió la fracción S29 para la determinación de la MIC como representativa, ya que la respuesta a la inhibición del crecimiento es mayor en este caso (Tabla 2). La fracción S29 fue evaporada a sequedad y el sólido residual pesado y resuspendido en agua destilada, a una concentración de 100 mg/mL. A partir de esta suspensión inicial fueron preparadas diluciones seriadas para los ensayos de determinación de la MIC, tanto las cepas tipo de colección como los aislamientos clínicos (Tabla 3), según el método de difusión en agar. Se observó que aparentemente las

MIC correspondieron a los 100 mg/mL para las cepas tipo *E. faecalis* ATCC 29212 y *S. aureus* ATCC 25923 y las micobacterias *Mycobacterium sp.* MB3683 y *Mycobacterium fortuitum* ATCC 6842, siendo 10 mg/mL para *Mycobacterium sp.* B3683. En cuanto a los aislamientos clínicos, la respuesta fue variable. Para *Pseudomonas sp.* 2043 y *Escherichia coli* 2072 alcanzó los 100 mg/mL, mientras que para *Klebsiella sp.* 2065 fue de 1.0 mg/mL. Solo para el aislamiento *Klebsiella sp.* 2240 la MIC fue la más pequeña, de 0,1 mg/mL.

DISCUSION

El efecto positivo de *Pluchea carolinensis* en el tratamiento de úlceras de la piel sugiere, entre otras razones, la presencia en esta planta de compuestos con posible actividad antimicrobiana. Si bien muy preliminares, los resultados experimentales indican que las hojas de esta planta deben contener tales compuestos. De hecho, han sido aislados, identificados y purificados cuatro compuestos a partir de extractos metanólicos de raíces de *Pluchea indica*, una especie cercana, con marcada actividad antimicrobiana tanto sobre bacterias Gram (+) como

Tabla 2. Actividad antimicrobiana de fracciones de *Pluchea carolinensis*.*

Fracción	Cepa									
	ATCC 25922	ATCC 27851	ATCC 25923	ATCC 29212	ATCC 6842	B3683	MB3683	2072	2065	2043
S 29	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
			(12)	(14)	(14)	(12)	(16)	(8)	(8)	(8)
S 30	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
			(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
S 31	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
			(10)	(10)	(12)	(10)	(10)	(8)	(10)	(8)

* 20 µL de cada uno de los extractos vegetales son colocados en discos de papel de filtro, sobre placas NB, previamente sembradas con césped de células, aproximadamente 10⁶ UFC e incubados a 37 °C durante 24 - 48 h. + y - . Presencia y ausencia de halo de inhibición de crecimiento, respectivamente. Los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento (mm) representan el promedio de dos determinaciones independientes.

Tabla 3. Actividad antimicrobiana de fracciones de *Pluchea carolinensis*.*

Extracto mg/mL	Cepa								
	ATCC 29212	ATCC 25923	B3683	MB3683	ATCC 6842	2240	2072	2065	2043
100	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	(8.0)	(8.0)	(10.0)	(10.0)	(8.0)	(10.0)	(8.0)	(10.0)	(8.0)
10	-	-	+	-	-	+	-	+	-
			(8.0)			(10.0)		(8.0)	
1.0	-	-	-	-	-	+	-	+	-
						(10.0)		(8.0)	
0.1	-	-	-	-	-	+	-	-	-
						(10.0)			

* 20 µL de cada uno de los extractos vegetales son colocados en discos de papel de filtro, sobre placas NB, previamente sembradas con césped de células, aproximadamente 10⁸ UFC e incubados a 37 °C durante 24 - 48 h. + y -. Presencia y ausencia de halo de inhibición de crecimiento, respectivamente. Los diámetros de los halos de inhibición de crecimiento (mm) representan el promedio de dos determinaciones independientes.

Gram (-).¹⁰ En el caso que se aborda, la acción antimicrobiana *in vitro* de los extractos de hojas de *Pluchea carolinensis* parece ser igualmente efectiva contra ambos tipos de bacterias patógenas, así como contra células de micobacterias. Esto sugiere igualmente un mecanismo de acción general e independiente de la composición de la pared bacteriana.¹⁵ Los resultados más interesantes corresponden a su efectividad contra los aislamientos clínicos de vías respiratorias *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp. y *Escherichia coli*, todos con una marcada multiresistencia a antibióticos (Tabla 1). En principio, el esquema de fraccionamiento (Fig. 1) permite la extracción de fracciones que pueden servir como punto de partida para un posterior ensayo de aislamiento de compuestos activos.

Las MIC del extracto etanólico S29 mostraron cierta variabilidad, en las diferentes cepas y aislamientos clínicos (Tabla 3). Las MIC observadas en el presente estudio, se mueven en un intervalo amplio, entre 0,1 y 100 mg/mL, y son inferiores a los reportados para *Pluchea indica*.¹⁰ Biswas y cols. reportaron valores entre 1 y 2 mg/mL utilizando extractos de raíces en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, entre otras, lo que puede estar relacionado en el caso estudiado con la baja concentración de los compuestos presentes en las hojas. Es conocido que las raíces de las plantas son órganos de reserva, en los que determinados metabolitos pueden ser encontrados en mayores concentraciones con respecto a órganos aéreos como las hojas. Evidentemente, un estudio más completo de la acción antimicrobiana e identificación de principios activos de *Pluchea carolinensis* debe incluir el estudio de

los extractos de la raíz de la planta. Sin embargo, teniendo en cuenta que la utilización de las hojas como medicina natural es generalizada en Cuba, estos resultados deben ser tomados en cuenta.

El hecho de que los extractos mostraran actividad contra las cepas de micobacterias sugiere la posibilidad de ensayarlos en aislamientos clínicos de *Mycobacterium tuberculosis*, resistentes a antibióticos.¹⁶ *Pluchea carolinensis* pudiera ser una fuente alternativa para el aislamiento de compuestos efectivos en la terapia de esta enfermedad. Los resultados anteriores no permiten descartar la actividad bacteriostática en los extractos de esta planta, ya que no se hicieron controles de viabilidad de los microorganismos ensayados, posteriores a los tratamientos.

CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos de hojas de *Pluchea carolinensis* (salvia de playa) exhiben una actividad antimicrobiana contra ciertas cepas de colección de microorganismos patógenos, así como en aislamientos clínicos con resistencia múltiple a antibióticos.

Un esquema de fraccionamiento de mezclas de disolventes permitió obtener extractos con actividad antimicrobiana, lo que indica la presencia de principios activos en esas fracciones y posibilita el aislamiento y posterior purificación de los compuestos respectivos.

Se establecieron las concentraciones mínimas inhibitorias de fracciones etanólicas de *Pluchea carolinensis* para diferentes microorganismos patógenos, incluyendo micobacterias y aislamientos clínicos, resistentes a antibióticos.

AGRADECIMIENTOS

A Maria Emilia Hervé, Edelvis Lightbourne, Belinda Águila y Elena Martí, por la asistencia técnica en la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. Firshein R.N. La Revolución de los Farmanutrientes. Ed. Algaba, EDAF, Madrid, 2000.
2. Roig J.T. Plantas medicinales aromáticas o venenosas de Cuba. Ed. Científico Técnica, La Habana, 831, 1988.
3. Figueroa V., Lama J. Las plantas de nuestro huerto 1. Condimentosas y medicinales. Ed. Proyecto Comunitario Conservación de Alimentos, La Habana, 2000.
4. Balick, M.J., Kronenberg F., Ososki A.L., Reiff M., Fugh-Berman A., O'Connor B., Roble M., Lohr P. and Atha D. Medical plants used by Latino healers for woman's health conditions in New York City. **Economic Botany**, **54**, 344, 2000.
5. Rosales V.P., Gross M.C., Rosales R.A., García R.C., León J.E. y Vidal M. Evaluación farmacológica de *Pluchea carolinensis* Jacq. (salvia de playa) en animales de experimentación. **Rev. Cubana Plant. Med.**, **3**, 65, 1999.
6. Beyra Á., León M.C., Iglesias E., Ferrándiz D., Herrera R., Volpato G., Godínez D., Guimaraes M., Álvarez R. Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey (Cuba). **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, **61**, 185, 2004.
7. Miksicek R.I. Commonly occurring plant flavonoids have estrogenic activity. **Mol. Pharmacol.**, **44**, 37, 1993.
8. Beil W., Birkholz C. and Sewing K. Effects of flavonoids on parietal cell and secretion gastric mucosal prostaglandin production and *Helicobacter pylori* growth. **Drug. Res.**, **45**, 697, 1995.
9. Murphy M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical Microbiology Reviews**, **12**, 564-582, 1999.

10. Biswas R., Dasgupta A., Mitra A., Roy S. K., Dutta P.K., Achari B., Dastidar S. G. and Chatterjee T.K. Isolation, purification and characterization of four pure compounds from the root extract of *Pluchea indica* (L.) Less and the potentiality of the root extract and the pure compounds for antimicrobial activity. **Eur. Bull. Drug. Res.**, **13**, 63, 2005.
11. Antimicrobial resistance. WHO Media Centre. Fact sheet No. 194. Revised January 2002. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/> [Consultado: 22 de noviembre de 2006].
12. Wovcha M.G., Antosz F.J., Fright J.C., Kominek L.A. and Pyke T.R. Bioconversion of sitosterol to useful steroidal intermediates by mutants of *Mycobacterium fortuitum*. **Biochim. Biophys. Acta**, **531**, 308, 1978.
13. Técnicas de comprobación de actividad terapéutica de las plantas medicinales. http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/comprobacion_de_la_actividad_terapeutica_de_las_plantas.pdf [Consultado: 19 de septiembre de 2006].
14. Farmacia Práctica de Remington, Cap. 24, 2 Edición, Ed. Revolucionaria, 327, 1965.
15. Newton, B.A. Mechanisms of Antibiotic Action. **Ann. Rev. Microbiology**, **19**, 209, 1965. <http://arjournals.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.mi.19.100165.001233> [Consultado: 18 de septiembre de 2006].
16. Quinn M. Bacterial Resistance to Antibiotics in *Mycobacterium tuberculosis*. staff.jccc.net/pdeccl/bio205/webct/projectssp05/Quinn/antibacterial.html [Consultado: 22 de noviembre de 2006].

3^{er} SIMPOSIO INTERNACIONAL DE MEDIO AMBIENTE

Centro de Investigaciones del Ozono



Centro Nacional de Investigaciones Científicas



Estimados colegas:

El Centro de Investigaciones del Ozono tiene el gusto de invitarle a participar en el 3.º Simposio Internacional de Medio Ambiente, el cual tendrá como sede La Habana, Cuba, del 7 al 10 de julio de 2008. Este encuentro será un marco propicio para intercambiar sobre temas de actualidad y de gran repercusión internacional relacionados con el medio ambiente, la calidad, la energía renovable y la economía ambiental.

El Simposio será organizado en conferencias magistrales, debates e intercambios orales.

Presidente Comité Organizador: Dr. Tomás Moreira Hernández

Secretaría Comité Organizador: Dra. Matilde López Torres

Secretaría Comité Científico: Dra. María del Carmen Espinosa Lloréns

Temas: Tratamiento de aguas, aguas residuales y residuos sólidos.

Energía renovable a partir de residuos.

Gestión ambiental y calidad.

Economía y medio ambiente.

Cuotas de inscripción: Delegados: 300,00 CUC
Acompañantes: 60,00 CUC

Fechas toques importantes: Inscripción y recepción de resúmenes: hasta 25 de enero de 2008.
Recepción de los trabajos completos: hasta 25 de marzo de 2008.

Para mayor información: medioambiente@cnic.edu.cu
<http://www.ozono.cubaweb.cu>
rrii@cnic.edu.cu



Centro de Investigaciones del Ozono,
Centro Nacional de Investigaciones Científicas
Avenida 25 y calle 158, Playa, Ciudad de La Habana, Apartado Postal 6414, Código Postal 10600, Cuba.