

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Inhibición de Bacterias Nosocomiales Multiresistentes por Extractos
Vegetales Mesoamericanos con Actividad Antimicrobiana

INFORME FINAL DE TESIS
PRESENTADO POR:
OSBERTO RENE AGUILAR GRANADOS
PARA OPTAR AL TITULO DE:
QUIMICO BIOLOGO

The seal of the Universidad de San Carlos de Guatemala is circular and features a central figure, likely a saint or historical figure, surrounded by architectural elements and text. The text around the seal includes "UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA" and "FUNDADA EN 1527".

Guatemala, Enero de 2,000

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

DL
06

t(2103)

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANA	Licda. HADA MARIETA ALVARADO BETETA
SECRETARIO	Lic. OSCAR FEDERICO NAVE HERRERA
VOCAL I	Dr. OSCAR MANUEL COBAR PINTO
VOCAL II	Dr. RUBEN DARIEL VELASQUEZ MIRANDA
VOCAL III	Lic. RODRIGO HERRERA SAN JOSE
VOCAL IV	Br. DAVID ESTUARDO DELGADO GONZALEZ
VOCAL V	Br. ESTUARDO SOLORZANO LEMUS

DEDICO ESTA TESIS

- A DIOS: Por ser mi todo y darme la capacidad de aprender, por ser mi guía en el camino.
- A LA VIRGEN MARIA Por ser mi ángel de la guardia en todo momento.
- A MI CARRERA Porque te amaré toda la vida y viviré para ponerte en alto.
- A MI VIEJO Por ser mi mejor amigo, mi impulso a seguir, mi ejemplo y por mantener encendido el espíritu de lucha en mi vida, sentite orgulloso de esto.
- A MI MAMI Porque desde pequeño sembraste en mí la semilla del estudio la cual ha dado fruto, y por ser la mujer que siempre me alentó a seguir adelante.
- A UNA PERSONA ESPECIAL LUCKY Gracias por apoyarme, sentite parte de esto.
- A MIS HERMANOS Magda, Robert, Marcela, Juan Carlos y con Especial cariño a Elba Raquel, por su apoyo
- A MIS ABUELITOS Joaquin y Magda
Osberto y a la abuelita más linda de este mundo
Manuela por darme su amor, y cariño siéntanse orgullosos porque parte de esto es suyo.
- A MIS TIOS German y Margarita por el primer empujón en mi carrera.
Edwin, José y Antonio por haberme apoyado siempre y servir de ejemplo para mi futura profesión.
- A MIS PRIMOS Especialmente a Neto, Juan Manuel, Beba, German y Ramiro.

A MI NOVIA

Mishell por ser una gran mujer y por tener la forma correcta de acabar con mis preocupaciones simplemente para convertirlas en soluciones.

A MIS MAESTROS

Oscar Alvarez porque siempre tuvo tiempo para enseñarme todo lo que sabe, pero principalmente a despertar el lado humano de mi carrera, la cual llevaré hasta la muerte.

"El discípulo no es superior al maestro; más todo el que fuere perfeccionado será como su maestro"

(San Lucas 6;40)

Julio Fernández porque seguiremos luchando juntos por un bien común, gracias por apoyarme y enseñarme todo cuanto sé.

Gerardo Arroyo por su apoyo incondicional para mis estudios de post-grado.

A MI ASESOR

Armando Cáceres por brindarme siempre su apoyo amistad y ejemplo.

DEDICO ESTE ACTO

AL HONORABLE CONSEJO SUPERIOR UNIVERSITARIO
A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA
A LA ESCUELA DE QUIMICA BIOLOGICA
AL DEPARTAMENTO DE CITOHIISTOLOGIA
A TODOS MIS CATEDRATICOS

A MIS AMIGOS

Marvin, Henry, Tello, Félix y a todos los honorables miembros de la CEA, y con agradecimiento a don Dani, y doña Alma.

A MIS COMPAÑEROS

De Licenciatura especialmente a: Osberth, Karina, Ligia, Miguel, Oscar, Paola, Wanda y Juanita
De post-grado: Tere, Erick, alejandro, Dora y Sergio.

AL PERSONAL
TECNICO

De laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios, especialmente a: Ligia, Señor Mari, Tía Gladys y con especial amor a Señor Carmencita.

A TODO EL PERSONAL

Del Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios, especialmente a: Claudia, Amarilis, Sandrita, Roxana, Lucky, Karla y Claudia.

INDICE

1.	RESUMEN	1
2.	INTRODUCCION	2
3.	ANTECEDENTES	4
3.1	Definición sobre enfermedades nosocomiales	4
3.2	Principales Microorganismos nosocomiales	5
3.3	Métodos para medir susceptibilidad antibiótica	17
3.4	Extractos con Actividad antimicrobiana	19
4.	JUSTIFICACION	27
5.	OBJETIVOS	28
6.	HIPOTESIS	29
7.	MATERIALES Y METODOS	30
8.	RESULTADOS	35
9.	DISCUSION DE RESULTADOS	37
10.	CONCLUSIONES	39
11.	RECOMENDACIONES	40
12.	REFERENCIAS	41
13.	ANEXOS	44

1. RESUMEN

Para el presente estudio se utilizaron cinco extractos que presentaron la mejor actividad antimicrobiana, obtenida de estudios previos en el laboratorio donde se realizó esta investigación. Los extractos estudiados fueron: corteza de *Byrsonima crassifolia* (nance), hojas de *Psidium guajava* (guayaba), hojas de *Simarouba glauca* (aceituno), hojas de *Lippia graveolens* (orégano) y hojas de *Acalypha guatemalensis* (hierba del cáncer) la extracción de su principio activo se hizo por percolación con metanol absoluto, todos los extractos fueron utilizados en una concentración de 1,000 ppm. Estos extractos fueron evaluados contra bacterias nosocomiales multiresistentes, (bacterias que solo fueran susceptibles a un antibiótico de elección o a ninguno) reunidas en el Hospital General San Juan de Dios (HGSJD).

Las bacterias evaluadas fueron *Pseudomonas aeruginosa* (intermedio a imipenem), *Staphylococcus aureus* (susceptibles a la vancomicina) y *Klebsiella ozanae* (multiresistente) el método utilizado fue el de Mitscher *et al.* De todos los extractos estudiados el único que no presentó actividad fue el de las hojas *A. guatemalensis* en una concentración de 1,000 ppm, las hojas de *Byrsonima crassifolia* (nance) presentaron actividad con un CIM de 500 ppm para *S. aureus* y de 1,000 ppm para *P. aeruginosa*, el mismo CIM de 1,000 ppm se obtuvo para las hojas de *Simarouba glauca* (acetuno) que sólo fueron activas para *P. aeruginosa* y *S. aureus* en un CIM de 1,000 ppm, las hojas de *Lippia graveolens* (orégano) presentó actividad contra *S. aureus* un CIM de 1,000 ppm y para *P. aeruginosa* con un CIM de 500 ppm. El único extracto que presentó actividad contra *K. ozanae* fue el de *P. guajava* con un CIM de 1,000 ppm, a la vez que también inhibió con el mismo CIM a *P. aeruginosa*.

Con el estudio anterior se demuestra que las plantas poseen actividad antimicrobiana, estas plantas sólo habían sido evaluadas con cepas de referencia lo que hace relevante el estudio, como estos extractos presentaron actividad, es necesario realizar fraccionamiento bio guiado y comenzar a trabajar su toxicidad tanto aguda como crónica, para llegar a la evaluación preclínica.

2. INTRODUCCION

La infección nosocomial se ha definido como aquella que se presenta después de las primeras 48-72 horas de estancia en un hospital, y que no estaba presente o bien no se encontraba en período de incubación al momento del ingreso del paciente. Se debe de tomar en cuenta que el período de 48-72 horas se utiliza para diferenciar una infección intrahospitalaria de la que se adquiere en la comunidad; algunas infecciones nosocomiales pueden presentarse previas a este lapso, particularmente cuando se asocian a procedimientos invasivos.

La mayoría de estas infecciones son causadas por bacterias que por su alta incidencia son multiresistentes a los antibióticos de elección, según el boletín epidemiológico sobre susceptibilidad antimicrobiana del Hospital General San Juan de Dios, con datos de octubre-noviembre de 1998, se reporta que existe una incidencia por mes del 8.9 por ciento de bacterias causantes de enfermedades nosocomiales multiresistentes. La multiresistencia es producida por la mutación que sufre la bacteria al cambiar su secuencia de nucleótidos, y dará como resultado una proteína alterada con actividades enzimáticas que anularán el principio activo del antibiótico de elección, esto se da por sustitución, supresión e inserción (más común el primero) de un nucleótido por otro que afectará la estructura del ácido desoxiribonucleico (ADN).

Como está descrito, el principio básico de los antibióticos es inhibir la multiplicación de bacterias, a la vez de inactivar enzimas que sirven para su metabolismo, al ser usados constantemente y por períodos prolongados dará como resultado bacterias multiresistentes.

Trabajos de investigación por el Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos FARMAYA y por el Departamento de Citohistología de la Facultad de CCQQ y Farmacia han descrito la existencia de unas 243 plantas con algún poder antimicrobiano contra diferentes géneros y especies de bacterias que no presentan multiresistencia, de las cuales podemos citar: hojas de hierba del cáncer (*Acalypha gautemalensis*), corteza de nance (*Byrsonima crassifolia*), hojas de chicajol (*Eupatorium semialatum*), hojas de orégano (*Lippia graveolens*) hojas de guayaba (*Psidium guajava*), hojas de aceituno (*Simarouba glauca*) y

hojas de pericón (*Tagetes lucida*), las que demostraron evidencia que pueden ser utilizadas contra microorganismos causantes de diarrea y disentería, en los casos de bacterias gramnegativo y en infecciones causadas por bacterias grampositivo.

Se ha dilucidado que el principio activo de estas plantas es de estructura polar, debido a que los extractos con mayor actividad fueron extraídos con solventes como etanol y acetona los que podrían ser enfrentados contra bacterias multiresistentes.

Para este estudio se utilizaron los cinco extractos que presentaron la mejor concentración mínima inhibitoria (CIM) y se extrajeron con metanol para obtener el principio activo, utilizando el método de dilución de Mitscher, después de tener listo el medio con el extracto que tuvo una concentración de 1,000 ppm, se procedió a reunir las bacterias con el criterio de multiresistencia adoptado, donde se incluyeron aquellas bacterias grampositivo del género *Staphylococcus* o gramnegativo que por lo menos sean susceptibles a un antibiótico de elección entre los cuales podemos citar: amikacina, ampicilina, ciprofloxacina, ticarcilina, tobramicina, imipenem y cefoperazona. Estas fueron obtenidas del Hospital General San Juan de Dios de Guatemala (HGSJD) antes de realizar la prueba se verificó que todas sean resistentes a los antibióticos de elección anteriormente descritos.

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM) se tomaron aquellos extractos que lograron inhibición del microorganismo con diferentes concentraciones del extracto vegetal (1000, 500 y 250 ppm) según el método de Mitscher.

3. ANTECEDENTES

3.1 Definición sobre enfermedades nosocomiales:

Una infección nosocomial (IN) tradicionalmente se ha definido como aquella que se presenta después de las primeras 48-72 horas de estancia en un hospital y que no estaba presente o en período de incubación al momento de ingreso (1).

El seguimiento de estos criterios es el sistema más práctico y sencillo para realizar la vigilancia, sin embargo también tiene limitaciones. Se debe tomar en cuenta que el período de 48-72 horas que se utiliza para diferenciar una intrahospitalaria de la que se adquiere en la comunidad es solamente un parámetro general. Algunas infecciones nosocomiales pueden presentarse previas a este lapso, particularmente cuando se asocian a procedimientos invasivos. Se han documentado bacteremias nosocomiales que se presentaron antes de las 24 horas de internamiento. En otras circunstancias, el período de incubación de un infección adquirida en la comunidad podría ser más prolongado. De tal manera el intervalo de 72 horas no debe de ser aplicable a todas las enfermedades y habrá que considerar los diagnósticos específicos.

Los criterios para el establecimiento de la existencia de diferentes tipos de infecciones (Anexo 1) tienen también excepciones; pero el hallazgo de fiebres, tos o una respuesta favorable a la administración de antibióticos puede ayudar a esclarecer la duda (2).

La prevención de estas infecciones incluye:

- * Lavado de manos antes y después de entrar en contacto con las partes mucosas del cuerpo de los pacientes.
- * Asepsia cuando se inserta o manipula cualquier tipo de catéter o sonda.
- * Cuidado en la manipulación de la terapia de procesos respiratorios (2,3).

3.2 Principales microorganismos nosocomiales:

Durante décadas pasadas, se ha visto un incremento de la severidad de las infecciones nosocomiales, causadas por bacterias grampositivo o negativo que son resistentes a los antibióticos. Entre estas se tiene a *Enterococcus* y *Pseudomonas aeruginosa* y por hongos especialmente por el género

Candida sp. (4,5)

Escherichia coli y *S. aureus* son los microorganismos más frecuentemente se aíslan de áreas mucosas, *Staphylococcus coagulasa-negativo* son los que son aislados en el torrente sanguíneo, como también bacterias del género *Klebsiella*. El principal foco de transmisión es el tracto gastrointestinal y en

otros casos la mala asepsia de los diferentes instrumentos que están en contacto con el paciente (3,6).

3.2.1 Principales microorganismos nosocomiales aislados en Guatemala

Se tienen datos de octubre-noviembre de 1998 en el Hospital General San Juan de Dios (HGSJD), donde se han reportado bacteremias causadas por microorganismos multiresistentes especialmente por bacterias del género *Klebsiella* sp, las que han causado sepsis a niños recién nacidos en menos de 6 horas (5). Según la información del HGSJD de los antibiogramas de cultivos procedentes de hemocultivos, coprocultivos, urocultivos y cultivos de secreciones varias; se conoce que las principales bacterias nosocomiales multiresistentes son: *E. coli*, *S. aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativo*, *K. ozanae*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas* sp, *Acinetobacter colcoaceticus*, *Proteus mirabilis* y *Salmonella enteritidis* (7)

3.2.1.1 Bacteria Grampositivo

3.2.1.1.1. Género *Staphylococcus*:

Son microorganismos esféricos de 0.5 a 0.75 μm . de diámetro que se presentan aisladas, en pares y se dividen característicamente en más de un plano formando conglomerados (racimos) irregulares, inmóviles, no se les conoce estadio de reposo.

Gram positivo su pared celular contiene dos componentes principales: un peptidoglucano y ácido teicoico asociado. Los estafilococos son quimioorganotróficos, su metabolismo es respiratorio y fermentativo son anaerobios facultativos, se desarrollan más

rápido en condiciones aerobiosis, la temperatura óptima para su crecimiento es de 36°C, están principalmente asociados a glándulas de la piel y mucosas de animales de sangre caliente, sus huéspedes son múltiples y muchas cepas son potencialmente patógenas (8).

3.2.1.1.2. Patología:

La infección estafilocócica más común es la cutánea penetrando la glándula sebacea o el bulbo de un cabello donde encuentran un medio de nutrición adecuado para su desarrollo. Si bien las infecciones cutáneas benignas son frecuentes, la enfermedad estafilocócica severa es rara, lo que destaca la excelente barrera protectora provista por la piel y las membranas mucosas. Las quemaduras de tercer grado, las heridas traumáticas, las incisiones quirúrgicas, las úlceras por decúbito o tróficas y ciertas enfermedades virales constituyen algunas de las muchas causas que producen la enfermedad, entre las más comunes producidas por este género de bacterias están el forúnculo y carbúnculo siendo la más superficial la foliculitis, en la cual está infectado el folículo piloso dando como resultado la formación de una lesión focal supurativa, un carbúnculo es similar a un forúnculo, pero tiene múltiples focos y se extiende a las capas más profundas del tejido fibroso, el impétigo se da más en el recién nacido formando pústulas o lesiones impetigosas, esta enfermedad es muy contagiosa, y cuando aparece en una guardería o una escuela se disemina de forma epidémica.

También se encuentra el síndrome de piel escaldada que comprende un espectro de enfermedades dermatológicas con una etiología común causada por la toxina esfoliativa estafilocócica (10).

3.2.1.1.3 Tratamiento:

La elección debe limitarse a los fármacos penicilinas-resistentes, puesto que la mayor parte de las cepas aisladas tanto en las infecciones hospitalarias, como en las adquiridas en la comunidad son resistentes a la penicilina G, la penicilina V, y la ampicilina.

Para las infecciones cutáneas en general es eficaz la terapéutica oral con una penicilina semisintética, como la oxacilina y la nafcilina o la dicloxacilina. La oxacilina

la nafcilina no son recomendables para el tratamiento oral debido a que su absorción es lenta e impredecible, si el paciente es alérgico a la penicilina se puede utilizar eritromicina. En caso de enfermedad grave se recomienda la administración parenteral de nafcilina o de oxacilina.

La vancomicina o las cefalosporinas son sustitutos parenterales adecuados con el paciente alérgico. La resistencia múltiple a los antibióticos es un rasgo habitual de las cepas de *S. epidermidis* que producen enfermedad, esto no solo complica la terapéutica, sino además provee un reservorio de resistencia antibiótica genética para *S. aureus* más virulento, por lo que se recomienda usar antes un antibiograma local contra *S. epidermidis* si fuese necesario y en ausencia del mismo debe incluirse un aminoglucósido (gentamicina o tobramicina) con cefalotina o rifampicina, o vancomicina sola (11).

3.2.1.1.2 Género *Streptococcus*

Son microorganismos esféricos u ovoides. miden de 2 μm . de diámetro, se presentan en pares o cadenas cuando se desarrollan en medios líquidos, ocasionalmente móviles en el grupo de serológico D, gram positivos, quimioorganotróficos de metabolismo fermentativo sus requerimientos mínimos nutritivos son generalmente complejos, su temperatura óptima alrededor de 37°C (7). Son bacterias patógenas para el hombre entre las más importantes están: *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. Faecalis*, *S. pneumoniae* y el grupo viridans.

Su principal identificación es por su acción en el medio agar sangre de carnero (ASC) los β -hemolíticos son aquellos que producen una zona clara alrededor de la colonia como resultado de la lisis total de eritrocitos por las hemolisinas. Los organismos α -hemolíticos producen una zona de hemolisis incompleta y decoloración verdosa del medio (8).

3.2.1.1.3. Patología

Muchas de estas cepas tienen predilección por el tracto respiratorio superior en oposición a la piel, los mecanismos responsables de la especificidad del tejido no están

claros, sin embargo hace poco se ha demostrado que las cepas cutáneas o faríngeas pueden unirse de forma selectiva a las células epiteliales en estos sitios (9-10).

Los *Streptococcus* son destruidos con rapidez después de la ingestión y la desintegración de la mayor parte de los microorganismos ocurre en 1 a 4 horas, pero la pared es resistente a la lisozima y pueden persistir de manera indefinida en las células o en los tejidos. La pared celular y el peptidoglucano de los estreptococos del grupo A pueden producir lesiones inflamatorias crónicas por los factores quimiotácticos capaces de producir inflamación.

Los padecimientos inflamatorios supurativos son; faringoamigdalitis, escarlatina, erisipela, impétigo e infecciones purulentas en diferentes aparatos y tejidos, los no supurativos son: fiebre reumática y glomerulonefritis. Los criterios más importantes para el diagnóstico de la fiebre reumática la presencia de: carditis, poliartritis, eritema marginal, nódulos subcutáneos y con menor importancia: fiebre, artralgias, aumento de la velocidad de sedimentación globular y el aumento de la proteína C reactiva circulante (9).

3.2.1.1.4 Tratamiento

La penicilina es el tratamiento de elección en las infecciones piógenas en caso de alergia a los β -lactámicos eritromicina o clindamicina. En los padecimientos producidos por autoanticuerpos solamente los corticosteroides y los salicilatos son de utilidad, pero en estos enfermos debe administrarse penicilina benzatínica para prevenir infecciones por *S. pyogenes* que pueden agravar el cuadro. Es de vital importancia, la prevención de la fiebre reumática y la glomerulonefritis. Esto se hace con el tratamiento oportuno de las faringitis en los niños y cuando éstas se repiten con frecuencia, administrar penicilina benzatínica por tiempo prolongado, en casos extremos durante muchos años.

Los estreptococos del grupo D, se encuentran colonizando el intestino del hombre y se han reportado en endocarditis y en infecciones urinarias, es importante identificarlos porque son resistentes a penicilina; el tratamiento se hace con vancomicina, estreptomina o kanamicina (11).

3.2.2 Bacterias Gramnegativo:

3.2.2. 1 Fermentadoras:

Incluye tres géneros más comunes e importantes causantes de diarrea bacteriana, *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* (enteropatógena, enterohemorrágica, enterotoxigénica, enteroadherente y enteroinvasiva) y también se encuentran los géneros *Klebsiella* y *Proteus*, éstos son bacilos gramnegativo, algunos son móviles y otros inmóviles, entre sus diferencias bioquímicas tenemos la fermentación de diferentes biomoléculas entre la que se pueden citar: carbohidratos, aminoácidos etc.

Crece con facilidad cuando son cultivados *in vitro* y algunos son de la microbiota del tracto gastrointestinal por lo que son indicadores de contaminación fecal (8).

3.2.2.2 Patología:

El género *Salmonella* es causante de la salmonelosis en el hombre que se manifiesta por tres tipos de cuadros clínicos: fiebres entéricas (fiebre tifoidea y paratifoidea), enteritis y septicemia. Las enteritis son los cuadros más benignos, se manifiestan por diarrea severa que generalmente se autolimita en menos de una semana. La fiebre tifoidea es un padecimiento que puede manifestarse en forma benigna o en forma grave sobre todo cuando se presentan complicaciones como son: perforación intestinal, hemorragia, colecistitis o abscesos.

A la shigellosis se le conoce como disentería bacilar, es causado por bacterias del género *Shigella* manifestando fiebre, seguida de pseudodiarrea con tenesmo rectal, también se observan las formas hiperagudas que son las formas más graves con deshidratación y desequilibrio electrolítico y las formas atenuadas, generalmente muy benignas, autolimitantes y sin complicaciones. Los bacilos producen pequeños abscesos a nivel del colon y particularmente en el asa sigmoidea que después evolucionan a la formación de úlceras.

E. coli es la principal enterobacteria que cuando coloniza otros tejidos desarrolla infecciones de alta gravedad, es frecuente encontrarla en heridas, puede infectar vías respiratorias, meninges, peritoneo puede producir abscesos del hígado, infecciones urinarias o producir septicemias de alta mortalidad, otros géneros de bacterias

los azúcares.

Se pueden distinguir dos tipos dentro de este género: las fluorescentes: *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, y *P. pultida*, y el grupo no fluorescente formado por: *P. pseudomallei*, *P. mallei*, *P. cepacia*, *P. maltophila* y *P. picketti*.

De todas las especies, la que más frecuentemente se ha encontrado en infecciones humanas es *Pseudomonas aeruginosa* (8).

3.2.3.2 Patología:

Las infecciones por *P. aeruginosa*, se observa más frecuentemente en personas con inmunidad deprimida, en los pacientes que sufren quemaduras, alteraciones metabólicas como la diabetes, con neoplasias malignas y que han sido sometidos a instrumentación o caterismo, con frecuencia se manifiestan infecciones urinarias en personas de edad avanzada y debe cuidarse a los pacientes sometidos a drogas inmunosupresoras.

Puede instalarse en cualquier órgano o tejido, desde una simple herida o quemadura, invadir el oído externo, colonizar las vías urinarias, los pulmones, el endocardio, la cornea y los huesos. De una infección localizada en alguno de estos tejidos, puede diseminarse por el torrente circulatorio producir septicemias de alta gravedad e instalarse en otros tejidos dando lugar a procesos supurativos, estas formas clínicas diseminadas son de una alta tasa de mortalidad (11).

3.2.3.3 Tratamiento:

La gran mayoría de las cepas aisladas son susceptibles a: amikacina, gentamicina, tobramicina y colistina. Muchas de ellas son susceptibles también a cabernicilina y ticarcilina.

Es muy importante mencionar que la asociación de tobramicina y cabernicilina tiene un efecto sinérgico de mucha utilidad sobre todo en las infecciones diseminadas, pero se ha encontrado resistencia a las cefalosporinas de tercera generación (11)

3.2.3.4 Género *Acinetobacter*:

El género *Acinetobacter* se encuentra en la suciedad y en la agua y con poca frecuencia se encuentra en la piel y las membranas, mientras que antes se reconocían una especie *A. calcoaceticus*, y dos subespecies (variedad *anitratus* y variedad *iwoffii*) el análisis de la homología del ADN ha permitido definir especies adicionales. Si embargo, la separación fenotípica de las especies plantea problemas y se ha propuesto llamar a los patógenos humanos *A. baumannii* o complejo *A. calcoaceticus-A baumannii*, actualmente se está experimentando una reorganización taxonómica (8,11).

3.2.3.5 Patología:

Poco se sabe acerca de los factores de virulencia de este grupo de microorganismos, pero parece que forman pequeñas cantidades de endotoxinas. A pesar de que no suelen ser patógenos, se han asociado a una frecuencia creciente de septicemia, neumonía, bacteriuria e infecciones en heridas.

Los *Acinetobacter* son patógenos oportunistas no fermentadoras que suelen causar infecciones respiratorias nosocomiales. Como *Pseudomonas* proliferan en ambientes húmedos y se han encontrado como contaminantes comunes del equipo de terapia respiratoria y los dispositivos de monitorización. Estos organismos forman parte también de la microbiota orofaríngea normal en una pequeña proporción de sujetos adultos, y pueden proliferar hasta alcanzar gran número durante la hospitalización (12).

3.2.3.6 Tratamiento:

Acinetobacter es o puede ser resistente a muchos antibióticos, aunque es posible tratar las infecciones como aminoglucósidos seleccionados, cefalosporinas de amplio espectro o imipenem (12).

3.3 Mecanismos de resistencia antibiótica:

El desarrollo de cepas de bacterias resistentes a fármacos puede ocurrir por diversos mecanismos. La utilización de antimicrobianos ejerce una presión selectiva que estimula la proliferación de cepas resistentes, la variabilidad de los agentes microbianos

ejercen fuertes presiones selectivas sobre las poblaciones bacterianas, lo que favorece a los microorganismos que son capaces de resistirlas (13,14). Diversos mecanismos condicionan la variabilidad genética; pueden haber mutaciones puntuales en un par de bases del nucleótido, lo que se denomina cambio microevolutivo, capaces de alterar el sitio blanco de un agente antimicrobiano e interferir así en su actividad.

Un segundo nivel de variabilidad genómica en las bacterias, se le denomina cambio macroevolutivo y determina un reordenamiento en escala completa de grandes segmentos de ADN como un fenómeno único. Estos reordenamientos pueden ser inversiones, duplicaciones, inserciones de elecciones o transposición de grandes secuencias de ADN, de un lugar del cromosoma bacteriano a otro. Estos reordenamientos en escala completa de grandes segmentos del cromosoma bacteriano suelen ser creados por elementos genéticos especializados conocidos como transposones o secuencias de inserción, que tienen la capacidad de moverse con independencia del resto del cromosoma bacteriano (15).

Un tercer nivel de variabilidad genética, es la adquisición por plásmidos por el ADN extraño transportado por bacteriófagos o elementos genéticos transponibles (16).

3.3.1 Inhibición enzimática:

La resistencia a los antibióticos β -lactámicos se debe principalmente a la producción de β -lactamasas enzimas que inactivan a estos antibióticos desdoblando el enlace amida del anillo β -lactámico. Existen numerosas β -lactamasas codificadas por genes cromosómicos o por genes transferibles localizados en plásmidos o transposones. Se ha definido tres clases de distintas enzimas sobre la base de estudios de secuencia de aminoácidos y nucleótidos. Los de la clase A tienen pesos moleculares de aproximadamente 29,000 poseen un residuo serina en su sitio activo e hidrolizan preferencialmente penicilinas. Un ejemplo es la TEM-1 β -lactamasa, prevalente en bacilos gramnegativos. La clase B son metaloenzimas con un grupo tiol fijador de zinc requerido para la actividad β -lactamasa. La clase C comprende las determinadas por el gen cromosómico amp C. de *E. coli* K-12 que comparte una extensa homología de secuencias

con β -lactamasas mediadas cromosómicamente de especies de *Shigella sp.* y *klebsiella sp.*, la clase D hidrolizan la oxacilina.

3.3.1.2 Bacterias grampositivo:

Los estafilococos son los principales patógenos productores de β -lactamasa que hidrolizan preferentemente penicilinas. La mayoría son inducibles y son excretadas fuera de la célula (10). Los genes que las codifican suelen ser transportados en pequeños plásmidos o transposones. También existen plásmidos más grandes que codifican para β -lactamasas y otros tipos de resistencia, los cuales se pueden transferir por conjugación no sólo entre cepas de *S. aureus*, sino también entre *S. epidermidis* (16-22).

3.3.1.3 Bacteria gramnegativo:

Las bacterias gramnegativo producen un variedad mucho mayor de β -lactamasa que las grampositivo ya que están determinadas por plásmidos (23), todas son producidas constitutivamente y pueden agruparse en seis clases amplias:

- Las que hidrolizan bencil penicilina y cefarolidina a velocidades similares (enzimas de amplio espectro).
- Las que hidrolizan con rapidez oxacilina y penicilinas (oxacilinasas)
- Las que degradan carbenicilinas con facilidad (carbenicilasas)
- Enzimas que activan los oximino β -lactámicos como cefotaxima, ceftazidima o aztreonam (β -lactamas de espectro extendido)
- Enzimas que degradan los oximo- β -lactámicos y son resistentes al clavulanato, cefalosporinas. Los genes que codifican estas enzimas son similares en la secuencia de nucleótidos a los genes cromosómicos de β -lactamasa de *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Klebsiella oxytoca* teniendo características bioquímicas similares (23,24).
- Una β -lactamasa poco habitual se halla en *P. aeruginosa* que hidroliza el imipenem la cual es llamada carabapenemasa (26).

3.3.2 Distribución en aislamientos clínicos:

La existencia de genes β -lactamasas en plásmidos y transposones asegura que una β -lactamasa confinada en principio a un grupo de bacterias puede aparecer más tarde o

más temprano en otros grupos. El uso difundido de antibióticos alienta la selección de microorganismos resistentes que aumentan la prevalencia local y después se diseminan por todo el mundo, causando brotes nosocomiales esporádicos que producen β -lactamasas causando un problema endémico en algunos hospitales. En consecuencia la presión de selección secundaria al uso hospitalario difundido de un β -lactámico aumenta en apariencia la colonización del tracto digestivo o respiratorio de otros pacientes y sobreviene infección. La falta de control de los brotes, ha determinado la aparición de nuevos tipos de mutantes de β -lactamasas de espectro extendido en la misma institución y en ocasiones en el mismo paciente (25-26).

3.3.3 Contribuciones de las β -lactamasas a la resistencia de los antibióticos β -lactámicos:

El nivel de resistencia a los antibióticos, mediado por una determinada β -lactamasa en una población de bacterias se determina por variables. La eficiencia de la β -lactamasa para hidrolizar el antibiótico depende de su velocidad de hidrólisis y de su afinidad por el antibiótico, otras variables son la cantidad de enzima producida por la célula bacteriana, la susceptibilidad de la proteína blanco al antibiótico y la velocidad de la difusión del antibiótico hacia la periplasma de la célula (25-29).

3.3.4 Enzima modificadoras de resistencia a los aminoglucósidos:

La resistencia enzimática a los aminoglucósidos, se logra por la modificación del antibiótico en el proceso del transporte a través de la membrana citoplásmica. La resistencia a un determinado aminoglucósido es una función de dos velocidades diferentes, la de la captación del fármaco versus la de su inactivación, es factor importante para determinar el nivel de resistencia es la afinidad de la enzima modificadora por el antibiótico. Si una enzima tiene una alta afinidad por el aminoglucósido específico, entonces puede haber inactivación del fármaco a muy bajas concentraciones. En los últimos años se han observado aumentos en la resistencia a los aminoglucósidos mediada por plásmidos que transportan los genes modificados de los aminoglucósidos entre brotes heterogéneos (30).

3.3.5 Cloramfenicol acetiltransferasa:

La resistencia al cloramfenicol en microorganismo grampositivo y gramnegativo, es mediada fundamentalmente por una enzima inactivante, conocida como cloramfenicol acetiltransferasa. Codificada por genes cromosómicos que le dan una homología determinante para actuar directamente sobre el sitio activo del cloramfenicol (32).

3.3.6 Permeabilidad de la membrana externa:

La membrana externa es una bicapa lipídica que actúa como una barrera contra la penetración de los antibióticos de la célula, situada por fuera de la pared celular de peptidoglucanos de las bacterias gramnegativo, esta membrana externa está ausente en las bacterias grampositivo. La porción externa de esta doble capa está compuesta principalmente por lipopolisacáridos formados por moléculas de hidratos de carbono estrechamente unidos, que impiden el ingreso a antibióticos hidrófobos, como la nafcilina o eritromicina. Los agentes que alteran la integridad como la poliximina o las mutaciones que inducen la producción de lipopolisacáridos defectuosos, determinan un aumento de la permeabilidad a los antibióticos hidrófobos. El pasaje de antibióticos hidrófilos a través de esta membrana externa es facilitada por la presencia de porinas proteínas que están dispuestas de modo de formar canales de difusión llenos de agua que pueden atravesar los antibióticos. Por lo regular una bacteria contiene alrededor de 10^5 moléculas de porinas, éstas pueden regular el número relativo de diferentes porinas en respuesta a la osmolaridad de los medios circundantes (33).

La velocidad de difusión de los antibióticos a través de esta membrana externa es una función no sólo del número y las propiedades de canales de porina, sino también de las características fisicoquímicas del antibiótico. Por lo general cuanto más grande es la molécula del antibiótico más cargas negativas tiene y mayor es el grado de hidrofobia, menos probable es que penetre a través de la membrana externa.

3.3.7 Permeabilidad de la membrana interna:

La velocidad de ingreso de las moléculas de aminoglucósidos de las células bacterianas es una función de desunión de un transportador aniónico habitualmente no saturable, con lo cual conservarán su carga positiva y son arrastradas después a través de la membrana citoplásmica por la carga negativa interna de la célula. Esta carga interna depende de la concentración real de aminoglucósido en un momento dado. La generación de energía o la fuerza motora protónica que se requiere para transportar el sustrato a la célula puede estar alterado en mutantes resistentes a los aminoglucósidos (34).

3.3.8 Promoción de la expulsión de antibióticos:

El principal mecanismo de resistencia a la tetraciclina observado en los microorganismos entéricos gramnegativo, obedece a la menor acumulación del fármaco.

Esta reducción de la captación, en un proceso dependiente de energía que está relacionada con la generación de una proteína de la membrana interna producida por el determinante de resistencia a la tetraciclina. La menor captación de tetraciclina del medio extracelular, también explica su acumulación reducida dentro de las células resistentes, estos determinantes de resistencia se pueden hallar en el cromosoma o plásmidos y con frecuencia se encuentran en elementos genéticos transponibles (27-35).

3.4 Métodos para medir susceptibilidad antibiótica:

La medición de esta actividad puede hacerse por métodos de difusión o dilución. El método de difusión se usa como un procedimiento cualitativo, semicuantitativo y a veces cuantitativo, generalmente los microorganismos son categorizados como resistentes, intermedios o susceptibles para cada agente antimicrobiano, éstos son aplicados en forma de discos de papel filtro y se conoce como método de Bauer-Kirby (11,13).

El método de dilución se usa para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) que se requiere del agente antimicrobiano para inhibir o matar al microorganismo, cuando se hace el ensayo como tamizaje de productos naturales el método más recomendado es el de Mitscher, el cual es reproducible, sensible y relativamente fácil de estandarizar y procesar. La CIM es la concentración más baja en la que no hay crecimiento

visible del microorganismo; esta prueba puede ser en caldo (tubo) y en agar (placa) (13,36).

Los microorganismos a emplearse para la detección de la actividad antimicrobiana deben pertenecer a cepas comerciales internacionalmente reconocidas. En el caso de algunas bacterias fastidiosas es necesario usar cepas recientemente aisladas. Para determinar el espectro de inhibición de una planta se usan cepas aisladas de material clínico e identificado por los procedimientos estándar. Se utilizan diversos microorganismos cubriendo las principales familias grampositivo y gramnegativo como también los que más frecuentemente causan infección (Anexo 2).

3.4.1 Método de difusión:

3.4.1.1 Principio:

El crecimiento exponencial de bacterias en el medio de cultivo adecuado es inhibido por las moléculas bioactivas que difunden el agar. Este procedimiento se basa en el descrito por Bauer-Kirby usado para evaluar la actividad antibacteriana vegetal (13).

3.4.1.2 Procedimiento:

Impregnar discos de papel secante de 6 mm de diámetro y 0.6 mm de grosor con 50 μ l del extracto (aplicar 20, 15, 15 μ l) y secar en campana de flujo laminar, para ensayar la CIM aplicar 40, 30, 20, y 10, μ l. Luego preparar cajas de agar Mueller-Hinton (AMH), estandarizar un cultivo de 24 horas en caldo tripticasa soya (CTS) con el tubo No. 0.5 del estándar de Macfarland, inocular masivamente en la superficie de cajas de AMH, dejar reposar 3-5 minutos, aplicar los discos impregnados en quintuplicado, incubar a 35°C por 24 horas y medir los halos de inhibición en milímetros. Este procedimiento se puede aplicar a levaduras, pero el inóculo se estandariza con el tubo No. 1 del estandar de Macfarland y la incubación es de 48 horas (13).

3.4.1.3 Interpretación:

La actividad se determina por el diámetro de halo de inhibición, 6mm es negativa, 6-9 mm es intermedia y >9mm es positiva. Como controles se deben usarse discos

impregnados con disolventes (control negativo) o con un antibiótico de referencia (control positivo) (13).

3.4.2 Método de dilución:

3.4.2.1 Principio:

El crecimiento exponencial de las bacterias inoculadas en la superficie o en la profundidad del medio, es inhibido por las moléculas bioactivas diluidas en el agar. Este procedimiento ofrecerá una distribución homogénea del compuesto en el agar y está basado en el descrito por Mitscher et al (13).

3.4.2.2 Procedimiento:

Preparar cajas de agar Mueller Hinton (AMH) conteniendo el extracto a evaluar, si es por primera vez con 10 mg/ml, incubar durante toda la noche para descartar contaminación. Luego inocular las bacterias en caldo tripticasa soya (CTS), incubar 24 horas a 35°C, diluir 1:100 en agua destilada esteril y por último inocular en estrías por cuadruplicado en la superficie de AMH-E (Anexos 3) e incubar a 35°C durante 24 horas.

Este procedimiento puede aplicarse a levaduras, pero el inóculo se diluye 1:10 y la incubación es de 48 hrs (13).

3.4.2.3 Interpretación:

Evaluar el crecimiento de bacterias (-) o su inhibición (+), y puede evaluarse la CIM utilizando diluciones decrecientes del extracto (13,36).

3.5 Extractos mesoamericanos con actividad antimicrobiana:

3.5.1 Simarouba glauca DC (Aceituno):

Dioscoroides se refiere a esta planta como un amargo. Las antiguas farmacopeas españolas incluían un jarabe de raíz y hojas que gozó de gran prestigio como colagogo y laxante (35). Carlomagno la listaba entre las 75 plantas que deben cultivarse en los jardines.

3.6.1.2 Ubicación:

Nativo de Mesoamérica en bosque secos subtropicales, regiones húmedas o pobladas de matorrales, sobre laderas secas rocosas abiertas, en variedad en regiones desde el sur de México a Centro América y el Caribe en alturas hasta de 900 msnm. En Guatemala se ha descrito en Baja Verapaz, Chiquimula, El Progreso, Izabal, Jutiapa, Petén, Quiché, Retalhuleu, Santa Rosa, Zacapa (36).

3.5.3 Usos medicinales y actividad farmacológica:

La infusión de la corteza y raíz se usa por vía oral para tratar malaria, afecciones gastrointestinales (diarrea, dispepsia, atónica, debilidad, amebiasis, infecciones por helmintos, vómito), nerviosismo, fiebre intermitente, y tos. La tintura de las hojas tiene actividad antiamebiana. Las hojas machacadas se aplican tópicamente para el tratamiento de afecciones cutáneas, prurito y algunas formas de cáncer.

Estudios experimentales antimicrobianos demuestran que la tintura de hojas es activa contra *S. typhi*, *S. flexneri*, *E. coli*, enteropatógena, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *S. dysenteriae*, con una concentración de mínima inhibitoria (CIM) de 2mg/ml, ha demostrado actividad antimalárica sobre *Plasmodium gallinaceum*. La infusión de la corteza tiene actividad contra esquizontes de *Plasmodium bergheii* similar a la droga de referencia (artemisinina, 50mg/kg).

Vindas en Costa Rica ensayó en 1951 un tintura de corteza al 20% en 30 pacientes con amebiasis, demostrando curación sin efectos secundario (36).

3.5.2 *Tagetes lucida* Cav. (Pericón):

Género de 35 especies, según Rydelberg todas americanas. Descrita como adivinatoria, alucinogena, medicinal, mística y religiosa en las principales fuentes históricas precolombinas y coloniales en México y Guatemala; el manuscrito Badiano la describe como incienso de sacrificios, Hernández como estimulante del apetito venéreo y cura para gente loca y asustada, Y Sahagún como adormecente para el sacrificio de prisioneros. En Guatemala se colectaba con fines medicinales; según la tradición antes del día de San Juan (24 de junio), después “el diablo se revuelca en ella”.

Para su extenso en atención primaria de salud para enfermedades comunes, se ha incluido en el programa Nacional de Plantas Medicinales para su uso desarrollo químico-agronómico.

3.5.2.2 Ubicación

Nativa de México a Honduras en bosques de encino y laderas de 1,000-2,000 msnm. Es abundante en la época de lluvia, desaparece en época seca. En Guatemala se ha descrito en Chimaltenango, El Quiche, Jalapa, Guatemala, Huehuetenango, Petén, Quetzaltenango, Sacatepéquez y San Marcos.

3.5.2.2 Usos medicinales y actividad farmacológica:

La infusión de flores y hojas se usan por vía oral para aliviar el parto, tratar la anemia, inflamación de los ojos, afecciones nerviosas, gastrointestinales (cólico, diarrea, disentería, flatulencia, indigestión, náusea, parasitismo intestinal, vómitos y enfermedades respiratorias (amigdalitis, cefalea, fiebre, gripe, neumonia, resfriado, tos ferina) dolor menstrual, mordedura de escorpión, hepatitis, paludismo, reumatismo, retención urinaria, afecciones nerviosas, tumores y úlceras (36).

Estudios experimentales antimicrobianos demuestran que la tintura de hojas y flores es activa contra *E. coli*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. typhi*, *S. pyogenes* y ligeramente activa contra *Neisseria gonorrhoeae*. El espectro de inhibición del extracto metanólico demostró una inhibición del 60% de cepas de *P. aeuriginosa*, 15% de cepas de *S. typhi*; la tintura tiene un CIM del extracto etanólico de 1mg/ml. (36).

3.5.3 *Psidium guajava* Hj. (Guayaba)

Es difícil precisar el lugar de origen se estima que es del sur de México o del Amazona Colombiano; su fruto que es usado para preparar jaleas y postres, los españoles y portugueses llevaron semillas a sus colonias, que luego fueron mejoradas y cultivadas en Asia y Africa. Existen más de 90 variedades, la mayor producción es en India, Brasil, Colombia, Cuba y Mexico. El uso medicinal de las hojas es precolombino, hay evidencia de que sus hojas "ácidas y astringentes y muy olorosas, curan la sarna y suelen usar de

3.5.3.1 Ubicación

Nativa de América tropical, se encuentra en bosques húmedos y secos, pastos y bosquesillos puros del árbol; sembrado comercialmente en zonas cálidas de Africa y Asia hasta 1,800 msnm. En Guatemala se ha descrito en todo el país, particularmente en Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa y Suchitepéquez.

3.5.3.2 Usos medicinales y actividad farmacológica:

La decocción de hojas y corteza se usa por vía oral para tratar afecciones digestivas (amebiásis, diarrea, disentería, cólico, dolor de estómago, parasitismo intestinal, vómito), anemia, artritis, diabetes, hemorragia, hinchazón, uretritis, asma, y resfrio. La decocción de raíz se usa para tratar hidropesía.

A las hojas y corteza se les atribuye propiedades antimicrobianas, antiemética, antiinflamatoria, antihelmíntica, antiséptica, antitúsciva, astringente, carminativa, espasmolítica y tónica. El fruto se usa para aliviar la congestión respiratoria, se le atribuye propiedad astringente, febrífuga y desinflamante.

Estudios experimentales demuestran que la tintura de hojas es activa contra *E. coli*, *S. dysenteriae*, *S. typhi*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. flexneri*, *P. aeruginosa*, es inactiva contra *Vibrio cholerae*, y *N. gonorrhoeae*, el mejor disolvente es el etanol y la CIM 5mg/ml para *S. typhi*, y *S. aureus*. El extracto metanólico de los frutos verdes es activo contra *Shigella spp* y *V. cholerae* (36).

3.5.4 *Lippia graveolens* HBK (Orégano):

Con el nombre de orégano se conoce más de 53 plantas de diferentes especies e incluso familias, que por sus aceites esenciales de aromas parecidos han sido usados indistintivamente. Es usado con fines culinarios y medicinales desde los tiempos griegos y romanos; Plinio recomendaba las cataplasmas para tratar picaduras de escorpiones, Dioscórides en el siglo I y Gerard en el siglo XVI describen varias especies de oréganos medicinales.

3.5.4.1 Ubicación:

Es nativa desde sur de Texas a Nicaragua, se encuentra en bosques secos y montes espinosos subtropicales, en pendientes pedregosas muy secas, en matorrales húmedos o secos y planicies hasta 350 msnm. En Guatemala se encuentra en Petén y Zacapa.

3.5.4.2 Usos medicinales y actividad farmacológica:

La decocción o infusión de hojas se usa para tratar anemia, afecciones gastrointestinales (amebiásis, cólico, diarrea, disentería, dispepsia, estreñimiento indigestión) y respiratorias (asma, bronquitis, catarro, laringitis, pleuresía, resfrío, se le contribuye propiedades antioxidantes, antisépticas, aromáticas etc.

También se aplica para la cicatrización de heridas, llagas e inflamaciones de la garganta; en baños se usa para fortalecer niños debilitados, combatir la gripe y para aliviar el prurito y la sarna; en cataplasma para madurar abscesos, calmar neuralgias y aliviar induraciones, cáncer y tumores; en fricciones y baños se usa como calmante. La planta fresca macerada en aceite se aplica a los dolores reumáticos; la maceración alcohólica para contrarestar ataques.

Estudios antimicrobianos, demuestran que la tintura de hojas de *L. graveolens*, es activa contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, pero inactiva contra *Haemophilus influenzae*, la infusión de hojas demostró actividad contra los mismos microorganismos, presentando un CIM etanólico de 1.75 mg/ml (36).

3.5.5 *Eupatorium semialatum* Benth. (Bacché):

Es un arbusto nativo de Guatemala, silvestre y abundante en bosques húmedos y secos de pino-encino y ciprés, muy oloroso en la floración, tiene follaje amargo por lo que se usa en medicina doméstica, pero su distribución es más bien restringida al norte de Centro América. Mucho del material Guatemalteco ha sido determinado como *E. ligustrinum*.

3.5.5.1 Ubicación

Nativo del noreste de México y Centro América, crece cerca de matorrales o en áreas forestales mixtas, mas a menudo en bosques nubosos de pino, pinabete, encino y roble, pero a veces en bosques de ciprés de 1,000-3,000 msnm. En Guatemala se ha descrito en los departamentos de Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, El Progreso, Guatemala, Jalapa, Quetzaltenango, San Marcos y Zacapa.

3.5.5.2 Usos medicinales y actividad farmacológica:

La deccoción de las hojas y corteza tiene sabor amargo, se utiliza popularmente en Guatemala, especialmente en Alta Verapaz, donde se suministra por vía oral para el tratamiento de la diabetes y paludismo, también se usa para tratar afecciones gastrointestinales (amebiasis, disenteria, diarrea, dolor de cabeza, dolor de estómago, inflamación intestinal), dolor de cuerpo, dolor de huesos, enfermedades de la sangre, y de los riñones, inflamacion del hígado, tos y tos ferina.

Estudios experimentales demuestran que la tintura de las hojas es activa contra bacterias *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. typhi*, con un CIM etanólico de 1mg/ml (36)

3.5.6 *Byrsonima crassifolia* (L) HBK (Nance):

El Popul Vuh dice "Vucub-Caquix tenia un gran árbol de nance, cuya fruta era la comida de Vucub Caquix...Hunapú e Ixbalanqué habian visto que esa era su comida escondidos entre las hojas, llegó Vucub Caquix directamente a su comida de nances", Hernández indica que la corteza del tronco astringente y posee naturaleza fría y seca. El polvo cura las úlceras, se aplica en lociones eficaces para disolver los tumores de las piernas, el fruto es comestible, grato al gusto y suave, ha sido citado por autores franceses como Descourtilz (1833) y Grosourdy (1864). Se cultiva en nancitales por sus frutos que se comercializan desde tiempos precolombinos, el nombre es de origen náhuatl, pero se usa en toda la región.

3.5.6.1 Ubicación

Nativo de México a Sur América y Caribe en bosques secos y tropicales hasta 1,800 msnm. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Chiquimula, El Progreso, El Quiché, Escuintla, Huehuetenango, Retalhuleu, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa.

3.5.6.2 Usos medicinales y actividad farmacológica:

El cocimiento de corteza y flores se usa por vía oral para tratar afecciones respiratorias (amigdalitis, asma, bronquitis, fiebre, tos), digestivas (cólico, diarrea, disentería, estreñimiento, indigestión), dolor de muelas, hemorragias, mordedura de culebra, parásitos y favorecer el parto y la expulsión de la placenta. El fruto se usa para tratar fiebres y las semillas para tratar la disentería. Por vía tópica se usa para tratar afecciones dermatomucosas (estomatitis, leucorrea, piodermia, tinea, úlcera, vaginitis), tumores y apretar los dientes.

Se le atribuye propiedad acaricida, antifúngica, antineurálgica, antitusiva, astringente, cicatrizal, desinflamatoria, digestiva, emenagoga, febrífuga y tónica.

Estudios antimicrobianos demuestran que el extracto acuoso de hojas, corteza, y raíz es activo contra *E. coli* y *S. aureus*. La tintura de la corteza es activa contra *S. flexneri*, *S. typhi*, *V. cholerae*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* y *P. aeruginosa* con un CIM de 1 mg/ml (36).

3.5.7 *Alcalypha guatemalensis* Pax & Hoffm. (Hierba del cáncer):

Género de más de 400 especies en ambos hemisferios, al menos 31 presentes en Guatemala, cinco reciben el nombre popular de "Hierba de Cáncer" (*A. arvensis*, *A. guatemalensis*, *A. alopecuroides*, *A. pheloides*, *A. triloba*) y se le atribuyen múltiples propiedades medicinales, sobre todo como cura del cáncer, aunque no existe ninguna evidencia al respecto; otras especies del género presentes en la región se conocen con el mismo nombre y se usa para tratar diversas formas de cáncer.

3.5.7.1 Ubicación:

Es nativa del sur de México a Sur América en matorrales y riveras hasta 1,500 msnm. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, El Progreso, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Izabal, Petén, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa, común en terrenos removidos, secos o húmedos, en campos de cultivo y vegetación de 750-2,500 msnm.

3.5.7.2 Usos medicinales y actividad farmacológica:

En Guatemala se vende como medicina de ramas con hojas de ambas especies, el conocimiento de la planta se usa como tónico y diurético. Por vía oral se usa para tratar afecciones gastrointestinales (amebiasis, cólico, diarrea, disentería, estreñimiento, gastritis, inflamación), alergia, cáncer, dolor de cabeza, menstrual, enfermedades venéreas, reumatismo, pielonefritis, resfrío. Por vía tópica la decocción se usa en compresa, lavados y emplasto para tratar afecciones de la piel (granos, llagas, pie de atleta, piodermia) y en lavados para vaginitis, picadura de serpientes y animales ponzoñosos, pies cansados, heridas y llagas.

Se le atribuye propiedad antiemética, antiséptica, desinflamante, diurética y espasmolítica. Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas de *A. arvensis* y *guatemalensis* son activas contra *S. aureus*, *S. typhi* y *S. flexneri*. El espectro de inhibición demostró que un 60 por ciento de cepas de *S. typhi*, 50 por ciento de *S. aureus* y 15 por ciento de *P. aeuriginosa* son inhibidas por el extracto de *A. guatemalensis*; se confirmó la actividad contra *S. flexneri*, *S. aureus* no así contra *S. typhi*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*, el mejor disolvente es metanol, con un CIM 10mg/ml (36).

4. JUSTIFICACION

Las infecciones nosocomiales son una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad en los Hospitales Generales de Guatemala. En el Hospital General San Juan de Dios de la ciudad capital se reporta, que los microorganismos causantes de estas infecciones son bacterias que no pueden ser inhibidas por ningún antibiótico conocido, tal es el caso de bacterias gramnegativo (especialmente *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp.) que son resistentes a los antibióticos de elección entre los cuales se pueden citar amikacina, ampicilina, ciprofloxacina, ticarcilina, tobramicina, imipenem y cefoperazona.

En cuanto a las bacterias grampositivo se ha encontrado cierta resistencia especialmente del género *Staphilococcus* spp. Por lo que se hace necesario buscar otros medios para tratar de inhibir a las mismas y con esto disminuir la preocupante tasa de morbilidad y mortalidad a la que nos estamos enfrentando.

Guatemala es un país que cuenta con una inmensa riqueza natural, su flora es abundante y variada, lo que constituye uno de los mayores legados a los guatemaltecos.

Estudios previos realizados en el Departamento de Citohistología de la Facultad de CCQQ y Farmacia informan que existen extractos de plantas medicinales con poder antimicrobiano a las que han sido enfrentados diversidad de microorganismos que no presentan ningún grado de resistencia a los antibióticos tradicionales. Sin embargo se desconoce su poder contra bacterias con patrones de resistencia antibiótica. Con este trabajo se evidenciará la actividad de los extractos de: la corteza de *Byrsonima crassifolia* (nance), hojas de *Psidium guajava* (guayaba), hojas de *Simarouba glauca* (aceituno), hojas de *Lippia graveolens* (orégano) y hojas de *Acalypha guatemalensis* (hierba del cáncer) contra bacterias multiresistentes de origen nosocomial, lo cual será de beneficio para saber más acerca de su poder inhibitorio.

5. OBJETIVOS

- 5.1 General
 - 5.1.1 Determinar el poder antimicrobiano de los extractos vegetales mesoamericanos contra bacterias nosocomiales multiresistentes.
- 5.2 Específicos:
 - 5.2.1 Demostrar la actividad inhibitoria de los extractos: *Byrsonima crassifolia*, *Psidium guajava*, *Simarouba glauca*, *Lippia graveolens* y *Acalypha guatemalensis* contra bacterias nosocomiales multiresistentes.
 - 5.2.2 Determinar la concentración mínima inhibitoria (CIM) de los extractos que poseen actividad contra bacterias nosocomiales multiresistentes.

6. HIPOTESIS

Ninguno de los extractos vegetales mesoamericanos tienen poder inhibitorio contra bacterias nosocomiales con CIM menor de 1,000 ppm.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Universo de Trabajo:

Se utilizaron cinco de los extractos que poseen la mejor concentración inhibitoria mínima, en el lugar donde se encuentra la mayor concentración del principio activo: corteza de *B. crassifolia* (nance) hojas *A. guatemalensis* (Hierba del Cáncer), Hojas de *L. graveolens* (orégano), hojas de *P. guajava* (guayaba), hojas de *S. glauca* (aceituno) para realizar la prueba de inhibición.

7.2 Muestra:

7.2.1 Se estudió dos cepas gramnegativo y una grampositivo del género *Staphylococcus*, para hacer un total de tres cepas de bacterias multiresistentes las cuales se obtuvieron en el Hospital General San Juan de Dios y que son susceptibles a un antibiótico de elección entre las cuales se pueden citar: amikacina, ampicilina, ciprofloxacina, ticarcilina, tobramicina, imipenem y cefoperazona.

7.3 Recursos:

7.3.1 Humanos:

6.3.1.1 Investigador:

Br. Osberto René Aguilar Granados

6.3.1.2 Asesor:

Lic. Armando Cáceres

7.3.2 Institucionales

Laboratorio de Productos Fitofarmacéuticos FARMAYA, Departamento de Citohistología de la Facultad de CCQQ y Farmacia ciudad Universitaria z. 12, Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala.

7.3.3 Físicos:

7.3.3.1 Equipo:

- Balanza Analítica
- Rotavapor
- Autoclave
- Refrigerador
- Incubadora
- Mechero
- Campana microbiológica
- Unidad de Filtración con bomba de vacío
- Vortex o mezclador
- Soporte de anillo
- Desecador

7.3.3.2 Materiales:

- Tubos con tapón de rosca
- Pipetas serológicas
- Probeta graduada
- Erlenmeyer de 250 a 500 ml.
- Embudo de vástago corto
- Cajas de petri de 15mm
- Algodón
- Gasa
- Asa de nicromo calibrada
- Frascos de color ambar de 3 onzas
- Agitadores de vidrios
- Papel Filtro Whatman No. 1

7.3.3.3 Solventes y Medios

Metanol al 100%

Agar Mueller Hinton

Taxos de Inhibición

Estándar de Mc Farland al 0.5%

7.4.4 Procedimiento:

- Se utilizaron cinco de los extractos que presentaron la mejor concentración inhibitoria mínima (1,000 ppm.)

- Se realizó una extracción con metanol (donde existe la mayor concentración de principio activo).

- Se utilizó el método de dilución de Mitscher el cual consiste en: preparar agar Mueller Hinton según las instrucciones del fabricante y cuando aún no ha sido solidificado se agregará 9 ml. del medio a 1 ml. del extracto en la concentración adecuada, para obtener una dilución del extracto de 1:10; luego se mezcló y se dejó solidificar incubando toda la noche a 35°C durante 24 horas.

- Después de tener listo el medio con el extracto, se procedió a aislar y reunir por separado cada bacteria multiresistente (se definió bacteria nosocomial multiresistente a las bacterias que por su constante aislamiento son resistentes a todos o a un antibiótico de elección): dos gramnegativo (*P. aeruginosa*, *K. ozanae*) y una grampositivo (*S. aureus*) de pacientes con infección (Ver anexo 1).

- Se procedió a realizar la prueba de inhibición en el departamento de Microbiología Hospital San Juan de Dios de Guatemala.

- Se colocaron en medio Stock con aceite mineral en un tiempo no mayor de quince días antes de realizar la prueba, con esto se evitó contaminación que pudo alterar el resultado antibacteriano del extracto.

- Se verificó antes de realizar la prueba que todas fueran susceptibles por lo menos aun antibiótico de elección.

- Luego de la identificación y verificación de los géneros y especies de las bacterias, se realizó la inhibición por los extractos de la siguiente manera

se tomó del cultivo en medio stock una asada de la bacteria y se colocó en caldo tripticasa soya incubándose a 37°C durante 24 horas.

- Luego se hizo una dilución 1:100 de la bacteria con agua destilada estéril y se comparó con el estándar de MacFarland 0.5 para realizar la susceptibilidad antimicrobiana.

- También se utilizó cepas de referencia de cada género de bacteria multiresistente recolectada: *S. aureus* (ATCC 2593) *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *K. pneumoniae* (ATCC 25922), a las que se le hizo el mismo procedimiento anterior como control para verificar el poder antimicrobiano de cada extracto.

- Se elaboró una plantilla dividida en doce partes iguales y se colocó sobre ella la caja de Petri que contiene el extracto con poder antibacteriano (Anexo 3).

- Luego se tomó la suspensión de las bacterias y se inoculó una bacteria diferente en cada espacio, dejando un círculo vacío en el centro, que se incubó a 36°C durante 24 horas.

- El círculo vacío que se dejó libre de bacterias en el medio sirvió para evaluar que no hayan contaminantes en el agar con el extracto. Se observó el crecimiento, si éste es positivo indica que el extracto no tiene actividad antibacteriana y si éste es negativo indicará que el extracto tiene actividad antibacteriana.

- Se determinó el CIM con aquellos extractos que lograron inhibición del microorganismo con diferentes concentraciones del extracto que lograron inhibición del microorganismo con diferentes concentraciones del extracto vegetal (1000, 500 y 250 ppm). La metodología a utilizar se realizó con el mismo método de Mitscher, los resultados fueron interpretados así: positivo la caja con menor dilución del extracto antimicrobiano que presente inhibición.

7.5 Diseño estadístico:

El análisis estadístico de los resultados se realizó por medio de un análisis binomial se utilizó un α de 0.1, la prueba de hipótesis binomial será:

H₀: el extracto de la planta no tiene efecto inhibitorio. (P=0.5)

H_a: el extracto de la planta si tiene efecto inhibitorio. (p>0.5)

H₀: se rechazará si la probabilidad de error es <a alfa 0.1:

Variable nominal: éxito = inhibición (+)
fracaso = crecimiento (-)

Para obtener una mejor significancia, se realizaron las muestras de cada género de bacteria multiresistente en el medio utilizado por triplicado, obteniendo un total de tres ensayos antimicrobianos por medio.

Se realizó un control negativo donde se inoculó las bacterias en el medio con el solvente sin extracto, para verificar su crecimiento en el medio, y control positivo donde se inocularon las siguientes cepas de colección de cultivo tipo americano (ATCC): *S. aureus* (2593), *P. aeruginosa* (27853), *K. pneumoniae* (25922), para verificar el poder antimicrobiano de los extractos utilizados.

8. RESULTADOS

En el presente estudio se utilizaron los extractos que presentaron la mejor actividad antimicrobiana en estudios previos. En la Tabla 1 se indica los datos generales de las plantas usadas las que fueron extraídos con el disolvente metanol:

Tabla No. 1
Vegetales mesoamericanos con actividad antimicrobiana.

Nombre Científico	Nombre Común	*Organo con Actividad	No. de Registro
<i>Byrsonima crassifolia</i>	Nance	Corteza	456
<i>Psidium guajava</i>	Guayaba	Hojas	210
<i>Simarouba glauca</i>	Aceituno	Hojas	277
<i>Lippia graveolens</i>	Orégano	Hojas	456
<i>Acalypha guatemalensis</i>	Hierba del Cáncer	Hojas	348

En la Tabla 2 se presentan las bacterias nosocomiales que fueron aisladas de pacientes del Hospital General San Juan de Dios (HGSJD) y que fueron caracterizados en el departamento de Microbiología de este hospital.

Tabla No. 2
Bacterias nosocomiales multiresistentes aisladas.

Bacterias	No. de Registro	*Susceptibilidad Antimicrobiana	Aislado de
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1786	Intermedio Impenem.	Extremidad inferior derecha
<i>Klebsiella ozanae</i>	4648	Ninguno	Hemocultivo
<i>Staphylococcus aureus</i>	1786	Vancomicina	Extremidad inferior derecha

*Únicos antibióticos que causan inhibición.

En la Tabla 3 se presentan los resultados obtenidos por los extractos en estudio contra las bacterias nosocomiales multiresistentes aisladas con diferentes concentraciones inhibitorias mínimas.

Tabla No. 3

Actividad de extractos metanólicos contra bacterias nosocomiales multiresistentes.

CIM 1,000 ppm.

Extractos	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. ozanae</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Byrsonima crassifolia</i>	+	-	+
<i>Psidium guajava</i>	+	+	-
<i>Simarouba glauca</i>	+	-	+
<i>Lippia graveolens</i>	+	-	+
<i>Acalypha guatemalensis</i>	-	-	-

CIM 500 ppm.

Extractos	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. ozanae</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Byrsonima crassifolia</i>	-	-	+
<i>Psidium guajava</i>	-	-	-
<i>Simarouba glauca</i>	-	-	-
<i>Lippia graveolens</i>	+	-	-
<i>Acalypha guatemalensis</i>	-	-	-

CIM 250 ppm.

Extractos	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. ozanae</i>	<i>S. aureus</i>
<i>Byrsonima crassifolia</i>	-	-	-
<i>Psidium guajava</i>	-	-	-
<i>Simarouba glauca</i>	-	-	-
<i>Lippia graveolens</i>	-	-	-
<i>Acalypha guatemalensis</i>	-	-	-

Clave: += Inhibición, - = No inhibición.

Según los datos presentados anteriormente se rechaza la hipótesis planteada debido a que el único extracto que no mostró actividad fue *A. guatemalensis* con un CIM de 1,000 ppm.

9. DISCUSION DE RESULTADOS

En el presente estudio se utilizaron dos metodologías, para determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas en el Hospital General San Juan de Dios (HGSJD). La primera fué la técnica de Kirby-Bauer que consiste en una difusión en agar donde se impregna discos con antibióticos que es la de referencia para susceptibilidad antimicrobiana, la segunda técnica utilizada para demostrar la actividad de los extractos vegetales fue la de Mitscher *et al* que es de dilución, ésta ofrece una distribución homogénea del extracto en el agar, reduciendo al mínimo los errores que se pueden presentar (taxos vencidos o no colocados adecuadamente), ya que el antibiótico se desplaza en forma de película en todo el agar. Este método se utiliza principalmente para determinar el CIM y es el de referencia para evaluar actividad antimicrobiana de extractos vegetales, es de fácil interpretación y su análisis estadístico no es paramétrico.

Para determinar la actividad antimicrobiana de extractos vegetales mesoamericanos contra bacterias nosocomiales multiresistentes, se utilizaron los siguientes extractos: corteza de *B. crassifolia* (nance), hojas *A. guatemalensis* (Hierba del Cáncer), hojas de *L. graveolens* (orégano), hojas de *P. guajava* (guayaba), y hojas de *S. glauca* (aceituno). La concentración mínima inhibitoria que en estudios anteriores presentaron con cepas de referencia fue de 1,000 ppm y fue extraída por percolación con etanol. En el presente trabajo de investigación fueron extraídos con metanol porque también es un solvente polar y su punto de ebullición es más bajo que el etanol lo que ayudó a obtener los principios activos en menor tiempo.

Entre todos los extractos utilizados el único que no mostró actividad alguna contra las tres bacterias nosocomiales multiresistentes, fue *A. guatemalensis* con un CIM de 1,000 ppm, por lo que se acepta la hipótesis planteada sólo para este extracto, pero se rechaza para los demás extractos que sí presentaron actividad antimicrobiana y se valida su uso popular como sustancia de lavado para diferentes herida.

La bacteria que presentó mayor resistencia a los extractos vegetales mesoamericanos con actividad antimicrobiana fue *K. ozanae*, siendo inhibida sólo por *P. guajava* (CIM 1,000 ppm).

Como los extractos estudiados presentan buena actividad antimicrobiana se tiene la necesidad de realizar una evaluación preclínica para confirmar la actividad y evaluar la toxicidad de el extracto y confirmar su farmacocinética, con ésto se lograría saber acerca de la inocuidad que éstos pudieran presentar y comenzar a trabajar en la medicina experimental y lograr con ésto el usa de la medicina natural que pudiera dar una alternativa para el tratamiento de diferentes afecciones.

10. CONCLUSIONES

- 10.1 Los extractos vegetales mesoamericanos estudiados tienen actividad contra bacterias nosocomiales multiresistentes.
- 10.2 El extracto que presentó mejor actividad contra *S. aureus* fue el de las hojas de *Bysonima crassifolia* (nance) con CIM de 500 ppm.
- 10.3 El extracto que presentó mejor actividad contra *P. aeruginosa* fue el de las hojas de *Lippia graveolens* (orégano) con un CIM de 500 ppm.
- 10.4 El único extracto que presentó actividad contra *K. ozanae* fue el extraído de las hojas de *Psidium guajava* (guayaba) con un CIM de 1,000 ppm.
- 10.5 El extracto que no presentó actividad alguna contra ninguna bacteria fue el de *Alcaypha guatemalensis* con un CIM de 1,000 ppm.

11. RECOMENDACIONES

11.1 Ampliar el estudio con otras plantas que presenten actividad de uso etnomédico o por bioprospección tales como: las hojas de *Tagetes lucida* (pericón) y de *Eupatorium semialatum* (bachee), que ya se han trabajado en el laboratorio donde se realizó esta investigación.

11.2 Iniciar estudios de fraccionamiento bioguiado para contribuir a la elucidación del principio activo de los extractos vegetales mesoamericanos con actividad antimicrobiana.

11.3 Evaluar la toxicidad aguda y crónica de los extractos con actividad antimicrobiana.

11.4 Publicar los resultados del presente estudio, confirmando la utilidad de las plantas como alternativa terapéutica en el caso de diversas afecciones bacterianas.

11.5 Efectuar la evaluación preclínica, que permita saber acerca de la inocuidad de extractos bioactivos para el uso en la clínica experimental.

12. REFERENCIAS

1. Malagon G, "Infecciones Hospitalarias". Ed. Medica Panamericana 1era. Edición. 1995, pag. 931-55
2. www.Mylotteacsu.buffalo.edu "Nosocomial Infections in Hospital"
3. www.jackiesrdcccd.edu "Nosocomial Infections in Patients Pediatric"
4. Wenzel R, "Nosocomial Candidemia: Risk Factor and Attributable Mortality". Clin Infect Dis 1995;20 pag 1531-4
5. Jarvis w, "Epidemiology of Nosomial Fungal Infections, With Emphasis on Candida Species". Clin Infect Dis 1995;20 pag 1526-30
6. Ponce A, "Manual de Prevención y Control de Infecciones Hospitalarias". Manual OMS Vol. IV, 1996; 13, pag: 22-25
7. Alcazar M, Aguilar R, Palacios L, "Granulación Toxica relacionada con Sepsis de *Klebsiella ozanae* multiresistente en la Unidad de Cuidados Intensivos del HGSJD Noviembre de 1998", Boletín Epidemiologico HGSJD Noviembre 1998;1, pag: 1-4
8. Murray P, "Microbiología Médica". Hacourt Brace, 2da. Ed. Madrid España 1997:150-65, pag. 239-55.
9. Cabello R, "Microbiología y Parasitología Humana", 1era. Ed. Editorial Panamericana, 1995, pag. 204-305
10. Zinsser, "Microbiología", 20 Ed. Editorial Panamericana, 1994:535, pag, 589-735.
11. Andel, Benett, Dolin "Enfermedades Infecciosas Principios y Práctica", Editorial Panamericana, Enero 1997; pag. 236-45
12. www.som1.ab.umd.edu/~smpath/schwalr.htm "Specializeade genetic of *Acinetobacter calcoaceticus*"
13. Ortíz A, "Medición de la Susceptibilidad Antimicrobiana y su importancia en la Aplicación Clínica", Boletín Epidemiologico del HGSJD octubre-noviembre de 1997;1 pag. 2-10
14. Kpecko D, "Specializeade genetic recombination system in bacteria: Their involvement in gene expression and evolution". Prog Mol Subcell Biol. 1980;7 pag.135-245

15. Kpecko D, "Involvement of specialized recombination in the evolution and expression of bacterial genes. In: Stutgart C, Rozel KR, eds. *Plasms and Transposons*". New York: Academic Pres. 1980; 65-206
16. Mora E, "Combinaciones de los inhibidores de β -lactamasa". *Infectol* 1996;16 pag. 126-128.
17. Medeiros A, " β -lactamases". *Br. Med Bull.* 1994;40; pag. 18-27.
18. Mc-Donell RW, "Congugation transfer of gentamicin resistance plasmids intra-and interspecifically in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemoter* 1993;23; pag. 151-160.
19. Goldestein FW, "30 years of penicilin-resistant *Streptococcus pneumoniae*: Myth or reality?" *Lancet* 1997; 350 pag. 233-34
20. Stranchan S, "Therapy for penicilin-resistant *Strepticoccus pneumoniae*". *J. Med. Microbiol* 1995; 43 pag. 237-38
21. Bush K, "Clasifcation of β -lactamases: Groups 1, 2a, 2b and 2b. "Antimicrob Agents Chemoter. 1990;33 pag. 271-6
22. Jacoby GA, "More extended-spectrum β -lactamases". *Antimicrob Agents Chemoter* 1991;33 pag. 264-70
23. Rosenberg Jon, "Methicillin-resistan *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the community: Who's Watching?" *Lancet* 1995;346 pag. 132-33
24. Speller E, Johnson A, Jame D, "Resistence to Methicillin and other antibiotics in isolates of *Staphylococcus aureus* from blood and cerebrospinal fluid, England and Wales, 1989-1995". *The Lancet* 1997;350 pag. 323-25
25. Papanicolaou GA, "Novel plasmidmediated β -lactamasa (MIR-1) conferring resistance to oxy-imino-and alphas-methoxy- β -lactams in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*". *Antimicrob Agents Chemoter* 1990;34 pag. 2200-9.
26. Watanabe M, "Tranaferable imipenen resistance in *Pseudomona aeruginosa*". *Antimicrob Agents Chemoter* 1991;35 pag. 147-151
27. www.128.205.200.103/id/NI_Data/NI_ID_web_acn.html. "The β -Lactamase"
28. www.users.vnet.net/allbell/mrsa.html. "Antibiotic-resistant about gram negative"

29. Thomson C, "Back mutations to the THEM-1 β -lactamase from TRC-1 lead to restored sensitivity to clavulanic acid". J. Med. Microbiol 1995;45 pag. 429-32
30. Isenberg H. "Essential Procedures for Clinical Microbiology" 1era. Edición American Society for Microbiology. 1998 pag. 205-254.
31. Reicham P, *et al.* "Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Germany: genetic relation ship to clones other Eurpean countris". J. Med Microbiol 1995; 43 pag. 377-85.
32. Wain J, *et al.* "Quinolone-Resistant *Salmonella typhi* in Viet Nam: Molecular basis of resistance and clinical response to treatment". Clin Infect Dis 1997;25 pag. 1404-10.
33. www.phenix.biotech.pharmacia.se/refs/bact/btypa206.htm. "Análisis de Estructura Molecular Bacteriana por Ingeniería Genética".
34. www.computertechnika.hu/nosoe.html. "Mecanismos de Acción de los Antibióticos".
35. www-ai.ijs.si/MarkoBohanec/ptah.html "Proteins Integrals of Membrans relation with resistance"
36. Cáceres, "Plantas de Uso Medicinal en Guatemala". Editorial Universitaria 1era. Ed, Guatemala 1992 Pp:52,305.

13. ANEXOS

Anexo 1

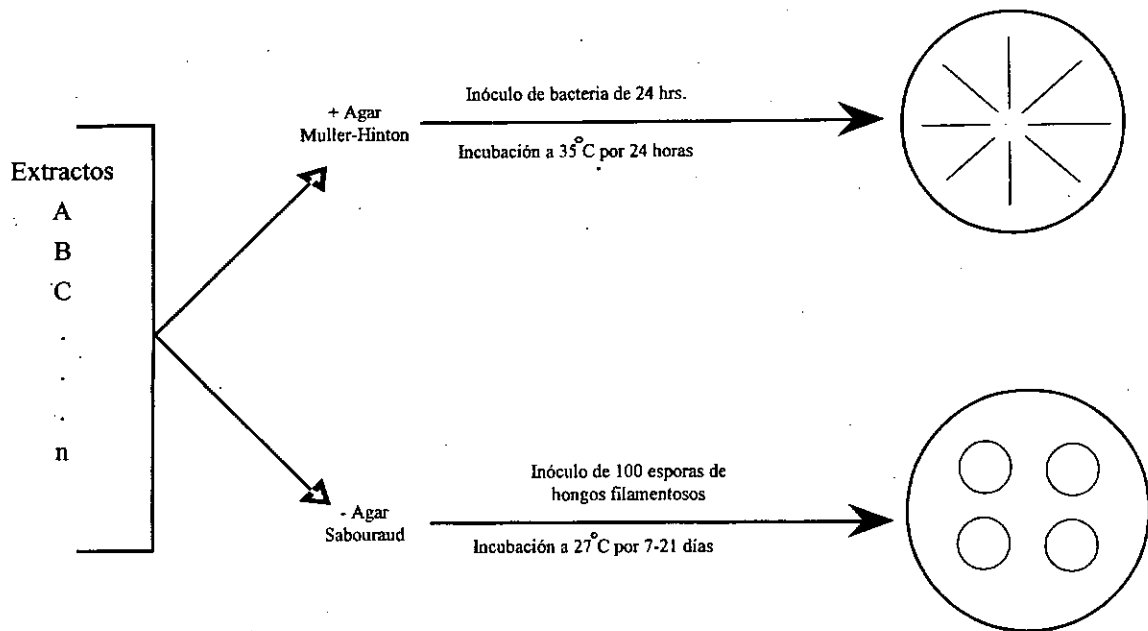
Definiciones para establecer la existencia de Infección Nosocomial

Sitio	Criterio
Bacteremia	Hemocultivo Positivo
Infección de vías Respiratorias superiores Sinusitis Otitis	Para faringoamigdalitis, catarro común y rinorrea purulenta: cuadro clínico. Cuadro Clínico y Rx con imagen compatible Cuadro Clínico y explotación otológica compatible
Infección de vías respiratorias inferiores	Cuadro Clínico y nuevo infiltrado en Rx toráx.
Gastroenteritis	Aumento brusco en el número y/o proporción de líquidos en las evacuaciones (diarrea) de dos o más días de duración.
Infecciones superficiales	Sitios de venopunción: pus en el sitio de entrada o flebitis séptica.
Conjuntivitis	Presencia de hiperemia y/o inflamación palpebral con secreción ocular
Onfalitis	Inflamación y/o hiperemia con pus en el ombligo.
Piodermia	Cuadro Clínico
Infecciones Urinarias	Más de 10 ⁵ Bacteremia por ml en cultivo
Infecciones del Sistema Nervioso Central	Meningitis: Cuadro Clínico con un citoquímico compatible o cultivo LCR positivo. Encefalitis y absceso cerebral: cuadro clínico con o sin citoquímico o cultivo LCR.
Infecciones virales sistémicas	Cuadro Clínico
Infecciones postquirúrgicas	Pus en el sitio de la herida quirúrgica
Otros:	Osteomielitis: Cuadro Clínico y Rx con imagen compatible. Peritonitis: Cuadro Clínico y/o citoquímico o cultivo de líquido.

*Ponce S, "Manual de Prevención y Control de Infecciones Hospitalarias", Organización Panamericana de la Salud, serie de HSP/Manuales Operativos PALTEX 1997; IV(13):25

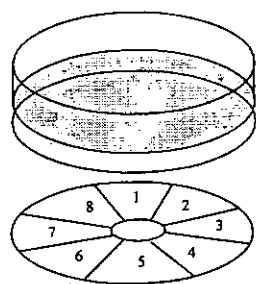
ANEXO 2

Demostración de la Actividad Antifúngica y Antibacteriana

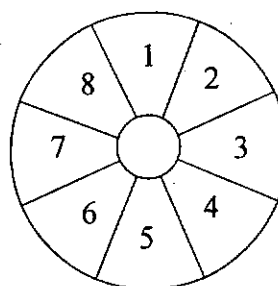


*Cáceres, "Plantas de Uso Medicinal en Guatemala", Editorial Universitaria 1era. Ed, Guatemala 1992 Pp: 52,305

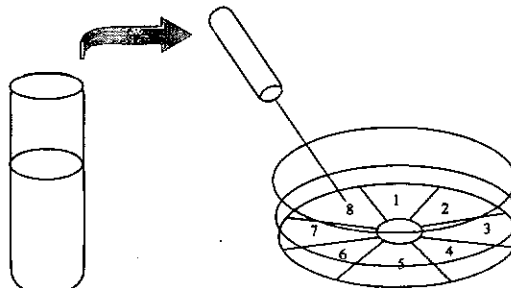
Anexo 3.



Caja de agar con el extracto a estudiar y la plantilla



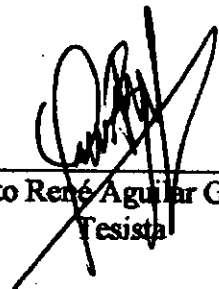
Plantilla dividida en ocho partes iguales 7 numeradas



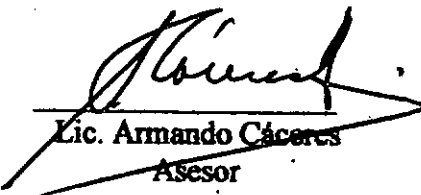
Suspensión de Bacterias
(dilución 1:100)

Inoculativo haciendo una estria de cada bacteria diferente en cada espacio, dejando un círculo vacío en el centro

* De León M, Inhibición de Bacterias Patógenas por Siete Plantas Nativas del Departamento de Alta Verapaz Para el Tratamiento de Infecciones. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de CCQ y Farmacia) 1995 pag. 37-38



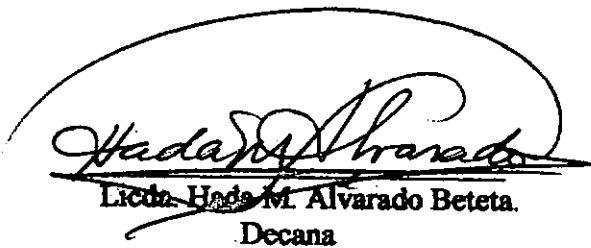
Osberto René Aguilar Granados
Resista



Lic. Armando Cáceres
Asesor



Licda. Heidi Logemann, Lima
Directora de Escuela



Licda. Hada M. Alvarado Beteta.
Decana