

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



**DETECCIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE QUINCE  
EXTRACTOS DE PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA CONTRA  
*Nocardia brasiliensis***

Jaqueline Esther Morales León

**QUÍMICA BIÓLOGA**

Guatemala, Mayo de 2,011

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man on horseback, wearing a crown and holding a staff. Above him is a shield with various symbols, including a castle, a lion, and a cross. The shield is supported by two pillars, one labeled 'PLUS' and the other 'ULTRA'. The entire emblem is surrounded by a circular border containing the Latin motto 'CETERAS OIBUS CONSPICUA + CAROLINA ACADEMIA GOACSTEMALENSIS INTER'.

**DETECCIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE QUINCE  
EXTRACTOS DE PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA CONTRA**

***Nocardia brasiliensis***

**INFORME DE TESIS**

**Presentado por**

**Jaqueline Esther Morales León**

Para optar al título de

**QUÍMICA BIÓLOGA**

Guatemala, Mayo de 2,011

## JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Úrizar	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. José Roy Morales Coronado	Vocal IV
Br. Cecilia Liska De León	Vocal V

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS**

Por regalarnos la vida y la oportunidad de de gozar triunfos como este y por permitirme compartirlo con todos mis seres queridos.

### **A MIS PADRES**

Pilares fundamentales en nuestra vida. Por sus consejos, su sacrificio, su esfuerzo, su cariño y su apoyo incondicional. Si ustedes este sueño nunca se hubiera hecho realidad

### **A MIS HERMANAS**

Por su cariño su apoyo y ayuda en todo momento, en especial en los momentos difíciles.

### **A MI FAMILIA**

Por sus consejos cariño y apoyo en todo momento.

### **A NUESTROS AMIGOS**

Quienes con su ayuda, apoyo y comprensión, nos alentaron a lograr esta hermosa realidad.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por brindarnos las herramientas necesarias para nuestra formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, por todos los conocimientos adquiridos.

A la Escuela de Química Biológica, por el apoyo brindado en la realización de esta investigación.

Al Departamento de Citohistología, y a todas las personas que laboran en este departamento por sus consejos, apoyo y conocimiento brindado y por ser el ente para la realización de esta Tesis.

A mis Asesores, Lic. Armando Cáceres, y la MSc Isabel Gaitán por su paciencia, ser mis guías por sus conocimientos y experiencia brindados, para el desarrollo de trabajo de tesis.

A mis Revisoras, MA. Margarita Paz y Lida. Karla Lange, por su disponibilidad y colaboración en la revisión de este trabajo. Un agradecimiento muy especial por los consejos, confianza y apoyo brindados.

En general a todas y cada una de las personas que estuvieron dispuestas a brindarme su tiempo, conocimientos, apoyo, ánimo, pero sobre todo su cariño y amistad, y que han vivido junto conmigo la realización de este trabajo, con sus altos y bajos. Muchas Gracias.

## INDICE

I.	RESUMEN .....	1
II.	INTRODUCCIÓN .....	2
III.	ANTECEDENTES .....	4
A.	Actinomicetos .....	4
B.	<i>Nocardia</i> .....	4
1.	Clasificación científica de <i>Nocardia</i> .....	5
2.	Epidemiología .....	5
3.	Virulencia.....	6
4.	Patogenicidad.....	6
5.	Diagnóstico .....	10
6.	Complicaciones.....	13
7.	Morbilidad y mortalidad .....	13
8.	Tratamiento .....	13
C.	Alternativas terapéuticas.....	14
1.	Fitoterapia en Guatemala .....	15
D.	Monografías de las plantas en estudio.....	15
1.	<i>Acalypha pseudoalopercuroides</i> Jacq.....	16
2.	<i>Bourreria huanita</i> (La Llave & Lex.) Hemsl.....	16
3.	<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) HBK.....	17
4.	<i>Cassia grandis</i> L.....	17
5.	<i>Cornutia pyramidata</i> L.....	18
6.	<i>Lippia graveolens</i> HBK.....	19
7.	<i>Phlebodium pseudoaureum</i> Smith .....	19
8.	<i>Piper aduncum</i> L.....	20
9.	<i>Piper jacquemontianum</i> Kunth.....	20
10.	<i>Rhizopora mangle</i> L.....	21
11.	<i>Smilax domingensis</i> Willd.....	22
12.	<i>Solanum nigrescens</i> Mart. & Gal.....	23
13.	<i>Ternstroemia tepezapote</i> Schlect. & Cham.....	24
14.	<i>Valeriana prionophylla</i> Standl.....	25
15.	<i>Wigandia urens</i> (R. & P.) HBK var. <i>caracasana</i> .....	25
E.	Pruebas de susceptibilidad antibiótica.....	26

1.	Método de difusión .....	26
2.	Métodos bioautográficos.....	27
3.	Método de dilución .....	28
4.	Métodos de proporción y de relación de resistencia.....	28
5.	Método de prueba - E.....	29
6.	Método colorimétrico de MTT .....	29
IV.	JUSTIFICACIÓN .....	30
V.	OBJETIVOS .....	31
VI.	HIPÓTESIS.....	32
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	33
A.	Universo de Trabajo .....	33
B.	Recursos.....	33
C.	Procedimiento.....	36
D.	Diseño del estudio .....	38
VIII.	RESULTADOS.....	39
IX.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	42
X.	CONCLUSIONES .....	45
XI.	RECOMENDACIONES.....	46
XII.	REFERENCIAS.....	47
XIII.	ANEXOS .....	53

## I. RESUMEN

En el presente estudio fue evaluada la actividad inhibitoria de 15 extractos de plantas contra tres cepas de *Nocardia brasiliensis* (cepas 518, 866 y RM159). Las plantas fueron seleccionadas basándose principalmente en el registro de actividad antibacteriana y antifúngica reportada en estudios anteriores (24-36).

Los extractos utilizados fueron: *Acalypha pseudoalopercuroides*, *Bourreria huanita*, *Byrsonima crassifolia*, *Cassia grandis*, *Cornutia pyramidata*, *Lippia graveolens*, *Phlebodium pseudoaureum*, *Piper aduncum*, *Piper jacquemontianum*, *Rhizophora mangle*, *Smilax domingensis*, *Solanum nigrescens*, *Ternstroemia tepezapote*, *Valeriana prionophylla* y *Wigandia urens* var. *caracasana*.

El ensayo se realizó basándose en la metodología descrita por Brancato y Golding modificado por McRae adaptado a las condiciones de crecimiento de *Nocardia brasiliensis* (incubación a 37°C durante 3-5 días) (50).

La validación del método se realizó por medio de una concentración inhibitoria mínima (CIM) del tratamiento de elección, trimetoprim sulfametoxazole, contra los tres aislamientos clínicos de *Nocardia brasiliensis* utilizando concentraciones dos puntos por debajo y por arriba del punto de corte (2/38µg/mL) obteniendo resultados satisfactorios que validan el presente estudio (59).

Los extractos que presentaron actividad significativa ( $p = 0.0312$ ), en la fase de tamizaje fueron el etanólico de corteza de *C. grandis*, etanólico de hoja de *C. pyramidata*, metanólico de hoja de *P. jacquemontianu* y, metanólico de raíz de *V. prionophylla*.

A los extractos con actividad significativa se les determinó la CIM mostrando *C. grandis* la mejor actividad (0.25mg/mL). Los extractos de *C. pyramidata*, *P. jacquemontianum* y *V. prionophylla* presentaron actividad de 1 mg/mL. Aunque se esperaban mejores resultados, una CIM de 0.25 mg/mL puede ser considerada como aceptable para futuros ensayos para validar el uso popular de la raíz de *C. grandis* en afecciones subcutáneas causadas por *N. brasiliensis*.

*L. graveolens*, *P. pseudoaureum*, *P. aduncum*, *R. mangle*, y *W. urens* var. *caracasana* presentaron actividad contra al menos uno de los tres aislamientos clínicos. Esta variabilidad puede ser debida a la procedencia de las Nocardias ya que se tratan de aislamientos clínicos.



## II. INTRODUCCIÓN

*Nocardia* es un género de bacterias Gram-positivo que se encuentran en todo el mundo, en suelos ricos en materia orgánica. Son catalasa-positivo y tienen la capacidad de formar agregados filiformes, parecidos a las hifas fúngicas. Su cultivo en un medio líquido no produce una turbidez uniforme como en el caso de las bacterias, sino que forman cúmulos y su crecimiento no sigue el modelo exponencial de las bacterias sino el propio de los hongos. Algunas especies son patogénicas causando patologías en el sistema respiratorio, piel, y sistema nervioso central. La mayoría de las infecciones causadas por *Nocardia* se adquieren por inhalación de la bacteria o a través de traumatismos (1-3).

*Nocardia* puede afectar a cualquier órgano en el cuerpo, pero por lo general desencadenan cinco patologías: neumonía, infecciones en la piel como úlceras, nódulos, actinomicetoma, enfermedades linfocutáneas, celulitis y abscesos subcutáneos, nocardiosis diseminada que puede causar patologías en riñones y formación de abscesos en el sistema nervioso central (2-4).

*Nocardia brasiliensis* está asociada a infecciones en la piel, principalmente micetoma, el cual se caracteriza por ser una enfermedad local, crónica y progresiva de la piel, tejido subcutáneo y óseo, que cursa con tumefacción que en muchas ocasiones es desfigurante, fístulas que drenan un exudado serosanguinolento o purulento que contiene gránulos, pudiendo causar un daño severo en el hueso y en algunos casos hasta la muerte (5-7).

El micetoma en Guatemala ocupan el segundo lugar en incidencia entre micosis subcutáneas, afecta mayormente a campesinos, amas de casa y pacientes inmunodeprimidos entre la segunda y cuarta década de la vida, predominando en el sexo masculino en una proporción 4:1. Hasta 1995 se han diagnosticado aproximadamente 195 casos de micetoma, tanto en el Laboratorio de Micología de la Policlínica del IGSS como en el Servicio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la USAC. De éstos, 16 fueron eumicetoma y el resto actinomicetoma. El 97% del micetoma es causado por bacterias aeróbicas y de éstas, el 80% por *Nocardia brasiliensis* (6, 8, 17-19).

El tratamiento consiste en una combinación de dos antibióticos en dosis muy prolongadas de 6 a 12 meses. Debido al uso prolongado y al costo que representa es importante validar

tratamientos alternativos, siendo las plantas las que han recibido especial atención debido al éxito de la fitoterapia, a los pocos efectos secundarios y al bajo costo de las mismas.

El presente trabajo evaluó la actividad anti-*Nocardia brasiliensis* de 15 extractos vegetales, los cuales fueron elegidos debido a su actividad bacteriana en estudios previos (24-36).

### III. ANTECEDENTES

#### A. Actinomicetos

Los actinomicetos tienen la capacidad de formar agregados filiformes, parecidos a las hifas fúngicas de un micrómetro de espesor, formando un micelio ramificado que puede subdividirse en células bacterianas aisladas. Su cultivo en un medio líquido no produce una turbidez uniforme como en el caso de las bacterias sino que forman aglomerados y su crecimiento no sigue el modelo exponencial de las bacterias sino el propio de los hongos. Los actinomicetos son numerosos y están ampliamente distribuidos no solamente en el suelo, desde su superficie hasta grandes profundidades, en abonos, cieno de los ríos y fondo de los lagos. En general prefieren los medios alcalinos y son predominantemente saprófitos aunque se conocen patógenos de plantas, animales domésticos e incluso humanos.

En zonas templadas, existen de 100,000 a 100 millones de actinomicetos por gramo de suelo, siempre que el pH no baje de 5, estas cifras bajan mucho en turbas ácidas, tundra y suelos encharcados. En áreas alcalinas y secas su abundancia es espectacular, pasando del 10-50 %, normal, al 95 % de la flora total. En general prefieren zonas templadas de pastos y hierbas, luego terrenos cultivados y finalmente vírgenes. Abundan más en suelos con materia orgánica y abonados con ella. Al utilizar abonos amoniacales, que dan lugar a ácido nítrico, se elimina viabilidad a los actinomicetos, mientras que la adición de cal la incrementa. Si la humedad pasa a constituir el 85 - 100 % de la capacidad del suelo, los actinomicetos apenas aparecen debido a la falta de oxígeno; por el otro extremo soportan sequías y son encontrados en zonas desérticas. Su temperatura óptima reside entre 28 - 37° C y sus estaciones anuales más favorables son la primavera y el otoño (1).

#### B. *Nocardia*

*Nocardia* es un género de bacterias aerobias estrictas, Gram positivo y débilmente alcohol-ácido resistentes. Forman cadenas cortas o filamentos con ramificaciones. Se encuentran en el suelo y su función es de degradar la materia orgánica. Algunas cepas son patogénicas para los humanos. Crece fácilmente, a temperatura inferior a 37°C, en medios simples como el agar

sangre o el agar de Sabouraud. *N. brasiliensis* es uno de los agentes responsables del micetoma o maduromicosis, enfermedad que se describe junto con las micosis

La mayoría de las infecciones causadas por *Nocardia* se adquieren por inhalación de la bacteria o a través de traumatismos. *N. brasiliensis* es causante de infecciones en la piel y un 30% de las mismas son en pacientes inmunocomprometidos (5).

Es de interés ya que libera factores de virulencia que le permiten evadir los mecanismos normales de defensa en humanos. La mayoría de las cepas poseen el "factor cordón". El género incluye al menos treinta especies diferentes, de las cuales diez de ellas han sido aisladas de seres humanos (2,5).

### **1. Clasificación científica de *Nocardia***

Dominio: Bacteria

Filo: Actinobacteria

Orden: Actinomycetales

Suborden: Corinebacterineae

Familia: Nocardiaceae

Género: *Nocardia* (2,3)

### **2. Epidemiología**

La forma más común de enfermedad en los humanos es una neumonía de progresión lenta, cuyos síntomas comunes incluyen tos, disnea (dificultad para respirar) y fiebre. No es raro que esta infección se propague a la pleura o a la pared torácica. Enfermedades pulmonares preexistentes, especialmente la proteinosis alveolar pulmonar, aumentan el riesgo de contraer una neumonía nocardial. Todos los órganos pueden verse afectados si tiene lugar una propagación sistémica. En aproximadamente el 25-33% de los pacientes la infección por *Nocardia* toma la forma de encefalitis y/o la formación de un absceso cerebral. También puede causar una gran variedad de infecciones cutáneas tales como el actinomicetoma (especialmente *Nocardia brasiliensis*), trastornos linfocutáneos, celulitis y abscesos subcutáneos (6,7).

Las infecciones causadas por *Nocardia* son raras pero su prevalencia está incrementando en países como los Estados Unidos, África e India.

Las infecciones por *Nocardia* son usualmente adquiridas por:

- Inhalación de la bacteria, pudiendo causar infección pulmonar o una diseminación hematológica, septicemia (esto ocurre en el 90% de los casos en humanos)
- Inoculación directa por un traumatismo en la piel.

Afecta en su mayoría a adultos, en especial hombres. No se presenta por temporadas y las epidemias son raras.

Para la protección es decisiva una respuesta neutrófila potente. La respuesta humoral apenas influye en eliminación de microorganismos establecidos. La inmunosupresión por quimioterapia o infección por VIH favorece la infección (2,3,8-10).

### **3. Virulencia**

*Nocardia* es un organismo interesante, ya que tiene muchas maneras de evadir el sistema inmunológico humano. Además, algunas especies pueden producir enzima convertasa y antibióticos. Esta versatilidad ha inspirado a los investigadores a tratar de determinar el genoma de *Nocardia*. Hasta ahora, la investigación ha sido difícil debido a problemas prácticos, por ejemplo la búsqueda de los vectores adecuados para estudiar la secuencia de genes (11).

Las distintas especies de *Nocardia* son bacterias patogénicas de baja virulencia, por lo cual solo son clínicamente significantes como infecciones oportunistas en sujetos de sistema inmune débil, tales como niños, ancianos y pacientes inmunocomprometidos. Los factores de virulencia son las enzimas catalasa y superóxido dismutasa (que inactivan las especies reactivas del oxígeno que de otro modo serían tóxicas a la bacteria, además de un "factor de cordón" (6-6 dimicolato de trehalosa), que interfiere con la fagocitosis de los macrófagos evitando la fusión del fagosoma con el lisosoma (2-4,11).

### **4. Patogenicidad**

Cuando los microorganismos son inhalados a partir polvo proliferan como filamentos ramificados en los pulmones. En la pared celular los ácidos micólicos contribuyen a inhibir la fusión fagosoma-lisosoma e impiden la destrucción por fagocitos. El microorganismo puede sobrevivir intracelularmente. Los abscesos supurados provocan diseminación al SNC (sistema

nervioso central) a través del sistema circulatorio. Al ser inoculados en piel o tejido blando, la proliferación provoca abscesos crónicos y micetomas (granulomas de microorganismos), sobre todo en el tercio distal de las extremidades. También gránulos tisulares (3,12,13).

El riesgo de contraer una infección por *Nocardia* se incrementa en pacientes inmunocomprometidos incluyendo:

- Pacientes con enfermedad pulmonar preexistente como una enfermedad obstructiva crónica y proteinosis alveolar.
- Uso crónico de esteroides como azatioprine y metotrexato
- Pacientes con órganos trasplantados como trasplante de riñón
- Pacientes con HIV/SIDA (2,12-15,22)

*Nocardia* puede afectar a cualquier órgano en el cuerpo pero por lo general desencadenan cinco patologías:

#### **a. Actinomicetoma**

El actinomicetoma es una enfermedad infecciosa granulomatosa crónica, que clínicamente está caracterizado por deformación del área afectada, inflamación y fístulas que drenan material seropurulento y granos, pudiéndose desarrollar un daño severo en la piel, tejido subyacente, el hueso en casos severos y en algunos casos hasta la muerte. Se conoce también como “Pie de Madura”, por afectar con mayor frecuencia los miembros inferiores y a la región de la India donde la afección es más frecuente (6,7).

La mayor frecuencia se encuentra en la India, noreste y este de África, México, Venezuela y algunos países de Centro y Sudamérica; también se han reportado casos esporádicos en el sur de Europa, Asia y Estados Unidos. La enfermedad es más frecuente en regiones con precipitación pluvial alta, pero también se observa en zonas secas y semiáridas (6-7).

En Guatemala, ocupa el segundo lugar de mayor incidencia de micosis subcutáneas y la enfermedad se observa principalmente en hombres entre la segunda y cuarta décadas de la vida, en una proporción de entre 3 ó 4:1. Cuando afecta a niños, esta diferencia es mucho menor. La enfermedad predomina en campesinos, pero también se ha encontrado en individuos con muy diferentes ocupaciones (estudiantes, profesionales, obreros, amas de casa etc.) (6-7).

El agente causal es inoculado a través de heridas o abrasiones de la piel causadas por espinas de acacias, rosales y cactus que permiten la introducción del microorganismo (6).

El período de incubación varía de cuatro semanas a varios meses. Inicialmente puede pasar desapercibido como un quiste o una infección bacteriana (minimicetoma) que progresa lentamente. La enfermedad se disemina por contigüidad a los tejidos subyacentes, hueso y órganos. Las diseminaciones linfáticas y hematógenas son raras (6-7).

Se localiza con mayor frecuencia en el miembro inferior (75%) y de éste el pie (44%), en la articulación tibiotarsiana, pierna y muslo son los más afectados; le siguen el tronco (cara anterior de tórax), región deltoidea y lumbar (10%) y miembros superiores en brazo y antebrazos (10%). Las localizaciones múltiples con afectación de dos o más segmentos son raras (4%); se pueden encontrar lesiones en pie y piernas, dorso y cuello, tórax y brazo, brazo y codo, codo y pie, entre otros. La diseminación se lleva a cabo por inoculación múltiple, sin embargo se ha propuesto que en algunas ocasiones la vía hematógena es la responsable de esto, sobre todo en pacientes que cursan con inmunosupresión (6, 24, 17).

## **b. Neumonía**

La neumonía causada por *Nocardia* no se distingue con facilidad de las otras neumonías. Usualmente subaguda que se desarrolla durante semanas pero puede presentarse en forma aguda o crónica en pacientes severamente inmunocomprometidos. Se debe de sospechar de *Nocardia* en cualquier neumonía prolongada que no responde a los antibióticos empíricos.

Los síntomas de una neumonía causada por *Nocardia* pueden incluir tos, fiebre, malestar general, anorexia, sudoración nocturna, pérdida de peso, hemoptisis, dolor de pecho y disnea.

Rayos X en el tórax puede revelar infiltrados o nódulos múltiples que pueden confundirse con metástasis pulmonar. Algunos casos de nocardiosis pulmonar se presentan como una masa endobronquial en lugar de una pulmonía. El 30% de los pacientes presentan efusión pleural que usualmente es un empiema pleural.

Puede darse el caso de una diseminación de la neumonía como pericarditis o mediastinitis, algunos pacientes con desórdenes crónicos a nivel del pulmón tiene un cultivo de esputo positivo para *Nocardia* aunque no presenten otras características que sugieran una infección activa.

Puede existir una propagación local de la neumonía como, por ejemplo, pericarditis o mediastinitis. *Nocardia* también pueden causar traqueitis, laringitis y sinusitis, pero estos son menos frecuentes (11-13).

### **c. Nocardiosis diseminada**

*Nocardia* al ser inhalada y puede ocasionar neumonía y difundir a la sangre y otros órganos. Hasta el 50% de las neumonías se difunde; en el 20% de los pacientes que inhala *Nocardia* y no desarrolla una enfermedad pulmonar, ocurre diseminación sanguínea, lo que provoca enfermedades en los riñones, tracto gastrointestinal y el sistema nervioso central.

La patología de la enfermedad es usualmente la formación de abscesos supurativos que causan la disfunción de los órganos afectados. Sin embargo, el sistema nervioso central es el más comúnmente afectado (11).

### **d. Sistema nervioso central**

El sistema nervioso central (SNC) se ve afectado en más de 30% de los casos de infección por *Nocardia*. Esta infección generalmente resulta en la formación de abscesos y presenta las siguientes características: dolor de cabeza, fiebre, déficit neurológico focal dependiendo del área afectada del cerebro ocasiona convulsiones, parálisis del nervio craneal, algunos pacientes pueden ser asintomáticos.

Los abscesos suelen ser suprasensoriales y pueden ser múltiples y localizados. Se puede drenar en el espacio subaracnoideo, aunque el examen del líquido cefalorraquídeo no suele revelar los organismos de *Nocardia* (11).

### **e. Ojos**

La infección de *Nocardia* en los ojos es rara y lleva a la queratitis y generalmente le sigue una lesión traumática en los ojos, sin embargo, es potencialmente reversible con tratamiento (11).



## 5. Diagnóstico

### a. Cuadro clínico

Clínicamente se observa un aumento de volumen con deformación de la región y las lesiones toman un aspecto nodular con fístulas, por las que drena un líquido filante, seropurulento que contiene “granos”. En ocasiones el orificio de salida presenta un reborde mamelonado y en el fondo hay una depresión, pueden encontrarse ulceraciones y costras melicéricas, cicatrices retráctiles hipopigmentadas o hiperpigmentadas. Los actinomicetomas cursan con cuadros más inflamatorios, con numerosas fístulas y son más osteófilos (17,24).

Los gránulos de los eumicetos pueden ser de color oscuro o blanco, lo cual permite orientar y delimitar al probable agente causal a un número más reducido de hongos (19,26).

### b. Examen directo

El examen se realiza en forma directa de la secreción de la fístula en donde se buscan los granos que van a tener forma, tamaño, color, estructura y afinidad tinctorea características y esto va a orientar al diagnóstico y al agente etiológico. El “grano” de *Nocardia* es una estructura pequeña, de 50-200  $\mu\text{m}$  de diámetro, blanda, blanco amarillento, multilobulado o vermiforme, con numerosas clavav periféricas que dan un aspecto iridiforme (4,19,20).

### c. Cultivo

El cultivo se realiza en agar Sabouraud y en un lapso de 8-15 días, donde se observa crecimiento de colonias blanco-amarillentas con periferia anaranjada u ocre, de aspecto yesoso superficie plegada y consistencia acartonada. Son estrictamente aerobios con la facultad de crecer en un amplio rango de temperaturas. También pueden presentar un olor característico a moho (2-4, 8-20).

### d. Frotis

Se observan filamentos ramificados, que asemejan ramas dependiendo del ángulo, parcialmente acidorresistentes

*Nocardia* es Gram positivo, sin embargo, las apariencias de la coloración de Gram pueden ser engañosas. Por ejemplo, los pacientes generalmente son tratados con antibióticos de rutina para empezar y estos pueden no sólo frenar el crecimiento de la *Nocardia*, sino también llevar a cambios en la pared lo que significa que es incapaz de mantener la tinción de Gram y, por tanto, aparece como Gram negativo (19,20).

#### **e. Histopatología**

El estudio histopatológico es uno de los métodos más útiles para la identificación de la especie; fue utilizado por primera vez en 1906 por Brumpt, y posteriormente en el Instituto Pasteur de París se destacó la importancia del estudio histológico, con determinación y características de los granos. La tinción fundamental para su estudio es hematoxilina y eosina, donde los filamentos de los granos de *Nocardia* se tiñen de azul pálido por la hematoxilina, se disponen densamente en la periferia y son escasos en el centro. En ocasiones se aprecian granulaciones en su superficie. Se encuentran rodeados en su totalidad por clavas eosinófilas que miden de 8-18  $\mu\text{m}$  de largo por 2-3  $\mu\text{m}$  de ancho. Cuando el agente causal invade los huesos el grano se observa de mayor tamaño pero conserva su morfología y afinidades tintoriales.

En cortes teñidos con técnica tricrómica de Gallego, los filamentos toman la fucsina y con el Ziehl Neelsen modificado son parcialmente ácido alcohol-resistentes y se necesita utilizar una solución menos concentrada de ácido sulfúrico o clorhídrico durante el procedimiento de tinción, debido a la presencia de ácidos micólicos de longitud intermedia en su pared celular. En el estudio histopatológico no es posible distinguir entre las diferentes especies de *Nocardia*. En las últimas dos décadas se ha utilizado la biopsia por aspiración con aguja fina de las lesiones para realizar citología, estudio de bloque celular y/o estudio micológico, debido a que es una técnica sencilla, rápida, poco traumática y económica que puede auxiliar para el diagnóstico temprano de micetoma, sin embargo no proporciona el mismo porcentaje de confiabilidad y eficacia que el examen directo o la biopsia convencional (2- 4,9,11,17,24).

Los estudios radiográficos y la tomografía computarizada son útiles para valorar la extensión a huesos u órganos. Los estudios inmunológicos aún no son concluyentes, aunque se ha demostrado la presencia de tres antígenos inmunodominantes de *N. brasiliensis* que reaccionan

específicamente con suero de estos pacientes; y su presencia predice el éxito del tratamiento (3,4, 20,23,25,26).

#### **f. Análisis bioquímico y perfiles de sensibilidad antibiótica**

Se investigan los siguientes puntos: morfología microscópica, descomposición de diversas sustancias tales como caseína y tirosina, hidrólisis de gelatina coagulación de leche y producción de ácido a partir de diferentes carbohidratos (9-11).

*Nocardia brasiliensis* se caracteriza por utilizar la caseína y tirosina, hidrolizar la gelatina, coagular la leche y producir generalmente ácido a partir de inositol, galactosa, glucosa y fructosa; a este grupo pertenece exclusivamente.

*N. asteroides* y otras tales como *N. leishmanii*, *N. gypsoides*, *N. transvalensis*, *N. convoluta*, *N. polychromogenes*, *N. globerula*, *N. blackwellii*, *N. minima*, *N. pasteuroides*, *N. phenotolerans*, *N. corneus* y *N. melanosporus* se caracterizan por su baja actividad, no descomponen la caseína ni la tirosina, excepcionalmente hidrolizan la gelatina y coagulan la leche, producen ácido a partir de glucosa.

Por otra parte *N. pretoriana*, *N. rhodnii* y *N. corallina*, tienen en común con *N. asteroides* la incapacidad de utilizar la caseína y coagular la leche pero estas cepas descomponen la tirosina.

Se debe realizar la resistencia a ciprofloxacina para diferenciar *N. brasiliensis* de las otras especies de *Nocardia* (10,11).

Actualmente los métodos serológicos no se encuentran disponibles para el diagnóstico.

Ejemplos de especímenes que se pueden enviar son esputo, especímenes de broncoscopía, piel o la biopsia del cerebro.

*Nocardia* es de crecimiento muy lento y puede tomar hasta cuatro semanas para obtener un cultivo positivo. El laboratorio de microbiología debe ser informado si se sospecha de *Nocardia* con el fin de que las muestras puedan ser incubadas durante un período de tiempo más largo de lo habitual (10,11,16).

## 6. Complicaciones

La participación de los pulmones puede conducir a la fibrosis y a largo plazo, dificultad para respirar, la cicatrización de la piel que se han infectado puede conducir a la desfiguración y la deformación que puede dar lugar a fallos de funcionamiento y los abscesos en el cerebro puede conducir, a largo plazo, a déficit neurológico (2-4,5,12,16).

## 7. Morbilidad y mortalidad

La nocardiosis tiene un pronóstico variable, dependiendo del sitio de infección y la extensión de la misma. El sistema inmunitario del individuo que juega un papel determinante en el pronóstico.

Los porcentajes de cura con la terapia adecuada son de aproximadamente 100% en infecciones de piel y en tejido blando, en infecciones pulmonares es de aproximadamente 90 % y de un 63% en nocardiosis diseminada, mientras que solamente la mitad de los pacientes con absceso cerebral se curan con terapia (2-4,5,12,16).

## 8. Tratamiento

Se recomienda el uso de trimetoprim sulfametoxazol durante un período de 6 a 12 meses.

La minociclina puede utilizarse como terapia de segunda línea en pacientes que son incapaces de tolerar las sulfonamidas. Para el tratamiento parenteral o casos refractarios imipenem, amikacina o se pueden utilizar una cefalosporina de tercera generación, por ejemplo, cefotaxima o ceftriaxona. Pero algunas especies son resistentes (véase más adelante) (2,3,6).

La enfermedad diseminada puede requerir la adición de un nuevo agente, por ejemplo combinación de imipenem y amikacina. Además, algunos autores defienden la utilización de estos dos agentes, desde el principio de neumonía con *Nocardia* ya que la difusión es muy probable. (12,13,15)

Entre la resistencia de las especies de *Nocardia* descritas se encuentra: la resistencia a la amikacina, eritromicina y algunas de las cefalosporinas de tercera generación (11,12,16).

Los abscesos pueden requerir drenaje, ya sea quirúrgica o radiológico. Los empiemas deben ser drenados hasta secarlo. Se recomienda una buena atención de la herida. Queratitis se ha tratado con gotas para los ojos de cefazolina (10,11).

Los pacientes que están en situación de riesgo o que han sido previamente infectados pueden necesitar terapia profiláctica a largo plazo, por ejemplo, el trimetoprim sulfametoxazole con en pacientes con VIH con un recuento de linfocitos CD4 inferior a 250 células/ $\mu$ L o en receptores de trasplante (12,15,16).

El tratamiento se da hasta que se cumplen los criterios de curación siguientes: cierre de fístulas, negativización microbiológica (cultivo y directo), desinfiltración (disminución de la inflamación), resolución de lesiones óseas, fibrosis en la histopatología (para dar de alta al paciente hay que tomar una biopsia) (2,4).

El tratamiento es más satisfactorio en infecciones cutáneas y pulmonares, pero fracasa en el 63 % de las diseminadas y en el 50 % de abscesos cerebrales (11).

### **C. Alternativas terapéuticas**

En Guatemala las plantas medicinales han tenido uso tradicional, situación que se mantiene vigente principalmente en el área rural. Sin embargo, hasta 1976 los estudios científicos sobre el tema eran escasos (27-29).

Durante el período de 1978 a 1982 se realizaron encuestas etnobotánicas para conocer la flora medicinal del país y establecer un sistema de validación y uso de este recurso agrícola y terapéutico. La detección etnobotánica y bibliográfica demuestran que por lo menos 623 plantas se usan para tratar infecciones en Guatemala. De 1987 a 1993 se establecieron los procedimientos y se hicieron investigaciones para determinar la actividad de algunas plantas. Hasta 1996 se había tamizado la actividad de 1,022 extractos de 243 plantas, de las cuales 19.5% mostró tener actividad contra las bacterias patógenas ensayadas (24, 27).

Debido al tiempo prolongado del tratamiento y a las resistencias que ha presentado *Nocardia*, es necesario evaluar otros tratamientos alternativos como por ejemplo la fitoterapia que presenta las ventajas de ser más económico,

## 1. Fitoterapia en Guatemala

La fitoterapia (*phytos* vegetal) es el tratamiento de enfermedades con plantas medicinales. El hombre desde épocas remotas ha recurrido al poder curativo de las plantas, los médicos egipcios, griegos, chinos, romanos, germanos, aztecas, mayas y de otras muchas civilizaciones conocían sus efectos benéficos en la salud (25, 27).

La medicina tradicional de Guatemala, al igual que en otros lugares del mundo, se remonta a la época antigua. Los mayas descubrieron el uso de muchas plantas curativas (24).

En muchos países las plantas representan una herramienta terapéutica de la medicina tradicional, ya que producen diversos compuestos químicos que pueden ser activos contra patógenos del hombre; sin embargo, hay pocos estudios de actividad antibiótica contra *Nocardia brasiliensis* por medio de extractos vegetales. En Guatemala se dio la recopilación y documentación sobre plantas nativas medicinales a partir de 1927 (28,43).

En Guatemala, existen diversas instituciones dedicadas a realizar estudios *in vitro*, para determinar las propiedades antibacterianas, antifúngicas, antiparasitarios, efectos antitumorales y de toxicidad celular de los extractos de plantas. Entre estas instituciones se encuentra la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, la Universidad del Valle de Guatemala, el Centro de Estudios Mesoamericanos sobre Tecnología Apropriada – CEMAT- y el Laboratorio de Productos Naturales –Farmaya S.A.- (24,25,29).

Desde sus inicios la Fitoterapia no ha dejado de progresar, y a pesar de los avances de la ciencia, hoy en día aún no ocupa el lugar que merece dentro del marco de la salud, siendo menospreciada ante las fórmulas elaboradas químicamente.

### D. Monografías de las plantas en estudio

Para el presente estudio se eligieron 15 extractos de plantas, con actividad antibiótica previamente ensayada, de una base de datos proporcionada por departamento de Citohistología de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

## 1. *Acalypha pseudoalopercuroides* Jacq.

**Nombre común:** Hierba del cáncer

**Distribución geográfica:** se encuentra en Guatemala en el departamento de Chimaltenango y en México en Puebla y Guerrero (38,39).

**Descripción botánica:** Mide 50 cm de alto o un poco menos, erecta, hojas de 2-6 cm de largo, membranosas triangulares-ovadas de 3-7 cm de largo, redondeadas en la base pilosas en ambas superficies cuando son jóvenes. Los frutos son de 5 cm de largo y de 1 cm de ancho con muchas flores, ovario piloso y estilo entero, cápsula de 2 mm de largo y semillas de 1 mm de largo y ovaladas (39).

**Usos medicinales:** esta planta es utilizada como tónico y diurético, por vía oral se usa para el tratamiento de afecciones gastrointestinales, alergia, cáncer, dolor de cabeza y menstrual, enfermedades venéreas, reumatismo, pielonefritis y resfrío, por vía tópica se aplica en compresa y emplasto para afecciones la piel y en lavados para vaginitis, picadura de serpientes y pies cansados (31,39).

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *Candida tropicalis* (31).

## 2. *Bourreria huanita* (La Llave & Lex.) Hemsl.

**Nombre común:** Esquisuchil, Esquisucha, oreja de león o árbol del Hermano Pedro.

**Distribución geográfica:** Tiene su origen en América, por lo general en Guatemala se encuentra en Alta Verapaz, Quiché, Guatemala, Izabal, Jutiapa, Quetzaltenango, Sacatepéquez y puede encontrarse también en el Sur de México, Honduras, Salvador y Costa Rica (39).

**Descripción botánica:** Árbol esencialmente glabroso con hojas de 1-3 cm de largo membranosas usualmente elípticas-oblongas raramente ovaladas, márgenes enteros, nervaduras laterales de 7-9 pares, usualmente grandes, con varias flores que se encuentran en el pedicelo que mide de 1-6 mm de diámetro, cáliz acampanado de 6-8 mm de largo, los cinco lóbulos son desiguales de 1-2 mm de largo, triangulares y usualmente divididos en tres segmentos, corola blanca de 2 cm de largo, frutos grandes ovalados cuando están secos de 12 mm de largo y 7 mm de ancho.

**Usos medicinales:** Se utiliza para calmar dolores, como sedante y relajante, para enfermedades cardíacas (taquicardia y dolor pectoral), afecciones de las vías respiratorias, infecciones gastrointestinales, para problemas de presión arterial, irritación y prurito (39)

**Actividad antimicrobiana:** experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *Escherichia coli*(36).

### 3. *Byrsonima crassifolia* (L.) HBK

**Nombre común:** Nance, Chi, Carbo, Nanche, Nanzin, Tapal, Zacpah.

**Distribución geográfica:** Origen: Es nativa de México a Sur América y Caribe en bosques secos y tropicales. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Chiquimula, El Progreso, El Quiche, Escuintla, Huehuetenango, Izabal, Jalapa, Jutiapa, Peten, Quetzaltenango, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa. (39,43)

**Descripción botánica:** El Nance es un árbol de 3-10 m de alto, copa redondeada o extendida, tronco recto, corteza café oscuro, rugosa y rodada por dentro. Hojas siempre verdes, opuestas, ovaladas o elíptica, coriáceas. Flores de 5 pétalos, amarillas o anaranjadas. Fruta de drupa, piel delicada, amarilla, tiene una semilla negra dura (39,43).

**Usos medicinales:** Se utiliza popularmente para afecciones respiratorias, digestivas, dolor de muelas, hemorragias, mordedura de serpientes, parásitos, disentería (41).

Actividad: Experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Epidermophyton fluocosum*, *Microsporium gypseum*, *Trichophyton rubrum* (31,34).

### 4. *Cassia grandis* L.

**Nombre común:** Cañandong, Caña fístula (Peten), Caragua, Mocut, Carao.

**Distribución geográfica:** Nativa de Centro América, el Caribe, Norte y Sudamérica (41).

**Descripción botánica:** Es un árbol de 10-18 m de altura, hasta 30 m y 45-80 cm, hasta 100 cm de diámetro. Su tronco es cilíndrico y ramifica a media altura. Corteza gruesa y lisa, de color gris parduzco. Hojas compuestas de 50 cm de largo, alternas. Las flores rosadas en racimos de 10-20 cm de largo, grandes y vistosas son un rasgo distintivo de esta especie, con 15 o más



flores cada uno. El fruto son vainas grandes, rojizas, marrones o negras de hasta 75 cm de largo. Contienen tabiques internos con una semilla negra y plana entre cada dos tabiques. La semilla está cubierta de una pulpa dulce café o negra (38).

**Usos medicinales:** La decocción de hojas, fruto y corteza es usada para el tratamiento de anemia, hemorragia nasal, enfermedades hepáticas, infección urinaria, histeria, resfríos y tos. Por vía tópica se aplican como unguento las hojas para tatar afecciones dermatomucosas, ya que a las hojas y el fruto se les atribuyen propiedades antifúngicas, antisépticas, astringentes y depurativas. De la raíz se extrae un líquido antiséptico utilizado para la curación de heridas y la corteza es utilizada como cicatrizante (38,40)

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *Epidermophyton floccosum*, *M. gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes var algodonosa*, *Trichophyton. mentagrophytes var, granulare*, *T rubrum* (40-44).

## 5. *Cornutia pyramidata* L.

**Nombre común:** Jorokté, hoja de zope Cucaracha, Azulejo o Flor Lila

**Distribución geográfica:** Nativo de América, en Guatemala se ha descrito en los departamentos de Izabal, Alta Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, El Progreso, Escuintla, Guatemala, Petén, Quetzaltenango, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Sololá, Suchitepéquez, Zacapa; México, Honduras y Nicaragua (39).

**Descripción botánica:** Características físicas: Arbusto grande de 12 m de alto, el tronco regularmente de 15 cm de diámetro, de ramas cortas y hojas de 0.5-3 cm de largo, elípticas-aovadas de 4-20 cm de largo y de 4-14 cm de ancho; los márgenes enteros con inflorescencia terminal o subterminal, el pedicelo y los pedúnculos cortos pubescentes, cáliz en forma de cúpula de 1-3 mm de largo, corola púrpura azulada y frutos subglobosos de 3-6 cm de largo (39).

**Usos medicinales:** Se utiliza la raíz para los nervios. Las hojas para dolores de cuerpo, inflamación de brazo, diabetes y flujo vaginal (31, 38).

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *Staphylococcus aureus*, *Micobacterium smegmatis*, *Candida tropicalis* y *Criptococcus neoformans* (31).

## 6. *Lippia graveolens* HBK.

**Nombre común:** Orégano.

**Distribución geográfica:** En los departamentos de El Progreso, Petén y Zacapa en Guatemala; México; Texas, Estados Unidos y Nicaragua (38)

**Descripción botánica:** El orégano, es un arbusto delgado de hasta 2 m de alto, las ramas con pubescencia corto-pilosa; hojas con peciolos de 5-10 cm de largo, suave al tacto, glandular y densamente tomentosa o pilosa en el envés, el margen finamente crenado, pedunculos , flores en espigas subglobosas u oblongas, 4-12 mm de largo, cáliz 1-2 mm de largo, glandular, corola blanca, el tubo estrigoso, 3-6 mm de largo (38).

**Usos medicinales:** Se le atribuye propiedad antioxidante, antiséptica, aromática, calmante, carminativa, cicatrizante, desinflamante, diaforética, digestiva, espasmolítica, expectorante, pectoral y tónica. La decocción o infusión de hojas se usa para tratar anemia afecciones gastrointestinales y respiratorias, hidropesía, ictericia, amenorrea, dismenorrea y reumatismo. La decocción en leche se usa para tratar asma y bronquitis, el jarabe de hojas secas se usa para tratar diabetes, disentería, catarro y resfríos (31, 38).

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *C. albicas*, *C. tropicalis*, *M. gypseum*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Shigella flexneri*, *Trypanosoma. cruzi*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Sporothrix schenckii* (31,34,42).

## 7. *Phlebodium pseudoaureum* Smith

**Nombre común:** Calahuala

**Distribución geográfica:** En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, Suchitepéquez y Zacapa (39,40).

**Descripción botánica:** Rizoma de 0.7-1.5 cm de ancho, escamas de 5-8 mm subenteras a moderadamente denticuladas, la farina blanca, las escamas con colores, generalmente anaranjadas; hojas monomorfas, a menudo glaucas en el envés articuladas en el rizoma; soros redondeados dispuestos en el ápice fusionados de dos nervudos incluidos. Su hábito es epífita

distribuida en un rango de altura de 4 a 12 m sobre el dosel de los árboles y suele estar acompañada de otras especies vegetales. (39,43).

**Usos medicinales:** La infusión y decocción del rizoma se usa oralmente para tratar afecciones digestivas respiratorias y cardíacas, reumatismo, diabetes, gota, hipertensión, purificar la sangre, parásitos, enfermedades venéreas, sífilis y afecciones renales (39).

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente se ha comprobado actividad contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (36)

## 8. *Piper aduncum* L.

**Nombre común:** Cordoncillo blanco

**Distribución geográfica:** es una planta que abunda en toda Sur América (38).

**Descripción botánica:** Posee raíz subterránea, herbácea, perenne; su tallo es aéreo, herbáceo, ramoso, que alcanza de 1-6 m de altura y 10 cm de diámetro; sus hojas son caulinares, pecioladas, ovoideas de 12-20 cm de largo y posee flores en botón, sin corola (23,38,43).

**Usos medicinales:** Es una planta astringente por excelencia. Sus frutos son diuréticos y resolutivos. Los baños en la cocción de las semillas del cordoncillo blanco, son eficaces para el tratamiento de las heridas. Baños lentos en la cocción de las hojas del cordoncillo blanco, dan buenos resultados en casos de caída del útero. El té de las hojas sirve para combatir las hemorragias, las molestas de hígado y la blenorragia.

Es recomendable también, el té del cordoncillo blanco, para combatir las diarreas. Si éstas fuesen rebeldes, se recomienda lavados intestinales con la cocción de las hojas, a la que se agrega una cucharadita de polvo de las mismas hojas secadas y molidas.

Para combatir el mal aliento de la boca y perfumarla, basta masticar las hojas, cáscaras o raíces (23,38,43)

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* (36,57).

## 9. *Piper jacquemontianum* Kunth.

**Nombre común:** Caracas peper o lulabakbak, por los nativos de Nicaragua,

**Distribución geográfica:** Se encuentra frecuentemente en sotobosque de bosques húmedos y premontanos, en todas las zonas del país; 0-800 m; desde el sur de México al sureste de Panamá e Islas del Caribe (23).

**Descripción botánica:** es un arbustos 1-4 m de alto, esciófilos, profusamente ramificados; tallos verde pálidos, entrenudos 2-4 cm de largo, estriados, pelúcido-punteados, Hojas uniformes en forma y tamaño a lo largo de todos los ejes, asimétricas, elíptico-ovadas, elíptico-lanceoladas a obovadas o incluso oblanceoladas, 10-15 cm de largo y 5-8 cm de ancho, ápice largamente acuminado, base inequilátera, pecíolos 0.3–0.6 cm de largo (hasta 1.5 cm en nudos estériles), densamente pilosos, 0.5 mm de largo en nudos floríferos, hasta 4 mm en nudos estériles, caduco. Inflorescencias erectas en todos los estadios, blancas en la antesis, verde pálidas en fruto, pedúnculo 0.3-0.7 cm de largo, densa y cortamente piloso, flores densamente agrupadas en el raquis formando bandas discretas; estambres 4, filamentos tan largos como las anteras, éstas con dehiscencia vertical; pistilo umbonado con 3 estigmas. Frutos obovoides, 1 mm de largo, indumento amarillo cuando seco, cuerpo del fruto café oscuro florece y da fruto durante todo el año. Algunos colectores mencionan que las inflorescencias son muy fragantes (23,42).

**Actividad antimicrobiana:** experimentalmente ésta planta ha mostrado tener una potente actividad biocida, tanto para bacterias como *S. aureus*, *B. subtilis*, *Mycobacterium smegmatis*, además de ser activa contra *Trypanosoma cruzi* se encontró que tiene actividad citotóxica contra células cancerígenas (31,36).

## 10. *Rhizophora mangle* L.

**Nombre común:** Mangle rojo, Tagle o candelón

**Distribución geográfica:** Es una especie con amplio patrón de distribución. Se le encuentra a lo largo de las costas del golfo, el Pacífico y el Caribe. Habita las costas americanas del Océano Pacífico en forma continua, desde el sur de Sonora y Baja California hasta Ecuador, incluyendo el Archipiélago Galápagos. En el océano Atlántico, se presenta en forma discontinua desde las costas de Florida hasta Brasil. Se le encuentra en Bermuda y Bahamas, Antillas Mayores y Menores.

**Descripción botánica:** Éste es un árbol o arbusto perennifolio, halófito, de 1.5-15 m de altura. Su copa es redondeada formada por hojas opuestas, simples, pecioladas, elípticas a

oblongas, aglomeradas en las puntas de las ramas, coriáceas, lisas, gruesas, verde oscuras en el haz y amarillentas con puntos negros en el envés. El tronco es recto con las ramas apoyadas en numerosas raíces lenticelas. La corteza externa es de color olivo pálido con manchas grises, pero si se raspa adquiere color rojo. Es inodora, amarga, dura, de textura lisa a rugosa y apariencia fibrosa. La corteza interna es de color rojo intenso y granuloso. Sus inflorescencias son simples, con 2 ó 3 flores actinomorfas; sus pétalos son cuatro, no persistentes, de color blanco o amarillento en la base y moreno rojizos arriba. El fruto es una baya de color pardo, coriácea, dura piriforme, farinosa a de 2-3 cm de largo por 1-5 cm de ancho, con cáliz persistente. Se desarrolla una semilla, rara vez dos por fruto (38,41).

**Usos medicinales:** Entre sus usos medicinales, está el empleo de la corteza, la raíz y las hojas. La corteza es usada como febrífuga, hemostática, antidiarreica, para el asma, hemoptisis, mordedura o picadura de animales marinos venenosos, diversas heridas, tuberculosis, lepra, hemorragias, disentería y elefantiasis. La hoja es usada para el escorbuto, dolor de muelas, úlceras leprosas y la raspadura de las raíces es usada por los pescadores contra mordeduras de peces y picaduras de insectos venenosos.

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente, se le ha comprobado actividad antimicrobiana contra *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *Cryptococcus neoformans* y *Leishmania mexicana* (31,32).

## 11. *Smilax domingensis* Willd.

**Nombre común:** Zarzaparrilla

**Distribución geográfica:** Se han descrito en el Caribe, México y Centroamérica hasta Panamá. En Guatemala se le encuentra en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Izabal, Zacapa, Escuintla, Petén, Santa Rosa y Suchitepéquez (41).

**Descripción botánica:** Es un bejuco leñoso o herbáceo, dioico, que trepa por zarcillos pareados. Su tallo alcanza unos 15 m o más de largo y hasta 4 cm de diámetro; es glabro, en su porción inferior está provisto de espinas aplanadas, rectas o recurvadas, de 5-12 mm de largo, esparcidas. La porción superior es lisa, cilíndrica e inerme. Las hojas inferiores son ovaladas o elípticas, de unos 14 cm de largo; son de ápice agudo a acuminado, con cinco nervios más o menos conspicuos, los dos exteriores submarginales, lo que contribuye a veces a que el margen se

presente algo engrosado. Las inflorescencias masculinas son umbelas, ligeramente aplanadas, de 1-5 mm de largo, están dispuestas en solitario o en ramillas racemiformes braceadas, cortas. Las umbelas femeninas son solitarias y tienen pedúnculos de 5-8 mm de largo, con pedicelos de 4-7 mm de largo, segmentos del perianto lanceolados, con tres estaminodios. Los frutos maduros son café-rojizo a morado oscuros, de 5-10 mm de diámetro (39,41).

**Usos medicinales:** La infusión o decocción de la planta se usa para tratar cefalea, estreñimiento, fiebre, infección intestinal, gonorrea, leucorrea, parásitos y cáncer. La decocción de la raíz y el tallo se usa para tratar asma y enfermedades de transmisión sexual. El jugo de las hojas se usa contra la disentería y los parásitos. El polvo de la raíz se usa para tratar úlceras crónicas (31,41).

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente se ha demostrado actividad contra bacterias Gram negativo, Gram positivo, dermatofitos y contra *C. albicans* a los extractos etanólicos y de acetato de etilo (31,41).

## **12. *Solanum nigrescens* Mart. & Gal.**

**Nombre común:** Hierba mora, macuy o chichiquilete

**Distribución geográfica:** Es nativa de América, distribuido desde el sur de América hasta Argentina y Chile, en Guatemala crece en Alata Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Jutiapa, Huehuetenango, Petén, Sacatepequez, Santa Rosa, Suchitepequez, Zacapa y Retalhuleu (37).

**Descripción botánica:** Es una planta herbácea, erecta o algo reclinada, perenne que mide hasta 1.5 a 3.5 m de alto. Su tallo es ramificado, provisto de pelos encorvados u ocasionalmente derechos, a menudo sin pelos con la edad; sus hojas a veces en pares y entonces una más grande que la otra (37).

Inflorescencia laterales, en forma de umbela o cima, pedicelos hasta de 10 mm de largo; sus flores con cáliz de 1 a 3 mm de largo, sus lóbulos deltoideos a oblongos, agudos a redondeados en el ápice, de 0.5 a 2.5 mm de largo; corola blanca o morada, a veces blanca con el centro morado, de 3 a 10 mm de largo (37).

Fruto globoso, generalmente negro en la madurez, de 4.5 a 7 mm de diámetro; semillas lenticulares, de 1 a 1.5 mm de diámetro, fuertemente comprimidas, aplanadas, superficie escalariforme, de color café-naranja a amarillo (32,37).

Plántulas hipocótilo cilíndrico, de 5 a 10 mm de largo; cotiledones de lámina ovada a ovada-lanceolada de 5 a 6 mm de largo y 3 a 4 mm de ancho, con pelos; epicótilo nulo, se alarga cuando se desarrolla la tercera o cuarta hoja; hojas alternas, lámina ovada de 6 a 12 mm de largo y 4 a 10 mm de ancho, ápice obtuso a redondeado, borde entero o ligeramente sinuoso, con abundantes pelos (32, 37).

**Usos medicinales:** por vía tópica para afecciones dermatomucosas como abscesos, acné, dermatitis, ezema, erisipela, exantema, heridas, leucorrea, llagas verrugas, pústulas, tiñas úlceras y vaginitis. Por vía oral, asma bronquial, amigdalitis, anemia, cirrosis, cólico, diarrea, dolor de muela, escorbuto, estreñimiento, anasarca, meningitis, nerviosismo, paludismo, hipertensión arterial, retención urinaria, artralgia, tos ferina y enfermedad péptica (32,37).

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *Leishmania mexicana*, *Peudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans* (32).

### **13. *Ternstroemia tepezapote* Schlect. & Cham.**

**Nombre común:** Tila o trompillo.

**Distribución geográfica:** En Guatemala se encuentra en Huehuetenango y Jalapa (39)

**Descripción botánica:** Es un arbusto de hasta 15 m de altura, con un tallo de 15 cm o más de diámetro. Sus hojas son oblongas o bien oblongas lanceoladas de 7-13 cm de largo generalmente anchas, obtusas redondeadas, pedicelos de 1-2 cm de largo, el estilo de 6-7 mm de largo y el estigma puntiforme; frutos cónicos de 1-2 cm de largo y de 1 cm de ancho desde la base (39).

**Usos medicinales:** Es utilizada principalmente para picaduras de serpiente (31,39).

**Actividad antimicrobina:** Experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *Candida tropicalis* (31,39).

#### 14. *Valeriana prionophylla* Standl.

**Nombre común:** Valeriana.

**Distribución geográfica:** Planta nativa de Guatemala se encuentra en altitudes de 2,100-2,200 en los departamentos de Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Quetzaltenango, Sacatepéquez, San Marco, Sololá y Totonicapán (38,44).

**Descripción botánica:** Hierba perenne, vivaz, rizoma pequeño productor de estolones, subterráneo de los que salen múltiples raíces de 1-2 cm de grueso, tallo hueco, acanalado, 70-170 cm de alto. Hojas imparipinadas, de 7 a 21 segmentos dentados, lanceoladas, márgenes dentados. Tallo floral que surge al segundo o tercer año, redondo, estriado, de hasta 1.5 m de alto. Flores en umbelas, pequeñas, tubulares, irregulares, blancas o rosadas. Frutos en aquenio coronado (38,44).

**Usos medicinales:** La decocción de la hoja se utiliza en curación de heridas, granos y afecciones de la piel. También se utiliza como sedante y para tratar el insomnio (31,35)

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *Sacharomices cereviciae* y *Sporotrix chenckii* (30,31,35,).

#### 15. *Wigandia urens* (R. & P.) HBK var. *caracasana*

**Nombre común:** Chocón, mala mujer, tabaco cimarrón, tabaquillo y ortiga de tierra caliente.

**Distribución geográfica:** Mexico a Colombia y Venezuela (39).

**Descripción botánica:** Árbol pequeño de 5 m de alto a menudo con filamentos puntiagudos hojas alternas de 5-60 cm de largo y de 3-42 cm de ancho ovaladas, corola violeta pálido a púrpura más claro en el fondo de 20 mm de largo igual o un poco más grande que el cáliz, estambre incluidos, estilo de 6-10 mm de largo, generalmente de 10-15 mm de largo cuando llega a su madurez, vellosa hasta un tercio de su altura, numerosas semillas, reticuladas y rugosas (39).

**Usos medicinales:** Se ha empleado contra afecciones sifilíticas, reumatismo e insomnio.

**Actividad antimicrobiana:** Experimentalmente se le ha comprobado actividad contra *C. albicans*, *C. neoformans*, *E. floccosum*, *M. gypseum*, *T. rubrum* (31,34).



## **E. Pruebas de susceptibilidad antibiótica**

Los métodos más utilizados para la evaluación de la actividad antimicrobiana, incluyendo plantas medicinales, han sido los de difusión y dilución. En ambos casos existen factores tales como: composición del medio de cultivo, microorganismos de prueba, pH y otros que pueden variar los resultados. Estas variaciones se han minimizado trabajando en condiciones estándar. En algunos estudios se han introducido ciertas modificaciones a los métodos, con el fin de mejorar los resultados, pero los principios básicos continúan siendo los mismos (7).

### **1. Método de difusión**

Para el método de difusión se utilizan generalmente discos de papel filtro impregnados con las soluciones antimicrobianas a ensayar, éstos se aplican sobre placas de agar inoculadas con el microorganismo de prueba. Al ponerse en contacto los discos con el agar, absorben agua del medio, con lo cual se disuelve la solución y empieza a difundir a través de la capa de agar. Al mismo tiempo que el antibiótico va difundiendo ocurre la multiplicación bacteriana. Durante la fase de crecimiento logarítmico en la que la multiplicación bacteriana ocurre más rápidamente que la difusión del antibiótico las bacterias que no han sido inhibidas seguirán multiplicándose, hasta formar un halo alrededor del disco que puede visualizarse luego de cierto tiempo de incubación. No habrá crecimiento en el área donde el antibiótico esté en concentraciones inhibitorias, por lo tanto, mientras más susceptible sea el microorganismo el diámetro del halo será mayor (51,52).

Existen distintas metodologías; una de las cuales utiliza un disco de papel de filtro impregnado en la solución de la droga el cual se coloca directamente sobre la superficie del agar mientras todavía estén húmedos, los discos pueden prepararse con precisión si se agrega una cantidad determinada del agente al papel filtro con una micropipeta pudiéndose calcular así la potencia del disco. También se pueden aplicar los antimicrobianos directamente sobre la superficie de las placas sembradas en forma de gota. Este proceso es más sencillo porque evita los problemas de la difusión planteados por los distintos tipos de papel filtro usados con los discos. El inconveniente es que, según sean las características del disolvente del agente, las gotas pueden ser no uniformes por expandirse en forma desigual. También se pueden aplicar los

antimicrobianos en cilindros de cristal o metal los cuales se llenan con la solución formando una columna de líquido en contacto directo con la superficie del medio.

De igual manera se pueden realizar pocillos en la superficie del agar y llenarlos con el agente antimicrobiano a ensayar (7,51).

## **2. Métodos bioautográficos**

Estos métodos permiten combinar la capacidad separativa de la cromatografía en capa delgada con la determinación *in situ* de la actividad antifúngica de los compuestos de una mezcla de compuestos químicos. Esta metodología consiste en separa por cromatografía en capa fina los componentes de un extracto o sub-extracto y posteriormente “revelar” la placa cromatográfica haciendo crecer un hongo sobre su superficie. De esta manera, los componentes activos de la mezcla son detectados por los halos de inhibición del crecimiento fúngico que ellos producen.

La bioautografía ha sido mencionada como la metodología más eficiente para el descubrimiento de nuevos compuestos antimicrobianos y constituye una herramienta muy útil para guiar el aislamiento de compuestos antifúngicos a partir de mezclas complejas como los extractos vegetales.

Se basa en la capacidad que poseen los compuestos antifúngicos adsorbidos en la fase estacionaria de una placa cromatográfica de difundir a través de un medio acuoso (agarizado o no), que ha sido inoculado a profundidad determinada, hasta ponerse en contacto con el mismo inhibiendo su desarrollo. Podría considerarse a este método como una variante de los métodos de difusión, con la diferencia de que los compuestos a analizar difunden del medio desde la fase estacionaria de una placa cromatográfica y no desde un disco de papel.

Existen distintos tipos:

- Bioautografía directa
- Bioautografía en capa de agar
- Bioautografía de contacto (7).

### **3. Método de dilución**

Las pruebas de dilución son utilizadas principalmente para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de un extracto, aceite esencial o de una sustancia pura. El método consiste en que a un cultivo del microorganismo en estudio se le inoculan cantidades específicas del antibiótico, preparado en concentraciones decrecientes en caldo o agar por la técnica de dilución seriada. En este método de dilución en líquido, el indicador de inhibición es la turbidez del medio, cuando no existe crecimiento el medio permanece claro, es decir, el antibiótico inhibe al microorganismo; y cuando el antibiótico no tiene ningún efecto entonces hay crecimiento y el medio aparece turbio. El grado de inhibición se relaciona con la turbidez y ésta se mide por espectrofotometría. La concentración mínima del antibiótico que no muestre crecimiento es la medida del efecto bacteriostático del mismo sobre el microorganismo (51).

En el método de dilución en agar, se preparan diluciones de antibiótico y se mezclan con un determinado volumen de agar, para obtener las concentraciones deseadas. Luego se inoculan los microorganismos a estudiar en diferentes puntos de la placa con asa o aplicador. Se incuban las placas y se toma como punto límite la concentración mínima de antibiótico que produce inhibición completa del crecimiento. Este método tiene la ventaja de que es simple y pueden ensayarse agentes solubles e insolubles en agua; además en una caja de Petri pueden ensayarse con varios microorganismos a la vez (51,52).

### **4. Métodos de proporción y de relación de resistencia**

Han sido descritas dos técnicas para las pruebas de sensibilidad del método de proporción y el de relación de resistencia. En el primero se determina la proporción exacta del cultivo que es resistente a los agentes antibacterianos. Se realizan varias diluciones del inóculo de la bacteria, estos se añaden al medio de cultivo el cual contiene una concentración estándar de la droga. Seguidamente se efectúan conteos de las colonias bacterianas en los medios que contienen medicamentos y en los que carecen de ellos (47,48).

En el método de relación de resistencia se compara la sensibilidad de las cepas en estudio con las cepas sensibles estándar. Los inóculos estandarizados de la prueba y los microorganismos control se siembran en un medio sólido que contiene diluciones de medicamentos en concentración crítica. Después de la incubación, la cantidad de desarrollo se

registra y se compara con el desarrollo de los microorganismos estándar. Las concentraciones de medicamentos que causan cantidades similares de inhibición de desarrollo entre los microorganismos de la prueba y los estándares se expresan como una relación. Así de ambos son igualmente sensibles, la relación de resistencia será de uno. En general las cepas con relaciones que son iguales o menores que 1 son consideradas sensibles, en tanto que aquellas con relaciones mayores que 1 se consideran resistentes (48,50).

### **5. Método de prueba - E**

El método de la prueba E consiste en tiras manufacturadas por AB biodisk, las cuales son impregnadas con la suspensión bacteriana, Mehaffey y Biedenbach demostraron, en estudios individuales, que el método de prueba - E es una prueba bien estandarizada reproducible y exacta (49).

### **6. Método colorimétrico de MTT**

El MTT es una sal de tetrazolio con actividad deshidrogenasa color amarillo y soluble en solución salina, que se utiliza para disminuir el tiempo de espera necesario para realizar la lectura del crecimiento del microorganismo. Cuando es reducida por la deshidrogenasa mitocondrial de las células vivas, enzima que cataliza la reducción donde la sal acepta electrones desde  $\text{NADH}^+$  y  $\text{NADPH}^+$ , se produce una destrucción del anillo tetrazolio, formando cristales púrpura insolubles (Formazán), que después de ser solubilizados, pueden medirse por espectrofotometría o de forma visual. Como  $\text{NADH}^+$  y  $\text{NADPH}^+$  solamente son producidos por células vivas, la formación de Formazán puede emplearse como una medida indirecta de viabilidad (50-52).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

*Nocardia* es un actinomiceto que puede causar infecciones en muchas partes del cuerpo, tales como pulmón, piel, hueso, ojos, entre otras. Es de importancia clínica por sus mecanismos de evasión de la respuesta inmune entre los que se encuentran el factor cordón y la producción de catalasa, que favorecen su desarrollo y diseminación (1-5, 12,16).

*Nocardia brasiliensis* en su mayoría está asociada con al micetoma actinomicético, que en Guatemala ocupa el segundo lugar de mayor incidencia entre las micosis subcutáneas. Afecta en su mayoría a campesinos al ser inoculado a través de heridas o abrasiones de la piel causadas por espinas de acacias, cactus o de traumatismos que permiten la introducción del microorganismo (6-8).

Se ha observado que la frecuencia de casos de infecciones causadas por *Nocardia* ha aumentado nivel mundial ya sea por el avance en técnicas de detección o por el incremento de pacientes inmunocomprometidos en la actualidad (12,16,21,22).

La morbimortalidad asociada a esta enfermedad ocurre por su diseminación a la vía hematológica y su posterior infección en el sistema nervioso central lo cual ocurre, generalmente por la falta de atención médica, por un mal diagnóstico o por negligencia del paciente (2-5,12,16).

Por lo anterior descrito es importante validar tratamientos alternativos, siendo las plantas las que han recibido especial atención debido al éxito de la fitoterapia y a los pocos efectos secundarios de las mismas.

Los productos naturales, principalmente los de origen vegetal han sido la principal fuente de agentes terapéuticos de la humanidad durante siglos, constituyendo su uso una costumbre profundamente arraigada en la cultura guatemalteca. Es por eso que desde sus inicios la fitoterapia no ha dejado de progresar y actualmente el estudio de las plantas medicinales ha adquirido importancia. La actividad biocida de los extractos y productos naturales ha expuesto el potencial de las plantas como una fuente de agentes terapéuticos, con fórmulas cada vez más eficaces y perfectamente adaptadas al tratamiento de diferentes afecciones.

Por tales razones el presente proyecto se enfocó en la determinación de la actividad de 15 extractos vegetales con actividad antimicrobiana, contra tres aislamientos clínicos de *Nocardia brasiliensis*.

## V. OBJETIVOS

### A. Objetivo General

Determinar la actividad antibacterial de quince extractos de plantas nativas de Guatemala contra tres cepas de *Nocardia brasiliensis*.

### B. Objetivos específicos

1. Evaluar la actividad antibacterial *in vitro* de los quince extractos de plantas contra tres aislamientos clínicos de *Nocardia brasiliensis*.
2. Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos que presenten actividad contra los tres aislamientos clínicos de *Nocardia brasiliensis*.

## VI. HIPÓTESIS

De los extractos vegetales evaluados, por lo menos uno presenta efecto inhibitorio para el crecimiento para *Nocardia brasiliensis*.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo de Trabajo

#### 1. Universo

Extractos vegetales de plantas nativas guatemaltecas utilizadas en el tratamiento de diversas afecciones.

#### 2. Muestra

Quince extractos de plantas nativas guatemaltecas con actividad antibiótica previamente demostrada:

*Acalypha pseudoalopercuroides*, *Bourreria huanita*, *Byrsonima crassifolia*, *Cassia grandis*, *Cornutia pyramidata*, *Lippia graveolens*, *Phlebodium pseudoaureum*, *Piper aduncum*, *Piper jacquemontianum*, *Rhizophora mangle*, *Smilax domingensis*, *Solanum nigrescens*, *Ternstroemia tepezapote*, *Valeriana prionophylla* y *Wigandia urens* var. *caracasana*.

Seleccionadas de una base de datos proporcionada por el departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC), Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) y el Laboratorio de Productos Naturales Farmaya S.A. (ver anexo 1)

### B. Recursos

#### 1. Recursos humanos

- Estudiante

Jaqueline Esther Morales León

- Asesores

Lic. Armando Cáceres Estrada

Licda. Isabel Cristina Gaitán Fernández



## 2. Recursos institucionales

- Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de Productos Naturales Farmaya, S.A.

## 3. Recursos materiales

- Equipo
  - Agitador magnético de placa caliente
  - Agitadores magnéticos
  - Autoclave.
  - Balanza analítica.
  - Campana de bioseguridad tipo II.
  - Vortex
  - Incubadora (37°C).
  - Mechero de gas.
  - Micropipetas automáticas de volumen variable (10, 100, 1000 µL).
- Cristalería
  - Vaso de precipitar (50, 250, 500 mL).
  - Erlenmeyers (25, 125, 500, 2000 mL).
  - Frascos de 5 mL con tapón de rosca.
  - Probetas graduadas (10, 50, 1000 mL).
  - Tubos de vidrio (10, 20, 30mL)
- Materiales
  - Algodón.
  - Asas bacteriológicas en punta y en argolla.
  - Cajas de petri estériles plásticas.
  - Espátula mediana y pequeña.
  - Gradillas.
  - Macropipeteador.
  - Papel de aluminio.

Papel filtro.

Papel parafilm.

Recipiente para transporte de material bioinfeccioso.

Recipientes plásticos.

Tips blancos, amarillos y azules.

Tubo con estándar de MacFarland Número 1

- Reactivos

Agua destilada.

Etanol al 50%.

- Medios de cultivo

Agar Sabouraud.

Caldo Sabouraud.

- Aislamientos clínicos

*Nocardia brasiliensis* 518 aislamiento No. 1

*Nocardia brasiliensis* 866 aislamiento No. 2

*Nocardia brasiliensis* RM159 aislamiento No. 3 obtenida del cepario del departamento de microbiología de la Universidad de San Carlos de Guatemala proveniente de un paciente.

Los aislamientos 518 y 866 fueron proporcionados por la Doctora Heidi Logemann de aislamientos de pacientes.

- Extractos de planta

Etanólico de hojas de *C. pyramidata*, *P. pseudoaureum*, *S. nigrescens* y *T. tepezapote*; de corteza de *B. crassifolia* y *C. grandis*; de flor de *B. huanita*; de tallo de *R. mangle* y *S. domingensis*; metanólico de hojas de *P. aduncum*, *P. jacquemontianum*; de raíz de *V. prionophylla*; acuoso de hojas de *A. pseudoalopercuroides* y *L. graveolens*; y extracto hexánico de flor de *W. urens*,

## **C. Procedimiento**

### **1. Validacion del método**

- Se preparó una solución madre del control positivo: trimetoprim sulfametoxazole (5.27mg/100mL)
- Se realizaron 4 diluciones 1:10 de la misma para realizar una concentración inhibitoria mínima
- Se prepararon tubos con 13.5mL de agar Sabouraud
- Los tubos se esterizaron en autoclave y dejaron enfriar a 50°C para luego agregar 1.5mL de las solución de trimetoprim/sulfametoxazol, para obtener concentraciones de 0.5/9.5, 1/19, 2/38, 4/76 y 8/152 µg/mL respectivamente
- Se vertió la solución y el medio en cajas de Petri estériles, dejando solidificar y se incubó a 36°C de 24-48 horas para comprobar esterilidad.
- Se guardó en refrigeración hasta el momento de uso.

### **2. Preparación de medios de cultivo**

#### **a. Preparación de agar-planta**

- Se prepararon tubos con 5 ml del extracto, concentración de 10 mg/mL, diluyendo 50 mg del extracto en 5 mL de etanol al 50%
- Se agitó vigorosamente con ayuda del vortex hasta lograr una solución homogénea
- Se prepararon tubos con 13.5 mL de agar Sabouraud.
- Los tubos se esterizaron en autoclave y dejaron enfriar a 50°C para luego agregar 1.5 mL del extracto de la planta a ensayar preparado previamente. Agitar para obtener posteriormente una concentración final de 1.0 mg/mL.

- Se vertió el extracto y el medio en cajas de Petri estériles, dejando solidificar y se incubó a 36°C de 24-48 horas para comprobar esterilidad.
- Se guardó en refrigeración hasta el momento de uso.

### 3. Preparación del inóculo

- Se preparó el caldo Sabouraud
- Se sirvieron 15 mL de caldo Sabouraud en erlenmeyer de 25 mL con un agitador magnético y se esterilizó en autoclave.
- Se sembró con un asa en argolla los aislamientos clínicos de *Nocardia brasiliensis* a ensayar e incubó a 37°C durante 3 días hasta obtener un crecimiento homogéneo sobre un agitador.
- Se realizó un estándar de McFarland 0.5 con caldo Sabouraud

### 4. Inoculación

- Se realizaron cinco estrías de la suspensión en las cajas con Agar-planta.
- Las cajas se incubaron a 35°C por 3 días en agitación constante.
- Como control negativo se utilizó una caja con agar Sabouraud y etanol al 50%.
- Como control positivo se utilizó una caja con agar Sabouraud con una suspensión de Trimetoprim sulfametoxazole

### 5. Interpretación de resultados

- Se evaluaron las cajas buscando crecimiento
- Se interpretó de la siguiente forma:

Actividad negativa: crecimiento en el agar planta.

Actividad positiva: no hay crecimiento en el agar planta.

A los extractos evaluados que presentaron actividad contra *Nocardia brasiliensis* se determino la CIM realizando diluciones de 1.0, 0.5 mg/mL hasta llegar a una concentración de 0.0625 mg/mL de cada extracto, según fue necesario, hasta establecer la misma.

## **D. Diseño del estudio**

### **1. Tipo de estudio**

El estudio es experimental no probabilístico por conveniencia, con diseño de hipótesis binomial, con un total de cinco repeticiones por ensayo.

### **2. Variables**

- Variable independiente: Plantas nativas guatemaltecas
- Variable dependiente: Actividad antibacteriana de los 15 extractos seleccionados.

### **3. Validez del método**

Se utilizó como control positivo el medio de cultivo con Trimetoprim sulfametoxazole (medicamento de elección contra *N. brasiliensis*), el cual presenta un 100% de inhibición del crecimiento de los aislamientos; como control negativo se empleó medio de cultivo con 1.5 mL de etanol al 50%, el cual presenta crecimiento normal de *N. brasiliensis*.

De acuerdo a la tabla de la función de distribución acumulada de la probabilidad binomial, el número mínimo de réplicas para cada caso debe ser 5 para un nivel  $\alpha = 0.05$  (53).

### **4. Análisis de datos**

Se realiza una prueba de hipótesis binomial donde:

- $H_0: p \leq 0.5$  (No tiene efecto)
- $H_a: p \geq 0.5$  (Si tiene efecto)

Se espera que para rechazar “ $H_0$ ” y concluir que el extracto tiene efecto. Se deben tener 5 éxitos, al nivel  $\alpha = 0.05$  seleccionado. Los resultados obtenidos fueron interpretados, tabulados y analizados de acuerdo a los parámetros anteriormente descritos.

## VIII. RESULTADOS

En el presente estudio se realizó la determinación de la actividad bactericida de 15 extractos de plantas contra tres aislamientos clínicos de *Nocardia brasiliensis*.

Para validar el estudio se realizó una concentración inhibitoria mínima del control positivo, trimetoprim/sulfametoxazole, contra los tres aislamientos clínicos a diferentes concentraciones, obteniendo una CIM de 2/38 µg/ mL como se observa en la Tabla 1 (ver anexos tabla 4 y 5).

**Tabla 1. Relación dosis efecto de Trimetoprim/sulfametoxazole.**

Concentración en µg/mL	AC1	AC2	AC3
<b>8/152</b>	+	+	+
<b>4/76</b>	+	+	+
<b>2/38</b>	+	+	+
<b>1/19</b>	-	-	-
<b>0.5/9.5</b>	-	-	-

Fuente datos experimentales

(-) Actividad negativa

(+) Actividad positiva

AC1: Aislamiento clínico 1 *Nocardia brasiliensis* 518

AC2: Aislamiento clínico 2 *Nocardia brasiliensis* 866

AC3: Aislamiento clínico 3 *Nocardia brasiliensis* RM159

En la fase de tamizaje, los extractos que presentaron actividad significativa contra los tres aislamientos clínicos fueron *C. grandis*, *C. pyramidata*, *P. jacquemontianum*, y *V. prionophylla* a una concentración de 1.0 mg/mL. Los extractos de *L. graveolens*, *P. pseudoaureum*, *P. aduncum*, *R. mangle* y *W. urens* var. *caracasana*, presentaron actividad significativa ( $p = 0.0312$ ) contra por lo menos uno de los tres aislamientos a la misma concentración, ver anexos tabla 6,(53).

Los resultados del tamizaje antibacteriano de los extractos *S. nigrescens*, *S. domingensis*, *A. pseudoalopercurioides*, *B. huanita*, *T. tepezapote* y *B. crassifolia* se describen en la Tabla 2, donde se observa que no presentaron actividad bactericida significativa contra los aislamientos de *Nocardia*.

**Tabla 2. Tamizaje de 15 extractos a 1.0 µg/mL contra tres aislamientos clínicos de *Nocardia brasiliensis*.**

Especie	Parte	AC1	AC2	AC 3
<i>Acalypha pseudoalopercuroides</i>	Hoja/acuoso	-	-	-
<i>Bourreria huanita</i>	Flor/etanol	-	-	-
<i>Byrsonima crassifolia</i>	Corteza/etanol	-	-	-
<i>Cassia grandis</i>	Corteza/etanol	+	+	+
<i>Cornutia pyramidata</i>	Hoja /etanol	+	+	+
<i>Lippia graveolens</i>	Hoja/acuoso	-	+	+
<i>Phlebodium pseudoaureum</i>	Hoja/etanol	-	+	+
<i>Piper aduncum</i>	Hoja/metanol	-	+	+
<i>Piper jacquemontianum</i>	Hoja/methanol	+	+	+
<i>Rhizophora mangle</i>	Tallo/etanol (corteza)	+	+	-
<i>Smilax domingensis</i>	Tallo/etanol	-	-	-
<i>Solanum nigrescens</i>	Hoja/etanol	-	-	-
<i>Ternstroemia tepezapote</i>	Hoja/etanol	-	-	-
<i>Valeriana prionophylla</i>	Raíz/methanol	+	+	+
<i>Wigandia urens</i> var. <i>caracasana</i>	Flor/hexano	-	+	+

Fuente datos experimentales

(-) Actividad negativa a 1,000 µg/mL

Valor de significancia  $p = 0.0312$

(+) Actividad positiva a 1,000 µg/mL

De los extractos que presentaron actividad significativa ( $p = 0.0312$ ), se evaluó la concentración mínima inhibitoria para los tres aislamientos clínicos de *Nocardia*, obteniendo los siguientes resultados para el extracto etanólico de hoja de *C. pyramidata*, 0.50, 0.50 y 1.0 mg/mL, respectivamente; el extracto metanólico de hojas de *P. jacquemontianum* 1.0, 0.125 y 0.0625 mg/mL, respectivamente; extracto metanólico de raíz de *V. prionophylla*, 1.00 mg/mL, para los tres aislamientos clínicos y extracto etanólico de corteza de *C. grandis* de 0.250 mg/mL para los tres aislamientos clínicos como se presenta en la Tabla 3.

**Tabla 3. Concentración inhibitoria mínima en mg/ mL, de los extractos con actividad positiva**

<b>Especie</b>	<b>Parte</b>	<b>AC 1</b>	<b>AC 2</b>	<b>AC 3</b>
<i>Cassia grandis</i>	Corteza/etanol	0.250 mg/mL	0.250 mg/mL	0.250 mg/mL
<i>Cornutia pyramidata</i>	Hoja /etanol	0.500 mg/mL	0.500 mg/mL	1.000 mg/mL
<i>Lippia graveolens</i>	Hoja/acuoso	>1.000 mg/mL	1.000 mg/mL	0.125 mg/mL
<i>Phlebodium pseudoaureum</i>	Hoja/etanol	>1.000 mg/mL	0.250 mg/mL	0.500 mg/mL
<i>Piper aduncum</i>	Hoja/metanol	>1.000 mg/mL	1.000 mg/mL	0.500 mg/mL
<i>Piper jacquemontianum</i>	Hoja/metanol	1.000 mg/mL	0.125 mg/mL	0.625 mg/mL
<i>Rhizophora mangle</i>	Tallo/etanol (corteza)	1.000 mg/mL	1.000 mg/mL	>1.00 mg/mL
<i>Valeriana prionophylla</i>	Raíz/metanol	1.000 mg/mL	1.000 mg/mL	1.000 mg/mL
<i>Wigandia urens</i> var. <i>caracasana</i>	Flor/hexano	>1.000 mg/mL	0.250 mg/mL	0.125 mg/mL

Fuente datos experimentales.-



## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Este ensayo se realizó basándose en la metodología descrita por Brancato y Golding modificado por McRae (50), adaptándose las condiciones de crecimiento de *Nocardia* (temperatura de 37°C durante 3-5 días) debido a que el antibiograma para *Nocardia* no ha sido estandarizado y por tener características de hongo se decidió trabajarlo de esta manera.

La validación del método se realizó por medio de una CIM del tratamiento de elección, trimetoprim sulfametoxazole, contra los 3 aislamientos clínicos, utilizando dos puntos por debajo y por arriba del punto de corte (2/38 µg/mL) obteniendo resultados satisfactorios que validan el presente estudio como se muestra en la Tabla 1.

Al realizar el ensayo con el aislamiento clínico 1 *N. brasiliensis* 518 se observó que el control negativo generaba cierta inhibición por lo que se realizó una concentración inhibitoria mínima de etanol a diferentes concentraciones desde 50% hasta el 10%, se modificó la metodología realizando la solución madre con etanol al 20% en lugar de al 50% para eliminar cualquier falso positivo.

En la Tabla 2 se encuentran los resultados del tamizaje de la actividad antimicrobiana de los 15 extractos, en donde se evidencia la actividad de los extractos: actividad positiva es decir que hay inhibición del crecimiento, o bien negativa, es decir crecimiento de *Nocardia*.

Los extractos que presentaron actividad significativa en la fase de tamizaje (1.0 mg/mL) son: el extracto etanólico de corteza de *C. grandis*, etanólico de hoja de *C. pyramidata*, metanólico de hoja de *P. jacquemontianum*, metanólico de raíz de *V. prionophylla*. Se puede decir que tiene actividad significativa ya que el valor de significancia  $p = 0.0312$ , lo cual nos indica que la probabilidad de que estos resultados sean por azar es de 0.0312, lo cual es menor al nivel pre establecido de significancia  $\alpha = 0.05$  (53).

La actividad antimicrobiana puede deberse a los metabolitos secundarios presentes en los extractos de las plantas, se han reportado algunos flavonoides como los prenilados con actividad antimicrobiana y las isoflavonas con acción fungitóxicas, además los terpenos y esteroides como las sesquiterpenlactonas que presentan gran importancia por la variada acción biológica que han demostrado, como acción citotóxica, antitumoral, analgésica, inhibidoras del crecimiento de bacterias, entre otra (63,64).

Se puede observar en la Tabla 3 el extracto de *C. grandis* es el que presenta la mejor CIM de los cuatro extractos de 0.250 mg/mL, la cual se puede considerar como aceptable para futuros ensayos para validar el uso popular de la raíz de *C. grandis* en afecciones subcutáneas.

También es el único que presenta flavonoides como metabolito secundario. Vale la pena realizar estudios con extractos clorofórmicos y metanólicos ya que con estos disolventes se encuentra la mayor concentración de flavonoides, terpenos y esteroides (63,64)

*C. grandis* ha demostrado, en estudios anteriores, actividad contra *S. aureus*, *M. smegmatis*, *C. tropicalis* y *C. neoformans* y posee de metabolitos secundarios antraquinónicos (aloe-emodina, ácido crisofánico, fisción, renina), barakol, flavonoides (kampferol), leucoantocianinas y saponinas (39).

*C. pyramidata*, presentó una CIM de 1.0 mg/mL el cual no es suficiente para validar su uso popular en afecciones subcutáneas causadas por *Nocardia brasiliensis*. El extracto de *C. pyramidata* ha demostrado actividad contra *S. aureus*, *B. subtilis*, *M. smegmatis*, además de ser activa contra *T. cruzi* se encontró que tiene actividad citotóxica contra células cancerígenas (31,36,42,46). Se han reportado los siguientes metabolitos secundarios alcaloides y diterpenoides.

*P. jacquemontianum*, al igual que *C. pyramidata*, presenta una CIM de 1.0 mg/mL: además presenta actividad contra *T. mentagrophytes*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *M. smegmatis* (30,31,35,44). Se han reportado los siguientes metabolitos secundarios, del aceite, D-germacrano,  $\beta$ -cariofileno, 1,5 ciclodecadieno,  $\delta$ -selemeno, bornileno,  $\delta$ -3 careno,  $\beta$  y  $\alpha$ -pireno (62).

*V. prionophylla*, con una CIM de 1.0 mg/mL ha demostrado actividad, en estudios anteriores, contra *E. floccosum*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes* var *algodonosa*, *T. mentagrophytes* var, *granulare*, *T. rubrum* (40-44), y posee como metabolitos secundarios iridooides (valepotriatos, dihidrovaltratos, isovaltratos).

Existe variabilidad en los resultados ya que los extractos acuoso de hoja de *L. graveolens*, etanólico de hoja de *P. pseudoaureum*, hexánico de flor de *W. urens* var. *caracasana* y metanólico de hoja de *P. aduncum*, presentaron actividad contra al menos uno de los aislamientos clínicos, esta variabilidad puede deberse a la procedencia de la *Nocardia*, ya que se trata de

aislamientos clínicos y no de cepas ATCC. Estos aislamientos clínicos pueden presentar cierta resistencia ante los compuestos presentes en los extractos vegetales.

El aislamiento clínico 2 es el más susceptible ya que fue inhibido por nueve de los 15 extractos, con concentraciones que van desde 0.125 – 1.0 mg/mL; el aislamiento clínico 3 es sensible a menor cantidad de extractos, ocho de quince, pero en concentraciones menores (hasta 0.625 mg/mL), que el 2; y, el aislamiento clínico 1 es la más resistente ya que es sensible únicamente a cinco de los quince extractos en concentraciones relativamente altas.

## X. CONCLUSIONES

1. Los extractos que presentaron actividad significativa contra los tres aislamientos clínicos de *Nocardia brasiliensis* a una concentración de 1.00 mg/mL fueron extractos etanólico de hoja de *Cornutia pyramidata* L, metanólico de hoja de *Piper jacquemontianum* Kunth, metanólico de raíz de *Valeriana prionophylla* Standl, etanólico de corteza de *Cassia grandis* L.
2. Los extractos etanólico de hoja de *Cornutia pyramidata* L, metanólico de hoja de *Piper jacquemontianum* Kunth y metanólico de raíz de *Valeriana prionophylla* Standl, presentaron una concentración inhibitoria mínima de 1.00 mg/mL y el extracto etanólico de corteza de *Cassia grandis* de 0.250 mg/mL.
3. La actividad presentada por el extracto etanólico de corteza de *Cassia grandis* L es el único que se puede considerar como aceptable para futuros ensayos para validar el uso popular en afecciones subcutáneas.

## **XI. RECOMENDACIONES**

1. Realizar los ensayos con cepas ATCC de *Nocardia brasiliensis* para disminuir la variación de los resultados.
2. Evaluar otras plantas contra *Nocardia brasiliensis* con el fin de encontrar alternativas terapéuticas válidas.
3. Realizar particiones del extracto crudo de *Cassia grandis* L. para dilucidar los compuestos responsables de la actividad.

## XII. REFERENCIAS

1. Ripohh JW. Micología Médica; Hongos y Actinomicetos Patógenos. 3ed. México: Interamericana, McGraw-Hill, S.A. de C.V., 1990, 1347p. (p. 854).
2. Anaissi E, McGinnis M, Pfaller, M. Clinical Mycology. New York: Churchill Livingstone, 2003, 608 p. (p.254-258).
3. Arenas G. Micología Médica Ilustrada. 2 ed. México: McGraw-Hill Interamericana, S.A. de C.V, 2003, 352 p. (p.135,142).
4. Padhyne A, Ajello L. Fungi causing eumycotic mycetomas. In Lennette E. *et al* Manual of Clinical Microbiology. 4th ed. Washington D.C.1985, 1149 p. (p.554-559).
5. Elgart ML. Micetoma en Clínicas Dermatológicas; McGraw - Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México D.F.; 1996, 350 p. (p. 99-106).
6. Logemann H. Manual Práctico de Micología Médica. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de CCQQ y Farmacia Depto. de Microbiología, 1995, 227 p. (p. 73-76).
7. Gaitán I, *et al*. Micosis subcutáneas: esporotricosis, eunicetomas y cromoblatomicosis en Zacchino S, Gupta, M. Manual de técnicas *in vitro* para la detección de compuestos antifúngicos. 1ed., Rosario: Corpus Editorial y Distribuidora, 2007, 169 p. (p. 27-30).
8. Wadhwa V, *et al*. A fatal pulmonary infection by *Nocardia brasiliensis*, Indian J Medic Microbiol, 2006; 24:63-64.
9. García AV, *et al*. Minimicetoma en un pre-escolar mexicano. Reporte de un caso y revisión de la literatura Dermatol Pedia Lat 2004; 2:54-58.
10. Greenwood DR, Slack CB, Peutherer JF. Medical Microbiology: A Guide to Microbial Infections, 16th ed. 2002. 709 p. (p.456-459).
11. Saubolle MA, Sussland D. Nocardiosis: review of clinical and laboratory experience; J Clin Microbiol. 2003; 41:4497-44501.

12. Menendez R, *et al.* Pulmonary infection with *Nocardia* species: a report of 10 cases and review. *Eur Respir J.* 1997; 10:1542-1546.
13. Kumar N, Ayinla R. Endobronchial pulmonary nocardiosis. *Mt Sinai J Med* 2006; 73:617-9.
14. Lucas RE, Armstrong PK; Two cases of mycetoma due to *Nocardia brasiliensis* in central Australia.; *Med J Aust.* 2000; 172:167-169.
15. Ponticelli C, Campise MR; Neurological complications in kidney transplant recipients; *J Nephrol.* 2005; 18:521-528.
16. Rao SK, Madhavan HN, Sitalakshmi G, *et al*; *Nocardia Asteroides* keratitis: report of seven patients and literature review. *Indian J Ophthalmol* 2000; 48:217-221.
17. Rodríguez M., *et al.* Micetoma de inoculación múltiple por *Nocardia brasiliensis*. Reporte de un caso, *Rev Cent Dermatol Pascua* 2002; 11:126-130.
18. Abad M, Chiclayo A, Arias S. Micetomas, presentación de dos casos con estudio clínico y anátomo-patológico. *Folia Dermatol* 2005; 16:75-80.
19. Guevara M., *et al.* Micetoma por *Nocardia brasiliensis*: Reporte de un caso. *Rev Per Med Exper Sal Pub* 2003; 20:130-132.
20. Quindós G. Las micosis en el amanecer del siglo XXI. *Rev Iberoam Micol* 2002; 19:1-4.
21. Loeffler J, Stevens D. Antifungal drug resistance. *Clin Infect* 2003; 17:31-41.
22. Wheat J. Endemic mycoses in AIDS: A clinical review. *Clin Microbiol* 1995; 8:146-159.
23. Tebbs M, *et al.* Revision of Piper (piperaceae) in the New World. 3. The taxonomy of *Piper* section *Leinthes* and *Radula*, *Bull Nat Hist Museum, Botany series.* 1993; 23:1-54.
24. Marchorro R. Detección de la actividad inhibitoria de extractos etanólicos de seis plantas contra *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*. Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de CCQQ y Farmacia), 2007, 41 p. (3,12).
25. López M. Demostración de la actividad antimicrobiana de *Byrsonima crassifolia* y *Malpighia glabra*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1992, 66 p. (p.62).

26. Ortíz G. Actividad antifúngica de los extractos etanólicos de la flor de *Bourreria huanita* y la hoja de *Lipia graveolens* y sus participaciones hexánica, cloroformica, acetato de etilo y acuosa contra los hongos *Sporothrix schenckii* y *Fonsecaea pedrosoi*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1992, 68 p. (p.62-64).
27. Padilla I. Confirmación de la actividad antimicrobiana de dos especies de sauco (*Sambucus canadensis* y *Sambucus mexicana*). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 1993, 46 p. (17).
28. Dabroy L. Confirmación de la actividad antibacteriana de algunas especies del género *Lippia* contra bacterias que causan infección respiratoria. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1994, 45 p. (p.38,42).
29. Paz A. Búsqueda de actividad contra especies de *Campylobacter* en plantas nativas de Guatemala. Guatemala: MUPLAM, (Tesis de maestría, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2005. 62 p. (p.56,59).
30. Quiñones C. Comparación del efecto del extracto de *V. prionophylla* versus placebo sobre la ansiedad de 30 pacientes en tratamiento de quimioterapia por cáncer de mama, durante 4 semanas, en Hospital de Cancerología INCAN. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (tesis Maestría en Artes Multidisciplinarias de Producción y Uso de Plantas Medicinales), 2007, 30 p. (p.24-26).
31. Ozaeta GC, Guancín PM, Flores AP. Comparación de procedimiento macro y micro para evaluar la actividad inhibitorio de hongos y levaduras patógenos al hombre. Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 2008, 72 p. (p.65-69).
32. Soto PA. Actividad contra promastigote de *Leishmania mexicana* de extractos de siete plantas popularmente usadas para el tratamiento de infecciones por protozoos en Guatemala. Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1997, 54 p. (p.48-53).
33. Álvarez PC. Determinación de la actividad contra *Campylobacter jejuni* por extractos etanólicos de cinco plantas utilizadas popularmente para el tratamiento de infecciones



- gastrointestinales. Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 2007, 48 p. (p.44).
34. Morales OC. Efecto de extractos contra actividad antifúngica sobre protoplásmicos de *Neurospora crassa*. Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 1998, 47 p. (p.42).
  35. Gaitán I. Actividad de 12 plantas nativas guatemaltecas contra *Sporotrix shenckii*. Guatemala (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 2005, 56 p. (p.48,50).
  36. Solis G. Actividad biocida de cuatro plantas de uso medicinal en el Parque nacional Laguna de Lachuá. Guatemala, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 2003, 48 p. (p.42,45).
  37. Heike V. Lista Florística Comentada de Plantas Vasculares Silvestres, San Juan quetzalcoapan. Tlaxcala. México Acta Bot Mex 1997; 38:21-67.
  38. Martínez J, *et al.* Fundamentos de agrotecnología de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas. Santa Fe de Bogotá D. C. Convenio Andrés Bello y Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED). 2000, 536 p. (p.35, 102, 205,340).
  39. Cáceres A. Propuesta de monografía farmacopeica de 10 plantas medicinales. Guatemala Organización de los Estados Americanos. 2006, 124 p.
  40. Cáceres A, *et al.* Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. I. Screening for antimycotic activity of 44 plants extracts. J Ethnopharmacol 1991;31:263-76.
  41. Galindo A, Ruiz A, Moreno A. Actividad antimicrobiana *in vitro* de angiospermas colombianas. Rev. col. Cienc. Quím. Farm 1998; 27:47-51.
  42. Standley PC. Steyermark, J.A. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany 1952; 24(3):52-99; 228-336.
  43. Cáceres A. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria Universidad de San Carlos de Guatemala. 1996, 402 p. (p. 115-116 280-281, 287-288).
  44. Piccinelli A, *et al.* New lignans from the roots of *Valeriana prionophylla* with antioxidative and vasorelaxant activities. J Nat Prod 2000; 67:1135-1140.

45. Liogier H. Descriptive flora of Puerto Rico and adjacent islands, Spermatophyta. Vol. 1. Río Piedras, PR: Editorial de la Universidad de Puerto Rico. 1994, 1350p.
46. Calderon A, *et al.* Screening of Latin American plants for cytotoxic activity. *Pharmaceut Biol* 2006; 44:130-140.
47. Janssen A, *et al.* Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. *Plant Med* 1987; 53: 395-398.
48. Mehaffey P, *et al.* Evaluation of *in vitro* spectra of activity of azithromycin, clarithromycin and erythromycin tested against strains of *Neisseria gonorrhoeae* by reference agar dilution disk diffusion and E - test methods. *J Clin Microbiol* 1996; 4:479-481.
49. Biedenbach D, Jones R. Comparative assessment of E - test for testing susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* to penicillin, tetracycline, ceftriaxone, cefotaxime and ciprofloxacin: Investigation using SIO (K) Review Criteria Recommended by the Food and Drug Administration. *J Clin Microbiol.* 1996; 34:3214-3217.
50. Brancato F. Golding N. The diameter of the mold colony as a reliable measure of growth. *Mycol* 1983; 45:848-862.
51. Burlingame E, Reddish G. Laboratory methods for testing fungicides used in the treatment of epidermophytoses. *J Lab Clin Med.* 1973.14:649-665.
52. Pfaller M, *et al.* Reference Method for Broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard. NCCLS 2002. M38-A; 22: 16. *J Clin Microbiol* 2000; 38(9):3359–3361.
53. Ríos F, *et al.* Bioestadística: Métodos y Aplicaciones. España: Universidad de Málaga, 2002. 322p. (p.245-250).
54. Gómez A. Caracterización de extractos y aceites esenciales y evaluación de la actividad biológica de hoja de tres especies de piperáceas (*P. jacquemonteanum*, *P. oradendron* y *P. umbellatum*) Guatemala (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia), 2008, 70 p. (p.21).

55. Curz A. Evaluación de la Actividad Biocida e identificación Química de Valepotriatos en tres plantas reconocidas popularmente en Guatemala como Valeriana. Guatemala (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2005, 46p. (p.13).
56. Cácers A. Vademécum nacional de plantas medicinales, Guatemala 2006, p262. (p.62,162,168,218,222)
57. Gaitán I. Evaluación de la actividad antioxidante de cinco especies vegetales utilizadas popularmente para el tratamiento de afecciones de la memoria y los nervios. Guatemala (tesis Maestría en Artes Multidisciplinarias de Producción y Uso de Plantas Medicinales, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2009, 57p. (p.37).
58. Jiménez M. Determinación de la actividad biocida de cinco especies del género *Alcalypha* (*A. guatemalensis*, *A. arenis*, *A. polystaquia*, *A. hispida* y *A. pseudoalopercuroides*) (tesis Maestría en Artes Multidisciplinarias de Producción y Uso de Plantas Medicinales, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia)
59. Gomez A, *et al.* In Vitro and In Vivo Activities of Antimicrobials against *Nocardia brasiliensis*. *Ant. Ag. and chem.* 2004.48:832–837.
60. Mootsikapun P, Intarapoka B, Liawnoraset W. Nocardiosis in Srinagarind Hospital, Thailand: review of 70 cases from 1996 – 2001. *Int. Jour. of Infec. Dis* 2005.9:154-158.
61. Muñoz J, *et al.* Clinical and microbiological features of nocardiosis 1997-2003. *Jour. Of Med Micro.* 2007.56:545-550
62. Cruz S, Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de cinco especies nativas de piperáceas (tesis Maestría en Artes Multidisciplinarias de Producción y Uso de Plantas Medicinales, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2005, 55p. (p.31)
63. Perera W. González L., Payo A. Metabolitos secundarios ya actividad antimicrobiana en *Pluchea carolinensis*. *Rev cub. Farm.* 2006.40
64. Lock O. Análisis fotoquímico y metabolitos secundarios. En <http://www.maca-peruana.com/analisis.htm>
65. Ramírez M, Gonzáles A, Correa L. Actividad antimicrobina, conservante y obtención de un colorante natural a partir de plantas de la región de Boyacá. *Scientia et tech.* 2007.33:415-17.

## XIII. ANEXOS

Tabla 1 Descripción de los extractos evaluados durante el estudio

Familia	Especie	Nombre común	Parte /solvente	Procedencia	No. Herbario*	Rend.
Euphorbiaceae	<i>Acalypha pseudoalopercuroides</i> Jacq	Hierba del cancer	Hoja/acuoso	Chimaltenango	NR**	24.72%
Boraginaceae	<i>Bourreria huanita</i> (La Llave & Lex.) Hemsl	Esquisuchil	Flor/etanol	Antigua Guatemala	895	25.30%
Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) HBK	Nance	Corteza/Etanol	Mazatenango	31	29.5%
Leguminosae	<i>Cassia grandis</i> L	Caña fístula	Corteza/etanol	Sanayac, Suchitepéquez	379	9.32%
Verbenaceae	<i>Cornutia pyramidata</i> L	Jorokté	Hoja /etanol	Cobán	724	15.6%
Vervenaceae	<i>Lippia graveolens</i> HBK	Orégano	Hoja/acuoso	Las Minas	604	9.20%
Polypodiaceae	<i>Phlebodium pseudoaureum</i> Smith	Calahuala	Hoja/etanol	Altiplano y del departamento de Guatemala, Guatemala	1038	NR
Piperaceae	<i>Piper aduncum</i> L	Cordoncillo	Hoja/metanol	Suchitepéquez	961	10.86%
Piperaceae	<i>Piper jacquemontianum</i> Kunth	Caracas peper	Hoja/metanol	Laguna Lachuá (54)	1069	11.0%
Rhizophoraceae	<i>Rhizophora mangle</i> L	Mangle rojo	Tallo/etanol (corteza)	Chiquimulilla, Santa Rosa	399	31.3%
Smilacaceae	<i>Smilax domingensis</i> Willd	Zarzaparrilla	Tallo/etanol	Samayac	662	40.4%
Solanaceae	<i>Solanum nigrescens</i> Mart & Gal	Hierba mora	Hoja/etanol	San Pedro Sacatepéquez, San Marcos	391	28.3%
Theaceae	<i>Ternstroemia tepezapote</i> Schlect. & Cham	Tila	Hoja/hexano	Aldea San Igancio, San Pedro Pinula, Jalapa	946	25.6%
Valerianaceae	<i>Valeriana prionophylla</i> Standl	Valeriana	Raíz/metanol	Nebaj, Quiché (55)	906	37.00%
Hydrophyllaceae	<i>Wigandia urens</i> (R. & P.) HBK var. <i>caracasana</i>	Chocon	Flor/hexano	Ecopardela el Kakahuatal, Samayac, Suchitepéquez	1,068	5.57%

\*Herbario: laboratorio Farmaya, S.A.

Rend: Porcentaje de rendimiento

\*\*NR: No se encontraron datos reportados

Fuente: Datos experimentales

**Tabla No. 2: Sensibilidad in vitro de las distintas especies de *Nocardia*.**

		<i>N. asteroides</i>	<i>N farcinica</i>	<i>N nova</i>	<i>N brasiliensis</i>	<i>N transvalensis</i>	<i>N otitidiscaviarum</i>
Sulfametoxazole		96-99	89-100	89-97	99-100	90	Variable
TMP-SMX		100	--	--	100	88	Variable
Amoxicilina clavulánico	Acido	53-67	47-71	3-6	65-97	30	Resistente
Ceftriaxona		94-100	0-73	100	88-100	50	--
Imipenem		77-98	64-87	100	20-30	90	Resistente
Amikacina		100	100	100	100	82	Susceptible
Minociclina		78-94	20-96	89-100	75-90	54	Susceptible
Linezolid		100	100	100	100	100	100

Fuente: Nocardiosis: treatment & medication, Ronald G.

**Tabla No. 3 Actividad de agentes antimicrobianos contra aislamientos clínicos de *Nocardia brasiliensis*.**

Antimicrobial agent	MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) <sup>a</sup>		
	Range	50%	90%
Amikacin	0.125–4	1	4
SXT	2.3/0.12–19/1	4.75/0.25	9.5/0.5
Linezolid	0.12–2	0.5	1
DA-7867	0.015–0.12	0.03	0.06
Gatifloxacin	0.25–2	0.5	2
Moxifloxacin	0.25–2	0.5	2
Garenoxacin	0.12–1	0.5	0.5

<sup>a</sup> 50% and 90%, MICs at which 50 and 90% of the *N. brasiliensis* strains are inhibited, respectively.

Fuente: In Vitro and In Vivo Activities of Antimicrobials against *Nocardia brasiliensis*. Gomez A, et al. 2004

#### Tabla No. 4 Efectos adversos a Trimetoprim sulfametoxazol

Para la valoración de las reacciones adversas (RAM) se tendrán en cuenta los criterios de la [CIOSM](#).

<b>Sistema implicado.</b>	<b>Grupo CIOSM.</b>	<b>Tipo de reacción.</b>
	Frecuentes.	Náuseas, diarrea, cefalea, erupción.
	Poco frecuentes.	Vómitos
Reacciones sistémicas	Raros.	Fotosensibilidad, glositis, estomatitis, hepatitis, hipoglucemia, leucopenia, trombocitopenia, anemia megaloblástica, eosinofilia, hiperpotasemia, hiponatremia.
	Muy raros.	Síndrome de Stevens-Johnson, necrólisis epidérmica tóxica, anorexia, pancreatitis, colitis asociada a los antibióticos, miocarditis, tos y disnea, infiltrados pulmonares, meningitis aséptica, depresión, convulsiones, neuropatía periférica, ataxia, acúfenos, vértigo, alucinaciones, nefritis intersticial, artralgia, mialgia, vasculitis y lupus eritematoso sistémico.

---

Jaqueline Esther Morales León  
AUTORA

---

Lic. Armando Cáceres Estrada  
ASESOR

---

MSc. Isabel Cristina Gaitán Fernández  
ASESOR

---

MA. Ana Margarita Paz Morales de Ramírez  
REVISORA

---

Licda. Karla Josefina Lange Cruz  
REVISORA

---

MSc. Vivian Lucrecia Matta Ríos de García  
DIRECTORA DE ESCUELA

---

Ph.D. Oscar Manuel Cobar Pinto  
DECANO