

# Revista Científica

VOL.26 NO.2 ISSN 2070-8246



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS

## Escuela de Química Biológica

- Relación de la riqueza de hongos conidiales con factores ambientales y de la hojarasca, en la Reserva Ecológica Cayalá, Guatemala.

## Escuela de Química Farmacéutica

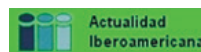
- Actividad larvicida de aceites esenciales de *Lippia alba* y *Lippia graveolens*, contra *Aedes aegypti* L.

## Universidad del Valle de Guatemala

- Self-medication with antibiotics in four Guatemala City pharmacies: Characteristics, sources of information, perceived effects, and motives.

## Escuela de Estudios de Posgrado, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Asociación de Salud Integral.

- Detección de los genes de carbapenemasas bla<sub>KPC</sub> y bla<sub>NDM</sub> en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala.



La Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, es un órgano de difusión de investigación científica en las áreas de salud, industria, recursos naturales y tecnología. Aparece semestralmente, a finales de los meses de mayo y noviembre, sin fines de lucro. Su contenido es dirigido a la comunidad científica universitaria nacional e internacional. Los derechos de autor quedan regidos por la ley de los países signatarios de la Convención Interamericana sobre Derechos de Autor de obras científicas y por las disposiciones contenidas en el artículo 451 del Código Civil de la República de Guatemala. La propiedad intelectual de los artículos es de los autores, sin embargo se permite la reproducción parcial o total de esta publicación, siempre que se indique su procedencia. Registrada en el Centro Internacional ISSN (International Standard Number) bajo el No. 2070-8246 versión impresa y electrónica 2224-5545.

540

R454 **Revista Científica / Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.** – Guatemala: Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas, 2017.

v. : il. ; 24 cm.  
Semestral

ISSN 2070-8246  
ISSN 2224-5545

Disponible en:

[http://revistaiiqb.usac.edu.gt/index.php/revista\\_cientifica](http://revistaiiqb.usac.edu.gt/index.php/revista_cientifica)  
<http://revistasguatemala.usac.edu.gt>

1. Investigación científica 2. Farmacia 3. Biología  
4. Química 5. Nutrición I. Título

**Ficha elaborada por:**

Licda. Dora María Cardoza  
Bibliotecóloga CIERIS-USAC  
Bib. Gral. Odilia Mejía  
Procesos Técnicos  
Biblioteca Central-USAC

---

La correspondencia debe ser dirigida a:

Aura Lissete Madariaga Monroy  
Edificio T-13, 1er. Nivel, Ciudad Universitaria, zona 12.  
Teléfono: 502 24769844  
Correo [revistacientifica@usac.edu.gt](mailto:revistacientifica@usac.edu.gt); [almadariaga1@gmail.com](mailto:almadariaga1@gmail.com)

Fotografía de portada: Ricardo Figueroa

Descripción: *Mariannaea elegans*, hifas con conidioforos y acúmulo de conidios (estereoscopio 40X)

# Consejo editorial

Rubén Dariel Velásquez Miranda,  
Presidente del Consejo Editorial.

Karin Larissa Herrera Aguilar,  
Directora del Instituto de Investigaciones  
Químicas y Biológicas.

Juan Francisco Pérez Sabino,  
Jefe de la Unidad de Análisis Instrumental.

Jorge Erwin López Gutiérrez,  
Profesor titular de la Escuela de Biología.

Michele Marie Monroy Valle,  
Profesora de la Unidad de Biometría.

Sully Margot Cruz Velásquez,  
Profesora titular de la Escuela de Química Farmacéutica.

Gerardo Arroyo Catalán,  
Profesor titular de la Escuela de Química Biológica.

Oscar Federico Nave Herrera,  
Profesor de la Unidad de Biometría. Instituto  
de Investigaciones Químicas y Biológicas.

Aura Lissette Madariaga Monroy,  
Profesora titular del Instituto de investigaciones  
Químicas y Biológicas y Secretaria del Consejo Editorial.

## COMITÉ DE EVALUADORES Y REVISORES EXTERNOS

Noel W. Solomons,  
Director ejecutivo del Centro de Estudios de la  
Discapacidad Sensorial Envejecimiento  
y Metabolismo (-CESSIAM-)

María Carlota Monroy Escobar,  
Investigadora asociada del Laboratorio de Entomología y  
Parasitología, Escuela de Biología (LENAP- USAC).

José Vega Baudrit,  
Director del Laboratorio Nacional de Nanotecnología  
LANOTEC (Costa Rica).

Armando Cáceres Estrada,  
Profesor titular jubilado de la Escuela de  
Química Biológica

Pedro Daniel Pardo Villegas,  
Maestro en Ciencias en Forestería Tropical y Manejo  
Ambiental. Universidad Técnica de Dresde.

Laura Benítez Cojulúm,  
Bióloga y estudiante de la Licenciatura en Letras.

## COLABORADORES PARA ESTA EDICIÓN

Olga Rebeca Torres de Matute  
Directora de Diagnóstico Molecular, S.A

Jorge Arturo Matute Flores  
Bioestadístico, Investigador principal de CIENSA.

Alba Marina Valdés de García  
Directora de la Escuela de Química Biológica.

Raquel Pérez Obregón  
Profesora titular del Departamento de Farmacología  
de la Escuela de Química Farmacéutica.

Alejandra Ruiz Mayén  
Profesora titular del Departamento de Farmacología  
de la Escuela de Química Farmacéutica.

Jorge Luís de De León Arana  
Profesor titular de la Unidad de Biometría del Instituto  
de Investigaciones Químicas y Biológicas.

Blanca Samayoa Herrera  
Profesora titular del Departamento de Microbiología  
de la Escuela de Química Biológica.

Mónica Osnaya González  
Profesora-Investigadora, Área de Fitopatología  
Colegio de Postgraduados, Campus Campeche.

Norma Gil Rodas de Castillo  
Profesora titular del Centro de estudios del mar  
y acuicultura (CEMA).

Roberto Cáceres Stackmann  
Profesor interino del CEMA.

Sergio Pérez Consuegra  
Profesor titular de la Escuela de Biología.

Selvyn Pemech  
Estudiante de la Licenciatura en Ciencias Lingüísticas.

## EDITORA

Aura Lissette Madariaga Monroy



## JUNTA DIRECTIVA

Rubén Dariel Velásquez Miranda  
Decano

Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza  
Secretaria

Miriam Carolina Guzmán Quilo  
Vocal I

Juan Francisco Pérez Sabino  
Vocal II

Carlos Manuel Maldonado Aguilera  
Vocal III

Andreina Delia Irene López Hernández  
Vocal IV

Carol Andrea Betancourt Herrera  
Vocal V



# Contenido

<b>Editorial</b> .....	7	
<b>Detección de los genes de carbapenemasas <i>bla</i><sub>KPC</sub> y <i>bla</i><sub>NDM</sub> en aislamientos de <i>Klebsiella pneumoniae</i> del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala.</b> .....	8	<b>Relación de la riqueza de hongos conidiales con factores ambientales y de la hojarasca, en la Reserva Ecológica Cayalá, Guatemala.</b> .....
Detection of carbapenemases genes <i>bla</i> <sub>KPC</sub> and <i>bla</i> <sub>NDM</sub> in <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolates from the San Juan de Dios General Hospital at Guatemala City, Guatemala.		Relationship of the richness of conidial fungi with environmental and leaf litter factors in the Cayalá Ecological Reserve, Guatemala.
Tamara Velásquez Porta y Dalia Lau Bonilla.		Ricardo Figueroa, Osberth Morales, María del Carmen Bran y Rafael Castañeda-Ruiz.
<b>Self-medication with antibiotics in four Guatemala City pharmacies: characteristics, sources of information, perceived effects, and motives.</b> .....	18	
Automedicación con antibióticos en cuatro farmacias de ciudad de Guatemala: características, fuentes de información, efectos percibidos, y motivos.		
Brooke M Ramay, Luisa Córdova y Alejandro Cerón.		
<b>Actividad larvicida de aceites esenciales de <i>Lippia alba</i> y <i>Lippia graveolens</i>, contra <i>Aedes aegypti</i> L.</b> .....	36	
Larvicidal activity of essential oils of <i>Lippia alba</i> and <i>Lippia graveolens</i> , on <i>Aedes aegypti</i> L.		
Francisco Aldana Cerna y Sully Cruz.		



## Editorial

Para la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia la realización de la Revista Científica siempre es un reto, muestra que la investigación científica no ha perdido su prioridad, actualidad e interés, por lo cual es el medio y espacio por excelencia para difundir los resultados de la investigación en el campo de la ciencia, que se desarrolla dentro de la misma; siendo además incentivo de publicación para los estudiantes y docentes que tienen la oportunidad de conocer y confrontar a nivel de intelecto los diferentes esfuerzos, tomando en consideración que estos no tienen un criterio exclusivo.

La Revista Científica es reconocida ampliamente por la calidad de los artículos que la estructuran. Se encuentra localizada en los portales <http://www.revistaiiqb.usac.edu.gt> y <http://www.revistasguatemala.usac.edu.gt>

Los investigadores(as) que brindan su aporte a la labor científica y publican en la Revista, tienen la oportunidad de brindar información interesante e importante a los lectores en el ambiente intelectual, cumpliéndose con el lema de nuestra casa de estudios “Id y Enseñad a Todos”.

Los trabajos que se presentan en esta oportunidad a la comunidad académica, del volumen 26 (2), esta conformado por los ensayos tanto de carácter científico, como científico social y un aporte para la industria; a continuación se enumeran:

1. Detección de los genes de carbapenemasas *bla<sub>KPC</sub>* y *bla<sub>NDM</sub>* en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala.
2. Automedicación con antibióticos en cuatro farmacias de ciudad de Guatemala: características, fuentes de información, efectos percibidos, y motivos.
3. Relación de la riqueza de hongos anamórficos con factores ambientales y de la hojarasca, en la Reserva Ecológica Cayalá, Guatemala
4. Actividad larvicida de aceites esenciales de dos especies de *Lippia*, contra *Aedes aegypti* L.

### “ID Y ENSEÑAD A TODOS”

Lissete Madariaga Monroy

EDITORA

## Detección de los genes de carbapenemasas *bla<sub>KPC</sub>* y *bla<sub>NDM</sub>* en aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala.

### Detection of carbapenemases genes *bla<sub>KPC</sub>* and *bla<sub>NDM</sub>* in *Klebsiella pneumoniae* isolates from the San Juan de Dios General Hospital at Guatemala City, Guatemala.

Tamara Velásquez Porta<sup>1</sup>, Dalia Lau Bonilla<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala

<sup>2</sup>Asociación de Salud Integral  
tamyporta@gmail.com

Recibido: 30 enero, 2016 • Aceptado: octubre, 2016

#### Resumen

La resistencia a los antibióticos constituye uno de los problemas más relevantes de salud pública en todo el mundo. Las enterobacterias productoras de carbapenemasas representan la mayor amenaza. Las carbapenemasas son potentes enzimas que inactivan los antibióticos carbapenémicos y en general, a todos los antibióticos betalactámicos. Las consecuencias para el tratamiento de las infecciones causadas por estas bacterias son relevantes, ya que los carbapenemes son de las últimas opciones disponibles para bacterias multirresistentes. Esta investigación tuvo como objetivos determinar por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) punto final, la presencia de los genes de carbapenemasas *bla<sub>KPC</sub>* (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa) y *bla<sub>NDM</sub>* (New Delhi Metalobetalactamasa) en aislamientos de *K. pneumoniae* del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala, caracterizar el tipo de muestra y definir el servicio del hospital donde se aislaron este tipo de bacterias. Se analizaron 54 aislamientos de *K. pneumoniae* resistentes a carbapenemes (imipenem y/o meropenem), 49 (91%) fueron portadoras del gen *bla<sub>NDM</sub>*. Estas bacterias se aislaron con más frecuencia en muestras de sangre (37%) y orina (14%). En esta investigación, el 53% de aislamientos se obtuvieron de pacientes de servicios de intensivos. Los resultados de este estudio indican que *K. pneumoniae* portadora del gen *bla<sub>NDM</sub>* se ha diseminado dentro del Hospital General San Juan de Dios, desde el primer caso reportado hace cinco años, poniendo en riesgo de muerte a los pacientes, especialmente a los hospitalizados en los servicios de intensivos.

Palabras clave: imipenem, gen *bla<sub>NDM</sub>*, gen *bla<sub>KPC</sub>*, enterobacteria, sangre.



## Abstract

Resistance to antibiotics is one of the most important public health problems worldwide. Enterobacteriaceae producing carbapenemases pose the greatest threat. The carbapenemases are powerful enzymes that inactivate carbapenem antibiotics and generally all beta-lactam antibiotics. The consequences for the treatment of infections caused by these bacteria are important because carbapenems are the latest options available for multidrug-resistant bacteria.

This research aimed to determine through endpoint polymerase chain reaction (PCR), the presence of the carbapenemases encoding genes *bla<sub>KPC</sub>* (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase) and *bla<sub>NDM</sub>* (New Delhi metallo-lactamase) in *K. pneumoniae* isolates from San Juan de Dios General Hospital located in Guatemala City; and to characterize the sample type and define the service of the hospital where such bacteria were isolated. 54 *K. pneumoniae* isolates resistant to carbapenems (imipenem and / or meropenem), were analyzed. From these, 49 (91 %) were detected as *bla<sub>NDM</sub>* gene carriers. These bacteria were isolated more frequently in blood samples (37%) and urine (14%). In this research, 53% of isolates were obtained from patients hospitalized in intensive care units. This study demonstrates that *K. pneumoniae* carrying the *bla<sub>NDM</sub>* gene has spread within San Juan de Dios General Hospital, since the first reported case five years ago, risking the life of patients, especially of those hospitalized in intensive care services.

Keywords: imipenem, gen *bla<sub>NDM</sub>*, gen *bla<sub>KPC</sub>*, enterobacter, blood.

## Introducción

La Organización Mundial de la Salud declaró, en abril del 2014, que la resistencia a los antimicrobianos es una crisis a nivel mundial. Un problema importante y muy preocupante es la aparición y diseminación de enterobacterias productoras de carbapenemasas (Horcajada, Torre-Cisneros, Peña, & Fariñas, 2014). Estos microorganismos causan infecciones asociadas a tasas altas de mortalidad, con frecuencia contienen otros genes de resistencia, por lo que las opciones de tratamiento son muy limitadas y tienen el potencial de diseminarse rápidamente, ya que las enterobacterias son una causa común de infecciones intrahospitalarias y de la comunidad (Centros para el Control y Prevención de Enfermedades [CDC], 2015)

Esta investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de los genes de carbapenemasas *bla<sub>KPC</sub>* (*Klebsiella pneumoniae*

carbapenemasa) y *bla<sub>NDM</sub>* (New Delhi Metalobetalactamasa) en aislamientos de *K. pneumoniae* del Hospital General San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala.

La bacteria seleccionada para este estudio fue *K. pneumoniae*, ya que es una causa importante de infecciones nosocomiales, principalmente neumonías y septicemias en recién nacidos y en pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos. Para la detección de los genes *bla<sub>KPC</sub>* y *bla<sub>NDM</sub>*, se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) punto final. Este estudio es de los pocos en los que se han aplicado técnicas moleculares para la detección de genes específicos en aislamientos bacterianos del Hospital General San Juan de Dios. Los resultados obtenidos en este estudio serán de beneficio para los pacientes y el personal del Hospital General

San Juan de Dios de la ciudad de Guatemala, principalmente porque apoyan la aplicación de las recomendaciones hechas por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en los años 2012 y 2014 ante la transmisión de este tipo de bacterias multirresistentes, en donde los laboratorios de microbiología son la primera línea de contención a través de la detección oportuna de los mecanismos de resistencia bacteriana, lo que permitirá determinar la magnitud del problema y así orientar las medidas de control (OPS, 2012).

### Materiales y métodos

Se recolectaron 54 aislamientos de *K. pneumoniae* resistentes a imipenem y/o meropenem, provenientes de diversas muestras clínicas, del Hospital General San Juan de Dios. El muestreo se realizó de enero a julio del 2014. Se utilizó la información del antibiograma obtenida del equipo automatizado MicroScan® WalkAway (Merck), se seleccionaron las cepas de *K. pneumoniae* que presentaron un resultado de imipenem y/o meropenem Concentración mínima inhibitoria (CIM) mayor o igual a 2-4 µg/mL, valores que se interpretan como intermedios y resistentes, respectivamente. El estudio es descriptivo, prospectivo.

Las cepas almacenadas en hisopos con agar Ames, se cultivaron en agar sangre de carnero 5% y se incubaron a 35° C por 24 h. Se efectuó un segundo cultivo en agar MacConkey que se incubó a 35° C por 24 h. Por último, se tomaron una o dos colonias crecidas en el agar MacConkey y se trasladaron a microtubos con 1.5 ml de caldo BHI, los cuales se incubaron por otras 24 h a 35° C. Posteriormente se procedió a congelar a -20° C los tubos conteniendo las cepas.

La extracción de ADN de las cepas en estudio se realizó con el Kit Wizard® Genomic DNA

Purification para bacterias Gram negativo. Se realizó control de extracción midiendo absorbancia a 260 nm (Promega Corporation, 2009).

Para la determinación genotípica se utilizó el protocolo de amplificación estandarizado en el Servicio de Antimicrobianos, Instituto de Salud, “Dr. Carlos Malbrán”, Buenos Aires, Argentina (Servicio Antimicrobianos, 2008). Los primers utilizados fueron: (KPC-Forward, secuencia 5’-3’ AACAAG GAATATCGTTGATG; KPC-Reverse, secuencia 5’-3’ AGA TGA TTT TCA GAG CCT TA) para un producto de 916 bp; (NDM-Forward, secuencia 5’-3’ AGC ACA CTT CCT ATC TCG AC; NDM-Reverse secuencia 5’-3’ GGC GTA GTG CTC AGT GTC) para un producto de 512 bp.

Para asegurar la calidad del proceso, los productos de PCR de 20 cepas seleccionadas al azar, se enviaron a MacroGen Inc. para la secuenciación respectiva y asegurar que se amplificaron las secuencias de los genes *bla<sub>KPC</sub>* y *bla<sub>NDM</sub>*.

La información correspondiente como tipo de muestra, servicio del hospital, susceptibilidad antibiótica, etc., se obtuvo directamente de la base de datos almacenada en el MicroScan® WalkAway. Los datos demográficos y clínicos se obtuvieron de la revisión de los expedientes correspondientes. Se realizó un análisis descriptivo a través de frecuencias, usando el programa Epi Info 7.

### Resultados

Se analizaron 54 aislamientos de *K. pneumoniae* resistentes a imipenem y/o meropenem del Hospital General San Juan de Dios del año 2014. De estos, 49 (90.7%) presentaron el gen *bla<sub>NDM</sub>*, mientras que en cinco aislamientos (9.3%) no se detectó ninguno de los genes investigados: *bla<sub>NDM</sub>* y *bla<sub>KPC</sub>*.

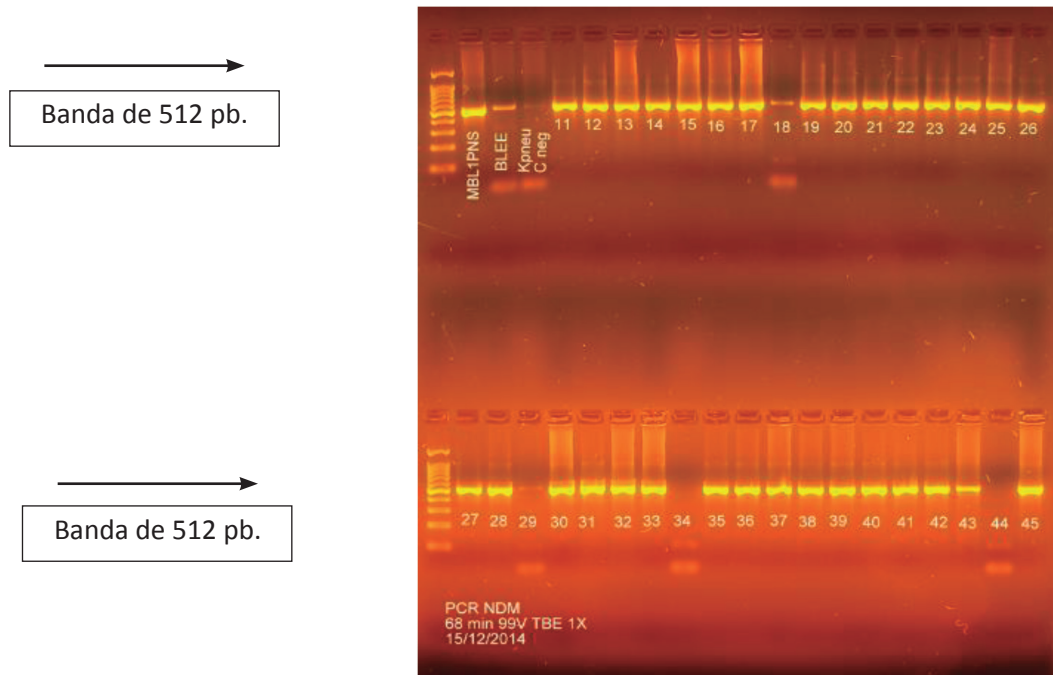


FIGURA 1. Resultados de los productos de PCR de punto final en gel de agarosa. Gen *bla*NDM, tamaño del amplicón 512 pb. Se muestran los resultados de las cepas de *K. pneumoniae* de la 11 a 45. En las cepas 29, 34 y 44 no se detectó el gen. MBL1PNS = control positivo, BLEE = cepa con betalactamasa de espectro extendido y gen *bla*NDM, Kpneu = control negativo.

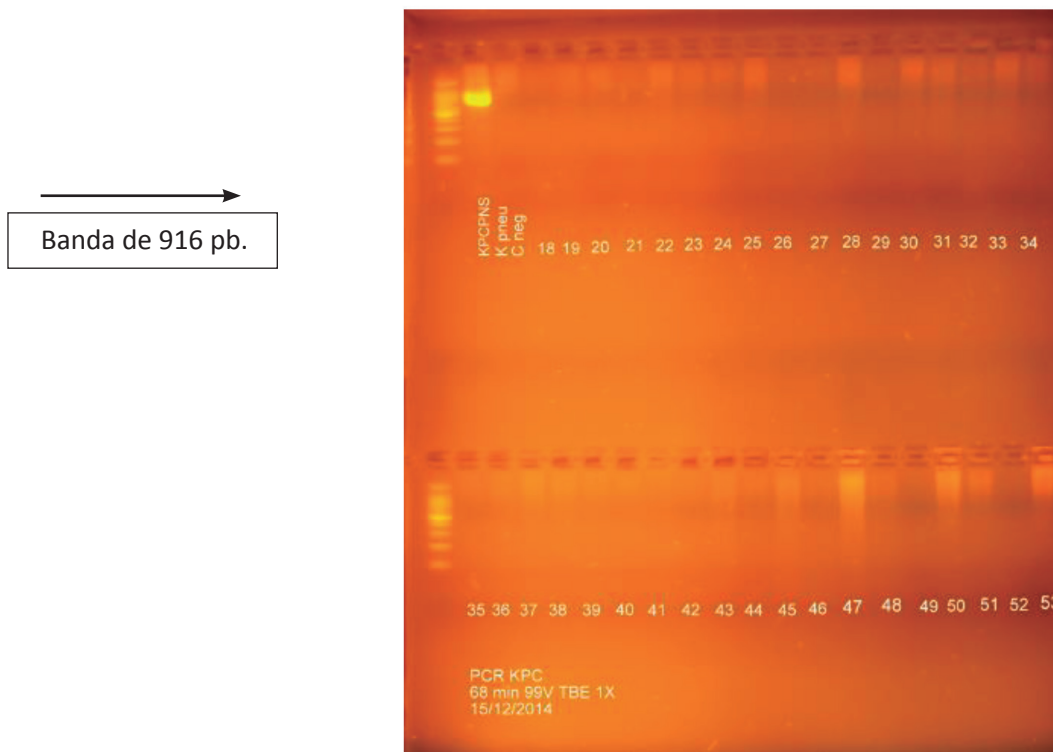


FIGURA 2. Resultados de los productos de PCR de punto final en gel de agarosa. Gen *bla*KPC, tamaño del amplicón 916 pb. Se muestran los resultados de las cepas de *K. pneumoniae* de la 18 a 53, en ninguna se detectó el gen *bla*KPC-KPCPNS = control positivo, Kpneu = control negativo.

De las 54 cepas estudiadas, 52 (94.5%) fueron resistentes al imipenem y 2 cepas presentaron un valor intermedio de CIM. En 49 (91%) de estas cepas se detectó la presencia del gen *bla<sub>NDM</sub>*. Los resultados de susceptibilidad a meropenem estuvieron disponibles únicamente para 39 cepas (72%) y todas fueron resistentes

a este antibiótico, 34 (63%) de estas cepas presentaron el gen *bla<sub>NDM</sub>*.

Las 5 cepas en las que no se detectaron los genes en estudio, fueron resistentes al imipenem y al meropenem (Tabla 1).

**Tabla 1.** Resultados de susceptibilidad a carbapenemes en cepas de *K. pneumoniae* analizadas para la presencia de genes de carbapenemasas (N = 54).

Carbapenemes	<i>bla<sub>NDM</sub></i> positivo n (%)	<i>bla<sub>NDM</sub>/bla<sub>KPC</sub></i> negativo n (%)	Total n (%)
Imipenem			
Resistente CIM > 8 µg/ml	47 (87)	5 (9)	52(94.5)
Intermedio CIM = 8 µg/ml	2 (4)	0 (0)	2 (4)
Subtotal	49 (91)	5 (9)	54 (100)
Meropenem			
Resistente CIM > 8 µg/ml	34 (63)	5 (9)	39 (72)
Intermedio CIM = 8 µg/ml	0 (0)	0 (0)	0 (0)
No determinado	15 (28)	0 (0)	15(28)
Subtotal	49 (91)	5 (9)	54(100)

En la Tabla 2 se observa la variedad de muestras en las que se aisló *K. pneumoniae* portadora del gen *bla<sub>NDM</sub>*. La mayor frecuencia de

aislamientos se obtuvo de muestras de sangre (37%) y orina (14%). Otra fuente importante fueron las secreciones varias (10%).

**Tabla 2.** Muestras en las que se aisló *K. pneumoniae* portadora del gen *bla<sub>NDM</sub>* (n = 49)

Tipo de muestra	n	%
Sangre	18	37
Orina	7	14
Secreciones varias	5	10
Líquidos <sup>1</sup>	4	8
Secreción orotraqueal	4	8
Herida operatoria	3	6
Cultivo de catéter	3	6
Otros <sup>2</sup>	5	10
Total	49	100

<sup>1</sup>Líquido cefalorraquídeo, líquido biliar, líquido pleural, líquido peritoneal.

<sup>2</sup>Cultivo de gramo por tejido, esputo, úlcera, aspirado bronquial.

Las cinco cepas que fueron negativas para los dos genes investigados, se aislaron de herida operatoria, orina, esputo y secreciones orotraqueales.

Las salas de cuidados intensivos fueron los servicios del Hospital General San Juan de Dios en el que se aislaron con mayor frecuencia cepas de *K. pneumoniae* portadoras del gen de carbapenemasas *bla<sub>NDM</sub>*. En este estudio, 26 (53%) aislamientos realizados correspondieron a estos servicios y 13 (27%) a los servicios de hospitalizados no intensivos. También se encontraron 10 (20%) cepas en los servicios de emergencia.

Los datos demográficos y clínicos de las personas de las que se aisló *K. pneumoniae* portadora del gen *bla<sub>NDM</sub>*, fueron recolectados únicamente de 23 registros a los cuales se tuvo acceso. La mayor parte de aislamientos de *K. pneumoniae* fue en mujeres (59%); el 48% de los pacientes tenía menos de 1 año de edad. La utilización de catéter central (96%) y ventilación mecánica (61%) fueron los procedimientos médicos más utilizados en este grupo de pacientes. La mediana del tiempo de hospitalización en este grupo de pacientes fue de 38 días (IQR = 22.5 a 93.5). El 74% de las personas egresaron vivas y el 26% falleció (Tabla 3).

**Tabla 3.** Datos demográficos y clínicos de pacientes con aislamientos de *K. pneumoniae* portadora del gen *bla<sub>NDM</sub>*.

Datos demográficos	n	%
Sexo (n=49)		
Femenino	29	59
Masculino	20	41
Edad (n=23)		
< 1 año	11	48
1-80 años	12	52
Datos clínicos (n=23)		
Catéter central	22	96
Ventilación mecánica	14	61
Sonda urinaria	11	48
Infección de sitio quirúrgico	3	13
Mediana días de hospitalización	38	
Egreso (n=23)		
Vivo	17	74
Fallecido	6	26

En la Tabla 4 se muestra la comparación entre los resultados de PCR punto final y la secuenciación. Los controles y la mayoría de las cepas concordaron en los resultados de ambas pruebas. En las cepas 52 y 58 no se detectó el gen *bla<sub>NDM</sub>* por PCR punto final, sin embargo la secuenciación permitió evidenciar la presencia

del gen. Estas dos cepas fueron registradas como positivas para el gen *bla<sub>NDM</sub>* tomando como válido el resultado de la secuenciación.

**Tabla 4.** Comparación entre resultados de PCR punto final y secuenciación (n = 20)

Identificación de cepa	PCR punto final	Secuenciación Sanger
BLEE	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
Control negativo	Negativo	Negativo
Control positivo	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
1	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
5	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
9	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
14	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
18	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
24	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
29	Negativo	Negativo
31	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
34	Negativo	Negativo
36	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
41	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
49	Negativo	Negativo
51	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
52	Negativo	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
58	Negativo	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>
60	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>	Positivo para gen <i>bla</i> <sub>NDM</sub>

## Discusión

Los resultados obtenidos en esta investigación exponen que de 54 cepas de *K. pneumoniae* recolectadas de enero a julio del 2014, el 91% (49) presentan el gen *bla*<sub>NDM</sub>. Esto demuestra la diseminación que ha tenido este mecanismo de resistencia en cinco años desde el primer caso reportado en el Hospital General San Juan de Dios en Guatemala (Pasteran et al., 2012). Estos resultados además concuerdan con los reportes de varios países del mundo sobre la rápida propagación de las enterobacterias productoras de carbapenemasas, especialmente del tipo NDM (Johnson & Woodford, 2013). La diversidad de características genéticas asociadas con el gen *bla*<sub>NDM</sub> puede explicar su elevada tasa de expansión en todo el mundo. Este gen posee gran diversidad clonal y se encuentra en diferentes tipos de plásmidos, como: IncA/C, IncF, IncL/M o incluso en algunos que no han podido ser tipificados. Los estudios de epidemiología molecular indican

que el plásmido IncA/C es el responsable de la diseminación del gen *bla*<sub>NDM</sub> entre las enterobacterias (Martínez-Martínez & González-López, 2014).

En el 2011, se realizó un estudio con el objetivo de determinar la presencia de carbapenemasas por métodos fenotípicos en 62 aislamientos de *Klebsiella* sp y *Escherichia coli* resistentes a carbapenemes, provenientes del Hospital General San Juan de Dios. Los resultados mostraron que 14 (23%) aislamientos de *Klebsiella* sp. con presencia de carbapenemasas, de los cuales 13 (93%) eran productores de carbapenemasa tipo MBL (Metalobetalactamasa) y 1 (7%) productor de carbapenemasa tipo KPC. De estos, la única especie del género *Klebsiella* que se identificó fue *K. pneumoniae* (Garrido-Ortega, 2014). Estos hallazgos son congruentes con los resultados obtenidos en este estudio. Aunque se han reportado aproximadamente 30 genes de carbapenemasas, este estudio investigó la presencia de dos: *bla*<sub>NDM</sub> y *bla*<sub>KPC</sub>.

El gen *bla<sub>NDM</sub>* se seleccionó porque fue el reportado en cepas de *K. pneumoniae*, en 2010, en el mismo hospital en el que se realizó este estudio y es de interés conocer la diseminación de las bacterias portadoras de este gen en los años posteriores. El gen *bla<sub>KPC</sub>* se seleccionó debido a que codifica a la carbapenemasa de la clase A más diseminada en el mundo y su presencia ha sido reportada en un número creciente de enterobacterias y bacilos Gram negativo no fermentadores, pero los informes siguen predominando en *K. pneumoniae*, por lo que también era importante conocer si bacterias portadoras de este gen estaban presentes en el Hospital General San Juan de Dios.

En cinco aislamientos de *K. pneumoniae*, de los 54 analizados, no se detectó la presencia de ninguno de los genes mencionados, a pesar que fenotípicamente estos aislamientos demostraron ser resistentes a imipenem y meropenem. Esto podría ser explicado por la presencia de otros mecanismos de resistencia que no sea la producción de carbapenemasas o por la existencia de otros genes codificadores de carbapenemasas que deberían ser investigados en el futuro, como: OXA-48, SME, IMI, GES, etc. (Martínez-Martínez & González-López, 2014).

Las infecciones causadas por *K. pneumoniae* productoras de carbapenemasas se pueden presentar con diferentes cuadros clínicos, aunque suelen ser más frecuentes las infecciones respiratorias, urinarias y septicemias, ya sea primaria o asociada a catéter. Su adquisición es habitualmente nosocomial (Paño-Pardo, Villar, Ramos-Ramos, & Pintado, 2014). Esta información concuerda con lo que muestran los resultados obtenidos respecto al tipo de muestra en el que fueron encontradas las 49 cepas de *K. pneumoniae* con el gen *bla<sub>NDM</sub>*, en donde la sangre (37%) y la orina (14%) fueron las más frecuentes.

Al igual que otras bacterias en entornos

sanitarios *K. pneumoniae* puede propagarse fácilmente entre los pacientes, la transmisión de microorganismos entre un hospedero susceptible y una persona colonizada es frecuente en actividades que impliquen contacto directo, dando lugar a brotes nosocomiales. Esta situación ocurre en las unidades de cuidados intensivos y de atención neonatal (Pitout, Nordmann, & Poirel, 2015), como se evidencia con los resultados obtenidos en este estudio, en el que el 53% de las cepas de *K. pneumoniae* portadoras del gen *bla<sub>NDM</sub>* provenían de los servicios de intensivos, tanto de adultos como de niños.

El Hospital General San Juan de Dios es un centro clínico de tercer nivel de atención y de referencia nacional, se atienden aproximadamente 1,100 personas al día entre consultas externas, emergencias y personas en servicios internos. El hospital cuenta con 84 camas en los intensivos de niños y adultos, y con otras 900 camas para los otros servicios de hospitalización. El porcentaje de ocupación general es del 96% y la estancia promedio por paciente es de 12 días, situación que aumenta el riesgo de contraer una infección nosocomial. (Hospital General San Juan de Dios, 2015).

Actualmente el hospital atraviesa una crisis financiera sin precedentes, todos los insumos y recursos son escasos, desde la comida que se ofrece a los pacientes hasta el más costoso de los antibióticos (Coronado, 2015). Esta situación, además del tamaño y complejidad del hospital, han hecho difícil la vigilancia y el control de las infecciones, lo que resulta en la diseminación de bacterias con mecanismos de resistencia tan complicados como las encontradas en el presente estudio.

Esta investigación tuvo algunas limitaciones, dentro de las más importantes está la recolección incompleta de datos demográficos, clínicos y epidemiológicos de los pacientes. Actualmente, el registro de todos estos datos

se hace en forma manual y el almacenamiento de las historias clínicas es en forma física, no digital, por lo que se dificulta el acceso a las mismas. Esto limita la calidad de la información epidemiológica obtenida.

A pesar de las limitaciones, el impacto de los resultados de esta investigación radica principalmente en que demuestra que en los cinco años posteriores al primer reporte, *K. pneumoniae* portadora del gen *bla<sub>NDM</sub>* se ha diseminado dentro del hospital, poniendo en riesgo de muerte a los pacientes, especialmente a los hospitalizados en los servicios de intensivos. Esta diseminación sin control llevará en un futuro cercano a la aparición de infecciones adquiridas en la comunidad debidas a bacterias portadoras de carbapenemasas y en este caso específico a portadoras del gen *bla<sub>NDM</sub>*. Para prevenir una epidemia en Guatemala por estas bacterias multirresistentes es necesaria una respuesta rotunda, bien coordinada y protocolizada de todos los profesionales sanitarios y autoridades nacionales implicadas. Iniciando donde todo empezó, el Hospital General San Juan de Dios.

### Agradecimientos

Al Laboratorio Clínico del Hospital General San Juan de Dios, Laura Valenzuela, supervisora del área de Microbiología, a Marina Ruano y Luis Aguirre, al Laboratorio de Biología Molecular de la Asociación de Salud Integral, Remei Gordillo y Rosa Cortés del Hospital Roosevelt y Claudia Valenzuela del Laboratorio Nacional de Salud.

### Referencias

Centro para el Control y Prevención de las Enfermedades (CDC). 2015. *Facility Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE)*. Atlanta: Autor.

Coronado, E. (2015). Salvar vidas en un hospital en donde no sirve ni el ascensor. *Revista Contrapoder*, 110

Garrido Ortega, M. A. (2014). *Determinación de carbapenemasas en aislamientos de Escherichia coli y Klebsiella sp. aisladas en el Hospital General San Juan de Dios*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

Hospital General San Juan de Dios, Departamento de Informática. (2015). *Reporte 2015 de producción Hospital General San Juan de Dios*. Guatemala: Autor.

Johnson, A. P., & Woodford, N. (2013). Global spread of antibiotic resistance: The example of New Delhi metallo-beta-lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance. *Journal of Medical Microbiology*, 62(4), 499–513. doi:10.1099/jmm.0.052555-0

Martínez-Martínez, L., & González-López, J. J. (2014). Carbapenemasas in Enterobacteriaceae: types and molecular epidemiology. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 32(4), 4–9. doi:/10.1016/S0213-005X(14)70168-5

Organización Panamericana de la Salud. (2012). Alerta epidemiológica: transmisión de bacterias multirresistentes tipo NDM en servicios de atención de salud. Recuperado de <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2014/03/Transmisi%C3%B3n-de-bacterias-multirresistentes-tipo.pdf>

Paño Pardo, J. R., Villar, S. S., Ramos Ramos, J. C., & Pintado, V. (2014).



Infections caused by carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Risk factors, clinical features and prognosis. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 32 Suppl 4(4), 41–8. doi./10.1016/S0213-005X(14)70173-9

Pasteran, F., Albornoz, E., Faccone, D., Gomez, S., Valenzuela, C., Morales, M., ... Corso, A. (2012). Emergence of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Guatemala. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67, (7), 1795–1797. doi./10.1093/jac/dks101

Pitout, J. D. D., Nordmann, P., & Poirel, L. (2015). Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(10), 5873–5884. doi:10.1128/AAC.01019-15

Promega Corporation. (2009). *Wizard*® *Genomic DNA Purification Kit Wizard*® *Genomic DNA. Solutions*. Madison: Autor.

Rosales, M. (2015). Crisis hospitalaria en Guatemala es la peor de su historia. Recuperado de <http://www.telesurtv.net/news>

Servicio Antimicrobianos, I. N. de E. I.-A. “Dr. C. G. M. (2008 y 2012). Protocolo de PCR para la detección del gen *kpc* en aislamientos de bacilos gram-negativos. *Instituto de Salud (ANLIS) “Dr. Carlos G. Malbrán.”* Recuperado de <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2013/02/Detección-KPC.pdf>

## Self-medication with antibiotics in four Guatemala City pharmacies: characteristics, sources of information, perceived effects, and motives.

### Automedicación con antibióticos en cuatro farmacias de ciudad de Guatemala: características, fuentes de información, efectos percibidos, y motivos.

Brooke M. Ramay<sup>1</sup>, Luisa Córdova<sup>1</sup>, Alejandro Cerón<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Chemistry, University of the Valley of Guatemala, Guatemala City, Guatemala

<sup>2</sup>Department of Anthropology, University of Denver, Denver, Colorado, USA.

bramay@uvg.edu.gt

Received: 17 June 2016 • Admitted: 18 October 2016

#### Resumen

Existen pocas regulaciones que guíen el uso racional de antibióticos en países de rentas bajas o medias, lo cual facilita la automedicación con antibióticos (AMA). Describir las fuentes de información usadas durante la práctica de AMA, los efectos percibidos, y los motivos que rodean la práctica de AMA en Guatemala. Una encuesta descriptiva transversal se administró entre quienes compraron antibióticos sin receta en cuatro farmacias de ciudad de Guatemala. Las preguntas identificaron las características demográficas de los participantes, el origen de la solicitud de antibiótico, y los efectos percibidos de la AMA. En total, 230 participantes respondieron al cuestionario en cuatro farmacias. Dos farmacias correspondieron a un contexto socioeconómico bajo (FSEB) y dos correspondieron a un contexto socioeconómico alto (FSEA). La mayoría de participantes de las FSEB (93%) y de FSEA (60%) reportaron haberse automedicado con antibióticos previamente ( $p < .001$ ). Cuarenta y cuatro por ciento de participantes de FSEB y 27% de FSEA usaron viejas recetas como fuentes de información cuando practicaron AMA ( $p = .010$ ); 27% de participantes de FSEA hablaron por teléfono con médicos para seleccionar el antibiótico. Setenta y tres por ciento de FSEB y 68% de FSEA percibieron mejoras en su salud ( $p < .001$ ) como resultado de AMA. Veinticinco por ciento de FSEB y 35% de FSEA reportaron efectos secundarios de AMA. Los motivos para automedicarse con antibióticos incluyeron ahorro de tiempo y dinero en consultar a un médico. Los resultados contribuyen a las evidencias crecientes sobre el uso de antibióticos y tienen el potencial de servir para desarrollar prácticas y políticas sobre dispensación de antibióticos en farmacias.

Palabras clave: evidencias, políticas, dispensación, efectos secundarios, contexto socioeconómico.

## Abstract

Few regulations guide the rational use of antibiotics in Low to Middle Income Countries (LMIC) facilitating self-medication with antibiotics (SMA). To describe the sources of information used when practicing SMA, perceived effects of SMA, and motives surrounding SMA practice in Guatemala. A descriptive, cross sectional questionnaire was administered to those purchasing antibiotics without a prescription in four Guatemala City pharmacies. Questions identified respondent demographics, origin of antibiotic request, and the perceived effects of SMA. A total of 230 participants responded to the questionnaire in four pharmacies. Two pharmacies represented Low Socio-Economic Setting Pharmacies (LSEP) and two represented High Socio-Economic Setting Pharmacies (HSEP). The majority of LSEP pharmacy respondents (93%), and HSEP respondents (60%) reported previously carrying out SMA ( $p < .001$ ). Forty-four percent of LSEP and 27% of HSEP respondents used old-prescriptions as a source of information when practicing SMA ( $p = .01$ ); 27% of HSEP respondents spoke over the phone with physicians in order to make antibiotic selection. Seventy-three percent of LSEP and 68% of HSEP perceived improvements in health ( $p < .001$ ) as a result of SMA. Twenty five percent of LSEP and 35% of HSEP reported side effects from SMA. Motives for self-medicating with antibiotics included saving time and money on visiting a physician. Results contribute to the growing body of evidence regarding antibiotic use and serve to develop antibiotic dispensing practice and policies in pharmacies.

Keywords: Evidence, policies, dispensation, side effects, socioeconomic context.

## Introduction

Irrational use of antibiotics leads to antimicrobial resistance worldwide. Incorrect antibiotic indication, antibiotic purchase without a prescription, recurrent disease despite antibiotic use, and substandard manufacturing processes of generic antibiotics all contribute to inappropriate uses of antimicrobial drugs (Roca et al., 2015). Combating antibiotic resistance is multifaceted; health professionals play a vital role in guiding the rational use of antibiotics in humans just as farmers and the food industry have an important position in combating resistance in animals in the food chain. Additionally, the role of the pharmaceutical industry is fundamental in providing new technologies to combat antimicrobial resistance and actors guiding policy are important in controlling the informal

use of antimicrobial medications (World Health Organization [WHO], 2015). Furthermore, the international health community is a big proponent of antibiotic control and has recently focused their attention toward supporting health systems through surveillance methods in animals and humans (WHO, 2014), promoting prescription based on diagnosis and medical need, and strengthening policies surrounding the rational use of antibiotics (Chioro et al., 2015). These antimicrobial monitoring systems require robust infrastructure, and represent major challenges in countries with limited resources. Antimicrobial abuse is a complex problem, especially in some Low to Middle Income Countries (LMICs) where antibiotics are sold over-the-counter representing a major barrier in guiding the rational use of antibiotics,

facilitating Self Medication with Antibiotics (SMA).

Prevalence of SMA is higher in LMICs than reported rates in high-income countries (Bojalil & Calva, 1994; Ramay, Lambour, & Cerón, 2015; WHO, 1996). In one review, non prescription antimicrobial use was as high as 19% in Central America, compared to only 3% in Nordic countries (Morgan, Okeke, Laxminarayan, Perencevich, & Weisenberg, 2011). This is consistent with the results of another review where prevalence of SMA was higher in South America (44.1%) compared to the middle east (34.1%) (Ocan et al., 2015). SMA occurs when consumers take medication based on self-diagnosed symptoms and is a practice that exemplifies the irrational use of antibiotics, driving antimicrobial resistance worldwide (Bloom et al., 2015). SMA saves consumers' time and money on doctors visits (Bennish & Khan, 2010), and improves issues regarding access to medications in LMICs (Ocan et al., 2015). But inappropriate antibiotic selection, and inadequate duration of therapy resulting from SMA creates unwanted side effects, worsening of infectious disease symptoms, and fuels antibiotic resistance (Ocan et al., 2014). Regulations guiding the rational use, supporting rational prescribing and dispensing practices, may curb antibiotic resistance in settings where SMA occurs (Ilić, Jakovljević, & Škodrić-Trifunović, 2012). Developing antimicrobial regulations guiding distribution and sale of antibiotics associated with improving the knowledge base of providers and consumers may aid in controlling antibiotic resistance (Bennish & Khan, 2010). But a comprehensive strategy is required, managing regulations and awareness of SMA at various levels of the health system, so that appropriate use of antibiotics may be achieved.

Some characteristics regarding SMA are easily identified and generalizable across socio-economic sectors. For example, consumers report self-medicating for themselves, for their children and their parents (Fuentes Albarrán & Villa Zapata, 2008; WHO, 1996) and practice self-medication when they report minor symptoms, and or when the practice saves time (or is convenient) (Fuentes Albarrán & Villa Zapata, 2008). In a recent study in Argentina, respondents self medicated when they felt capable of self-diagnosing, and had previously experienced similar symptoms (Hartman, Dos Santos, Horna, & Morales, 2015). Oftentimes respondents self-medicate asking pharmacy personnel for advice, in other cases respondents ask for specific antibiotics by referring to old-prescriptions (Eticha & Mesfin, 2014; Ocan et al., 2014). These data have been previously presented as they pertain to socio-economic status although the relationship between socio-economic status and SMA generalized across LMIC countries has been inconclusive (Ocan et al., 2015). SMA is convenient in cases when access to medication is limited but presents significant public health risks, promoting resistance, and contributing to unwanted side effects or allergies (Bennadi, 2014; Ocan et al., 2015). Evaluation of SMA, as it relates to socio-economic, status may shed light on strategies toward developing regulatory interventions.

SMA and over-the-counter sales of antibiotics are just some of the informal practices contributing to antibiotic resistance in the LMIC setting and should be clearly understood so that effective steps may be taken to guide antibiotic dispensing practice (Santa-Ana-Tellez, Mantel-Teeuwisse, Dreser, Leufkens, & Wirtz, 2013). Unmonitored antibiotic dispensing practices are of concern in Latin America where within a 10-year period there has been a notable, continual rise in

antimicrobial sales. In eight Latin American countries the net, average rate of antimicrobial sales increased by 1.07 from 1997 to 2007, ranging from -4.23 in Chile and +5.58 in Peru. Cross cutting themes of antibiotic purchase include patients demanding antibiotics from physicians and lack of political and economic resources to enforce rules regarding antibiotic dispensing practices (Wirtz, Dreser, & Gonzales, 2010). Understanding the country-specific characteristics of those who practice SMA, their motives, and results of SMA represent one fundamental step towards addressing the local, informal uses of antibiotics.

With this study we aim to understand the practice of SMA in four Guatemalan private pharmacies by comparing the characteristics of SMA in Guatemala, sources of information used, perceived effects of SMA, and motives of those who purchased antibiotics without a prescription in pharmacies located in less affluent and more affluent neighborhoods.

### Materials and methods

We carried out a cross sectional descriptive study in four private, independent pharmacies in Guatemala City. Two establishments served clients of lower purchasing power (zone 1 and 7) or Low Socio-Economic Setting Pharmacies (LSEP), and two served higher purchasing power regions (zone 10 and 15) or High Socio-Economic Setting Pharmacies (HSEP). Within each region, we selected two pharmacies based on pharmacy owner authorization to participate; selection was not random. A finite population was calculated to estimate the sample size for one-month periods in each of the four pharmacies. The sample size was calculated with Epidat 4.0 based on pharmacy staff estimations of monthly populations of 550 people visiting the LSEP, and 250 people visiting the HSEP pharmacies in one month,

with an estimated 50% population proportion carrying out SMA, an 80% confidence interval and 5% of margin of error. The estimated sample size for LSEP pharmacies was 127 (65 respondents in each LSEP pharmacy) and in the HSEP pharmacies 100 (50 respondents in each HSEP pharmacy). We recruited every person who came to each pharmacy to purchase antibiotics without a prescription, until we reached the sample size.

Only customers arriving to pharmacies to purchase antibiotics without a prescription were invited to participate in the study. Respondents were excluded from the study if they were younger than 15 years old, older than 80 years old or if they were not fluent in the Spanish language. Of the total recruited population, one potential participant from LSEP was excluded for age greater than 80 years old. Four additional participants from LSEP and five participants from the HSEP were unwilling to participate in the study.

Those participating in the study were given a brief definition of self-medication: “When patients obtain and use medications without a written prescription from the physician and make a personal decision to seek treatment for their illness”. Antibiotics were defined as medications used to treat bacterial infections found on the World Health Organization’s Model list of Essential medicines and on the Guatemalan national “basic list” of medication. Respondents were given the opportunity to ask any questions regarding SMA and antibiotics and were then given the option to carry out the questionnaire by writing out the response or verbally responding.

We collected information using a previously validated questionnaire (Fuentes Albarrán 2006; Fuentes Albarrán, & Villa Zapata, 2008; Ramay et al., 2015; Tobon Marulanda, 2002)

adding supplementary questions regarding SMA consumer practice. Questionnaires were administered from June to September 2014 from Monday to Friday from 8 am - 4 pm in four pharmacy establishments in four separate regions of the city until the target number of questionnaires was obtained. The SMA instrument consisted of 25 questions. To the original survey study in 2013, we added questions that identified for whom the respondent was purchasing medication, origin of antibiotic request (old prescription, phone call to physician etc.), and the perception of clinical outcomes following SMA. Data analysis was carried out using descriptive statistics, and a comparison of proportions between characteristics of SMA by pharmacy location using a two-sample Z-test, at 5% level of significance

The Universidad del Valle de Guatemala ethics committee in the Faculty of Humanities and Science (CE-FCCH) approved this study under protocol number: QFARMA-007-Abril-2014. All study participants ranging from 15-80

years old carried out written informed consent. Local research ethics committee (CE-FCCHH) regarded unaccompanied minors as sufficiently responsible and competent for completing the informed consent processes given that they were practicing SMA on their own accord, and that the study was of minimal risk.

## Results

Two hundred and thirty people arrived to the four pharmacies included in this study to self-medicate with antibiotics during the study period. Of the 230 participants completing the questionnaire, 130 were from (LSEP) and 100 were from (HSEP). Eighteen patients in the LSEP (14%) and 13 patients in the HSEP (13%) responded to the questionnaire in written format, the remainder answered by verbal response. Women accounted for 63% of respondents in the LSEP, and 47% of respondents in the HSEP ( $p = .010$ ). The mean age of the LSEP population was younger than HSEP respondents. Table 1 for the demographic results.

**Table 1.** Respondent demographics

<b>Age (in years)</b>	<b>LSEP<sup>a</sup> (n=130)</b>	<b>%</b>	<b>HSEP<sup>b</sup> (n=100)</b>	<b>%</b>	<b>p value<sup>c</sup></b>
15-30	40	31	24	24	.254
31-40	27	21	18	18	.603
41-50	33	25	27	27	.779
50 and above	30	23	31	31	.177
<b>Sex</b>					
Female	82	63	47	47	.007*
Male	48	37	53	53	.007*
<b>Marital Status</b>					
Married	73	56	44	44	.034*
Single	46	35	36	36	.460
Other	11	8	20	20	.060
<b>Education</b>					
Less than Elementary	18	14	1	1	< .001*
Elementary	14	11	4	4	.058
Middle School	13	10	5	5	.161
High school	66	51	42	42	.186
College Education	19	15	48	48	< .001*
<b>Monthly Income</b>					
\$0 - \$133.33 5	2	40	19	19	< .001*
\$134 -\$666 6	3	48	26	26	< .001*
\$667 -\$1,333 1	4	11	25	25	< .001*
\$1,333 - \$2,666 1		1	29	29	< .001*
<b>Occupation</b>					
Salaried-Employee	79	61	54	54	.152
House Wife 3	7	28	13	13	.002*
Independent-Worker	7	5	28	28	< .001*
Student	7	5	5	5	.440

<sup>a</sup> LSEP- Low Socio-Economic Setting Pharmacies

<sup>b</sup> HSEP- High Socio-Economic Setting Pharmacies

<sup>c</sup> (\*) Significant at .05 level

The two sets of pharmacy respondents differed in educational levels and monthly income. Although large proportions of the LSEP respondents and HSEP respondents had completed high school (51%, 42% respectively), only 15% of the LSEP versus 48% of the HSEP reported completion of a university level education ( $p < .001$ ). There was a marked difference between the ranges of incomes of respondents. In the LSEP pharmacy, the majority of respondents earned a monthly income ranging from \$0-133 (40%) and \$134-666 (48%). In contrast, the majority of respondents in the HSEP setting had incomes higher than \$667 (54%). Differences in income and higher education were significant. These and other demographic data can be seen in Table 1.

The majority of respondents reported self-medicating with antibiotics on previous occasions (LSEP 93%, HSEP 60%;  $p < .001$ ), while the remainder indicated it was the first time they were carrying out SMA. The majority of respondents in both pharmacies purchased antibiotics for themselves (LSEP 77%, HSEP 89%  $p = .010$ ) and in smaller proportions for their children (17% LSEP and 4% HSEP,  $p = .001$ ). Differences in whom respondents purchased medications were significant between pharmacies. Sore throat was the most reported symptom resulting in self-medication with antibiotics (LSEP 43%, HSEP 41%) and Amoxicillin was the most-commonly purchased antibiotic in both pharmacies (53% LSEP, 42% HSEP). SMA purchase of Amoxicillin was followed by Tetracycline and Ciprofloxacin in LSEP (10% and 9%, respectively). In HSEP, Amoxicillin was followed by Azithromycin and Penicillin (11% each). These characteristics of self-medication with antibiotics can be found in Table 2.



**Table 2.** Characteristics of self-medication

<b>History of SMA practice</b>	LSEP <sup>a</sup> (n=130)	%	HSEP <sup>b</sup> (n=100)	%	<i>p</i> value <sup>c</sup>
Respondents practicing SMA previously	121	93	60	60	< .001*
First time practicing SMA	9	7	40	40	< .001*
<b>For whom respondent self-medicates <sup>d</sup></b>					
Myself	101	77	89	89	.010*
Someone other than respondent (total)	31	23	11	11	< .001*
Child 2	2	17	4	4	.001*
Another family member	5	4	2	2	.209
Spouse	4	3	2	2	.305
A parent, friend or sibling	0	0	3	3	.050
<b>Symptoms resulting in self-medication <sup>d</sup></b>					
Sore throat	93	43	69	41	.330
Fever	38	18	41	24	.030*
Cough	32	15	13	8	.010*
Cold	24	11	12	7	.090
Upset stomach	13	6	8	5	.300
Other	10	5	4	2	.120
Generally unwell	3	1	10	6	< .001*
Allergy	2	1	7	4	.010*
Diarrhea	2	1	4	2	.120
<b>Antibiotic purchased, according to respondent</b>					
Amoxicillin	67	53	42	42	.075
Tetracycline	13	10	2	2	< .001*
Ciprofloxacin	11	9	10	10	.340
Sulfamethoxazole/Trimethoprim	10	8	4	4	.120
Amoxicillin+ Clavulanic acid	9	7	7	7	.490
Azithromycin	7	6	11	11	.050
Penicillin	4	3	11	11	< .001*
Levofloxacin	3	2	4	4	.220
Cefadroxil	1	1	5	5	.420
Ampicillin	1	1	2	2	.020*
Erythromycin	1	1	1	1	.200
<b>Frequency of SMA</b>					
Two times a year or more	17	13	4	4	.980
Less than two times per year	113	87	96	96	.010*

<sup>a</sup>LSEP- Low Socio-Economic Setting Pharmacies

<sup>b</sup>HSEP- High Socio-Economic Setting Pharmacies

<sup>c</sup> (\*) Significant at .05 level

<sup>d</sup> Multiple responses allowed

Respondents in LSEP reported self-medicating as frequently as those in HSEP. LSEP respondents reported self-medicating less than two times per year (87%), and two times per year or more (13%). In HSEP pharmacies, respondents reported self-medicating less than twice a year (96%), and two times per year or more (4%), Table 2.

Sources of medication-information utilized when choosing an antibiotic differed between LSEP and HSEP pharmacies. Forty four percent of LSEP and 28% of HSEP respondents used old-prescriptions as a source of information when choosing self-medicating antibiotics ( $p = .010$ ) whereas 28% of HSEP respondents received recommendations over the phone from physicians when choosing self-

medicating antibiotics, see Table 3 for detailed information. The majority of respondents in both pharmacy settings obtained antibiotics in pharmacies when self-medicating, however 8% and 2% of LSEP respondents purchase antibiotics at corner stores and left over from previous prescriptions respectively ( $p = .010$ ). We found both similarities and differences in whom respondents went to for advice to familiarize themselves with antibiotic use after purchasing antibiotics without a prescription. When self-medicating, 51% of LSEP respondents and 54% of HSEP respondents reported not asking anyone for advice. Forty five percent of LSEP and 31% of HSEP respondents asked the pharmacy technician for advice ( $p < .001$ ), Table 3 includes detailed results.

**Table 3.** Sources of information when practicing SMA.

<b>Sources of medication-information utilized when choosing antibiotic</b>	<b>LSEP<sup>a</sup> (n=130)</b>	<b>%</b>	<b>HSEP<sup>b</sup> (n=100)</b>	<b>%</b>	<b>p value<sup>c</sup></b>
A previous prescription	53	44	27	28	.010*
Family member	30	25	18	19	.170
Pharmacy dependent	18	15	12	12	.090
Friend	16	13	7	7	.340
Over the phone with MD	2	2	27	28	< .001*
Publicity	1	1	0	0	.050
Other	0	0	3	3	.020*
Licensed pharmacist	0	0	2	2	.180
Internet	0	0	1	1	.120
<b>Locations for obtaining antibiotics used for SMA<sup>d</sup></b>					
Pharmacy	129	91	100	96	.180
Corner store	12	8	2	2	.010*
Left over from previous illness	1	1	0	0	.180
Supermarket	0	0	2	2	.050
<b>Who respondents go to upon familiarizing themselves with antibiotics when purchasing medications?</b>					
No one	66	51	46	54	.230
Pharmacy technician	59	45	26	31	< .001*
Friend	5	4	4	5	.470
Family member	0	0	8	9	< .001*
Pharmacist	0	0	1	1	.120

<sup>a</sup>LSEP- Low Socio-Economic Setting Pharmacies

<sup>b</sup>HSEP- High Socio-Economic Setting Pharmacies

<sup>c</sup>(\*) Significant at .05 level

<sup>d</sup> Multiple responses allowed

The majority of respondents in both pharmacies self-reported positive health outcomes as a result of SMA, nevertheless most respondents perceived SMA to have overall negative effects. Seventy-three percent of LSEP and 68% of HSEP experienced a reported improvement in their health upon self-medicating ( $p < .001$ ), and a small portion of respondents from both pharmacies had to call or visit a doctor after

self-medicating (14% LSEP, 10 % HSEP,  $p = .010$ ). Most respondents in the LSEP and HSEP perceived self-medication as having a negative effect on their health (51%, 43% respectively) or a neutral effect on their health (24%, 29% respectively) (Table 4). Upon self-medicating 25% of LSEP and 35% of HSEP reported experiencing side effects, Table 4 for specific side effects.

**Table 4.** Perceived health outcomes and effect on one's health

<b>Patient reported health outcome after self-medicating<sup>d</sup></b>	<b>LSEP<sup>a</sup> (n=130)</b>	<b>%</b>	<b>HSEP<sup>b</sup> (n=75)</b>	<b>%</b>	<b>p value<sup>c</sup></b>
Improvement of illness	119	73	53	68	< .001*
Have to call or visit physician	23	14	8	10	.010*
Faster cure rates	9	5	10	13	.200
Slower cure rates	5	3	5	6	.330
Side effects of drugs	4	2	2	3	.300
Illness worsens	4	2	0	0	.030*
<b>How it SMA effects one's health, 1 negative effect 10 positive effect</b>					
1-4	66	51	43	43	.240
5	31	24	29	29	.180
6-9	22	17	20	20	.270
10 (positive effect)	10	8	7	7	.420
<b>Side effects of antibiotics used in SMA</b>					
No side effects reported	98	75	49	65	
Number of respondents reporting side effects	32	25	26	35	
<b>Side effects from SMA</b>					
Allergic reaction	12	9	1	1	< .001*
Upset stomach	9	7	9	12	.280
Diarrhea	4	3	3	4	.480
Headache	2	2	4	5	.120
Rash	2	2	0	0	.100
Heartburn	1	1	4	5	.040*
Vomiting	1	1	0	0	.180
Sun sensitivity	1	1	0	0	.180
Nausea	0	0	3	4	.020*
Bad taste in the mouth	0	0	1	1	.127
Insomnia	0	0	1	1	.120

<sup>a</sup>LSEP- Low Socio-Economic Setting Pharmacies

<sup>b</sup>HSEP- High Socio-Economic Setting Pharmacies

<sup>c</sup>(\*) Significant at .05 level

<sup>d</sup> Multiple responses allowed

There was little variation in the motives for carrying out SMA between LSEP and HSEP pharmacies. Twenty three percent of LSEP respondents self-medicated with antibiotics

to save money spent on doctors visits, and because medications are easily obtained from pharmacies (23%). HSEP respondents self-medicated to save time spent on doctors' visits,

because antibiotics are easily obtained in the pharmacy, and because it was convenient to self-medicate (26%, 25%, 24% respectively). In short, respondents carried out SMA to save money (LSEP) and time (HSEP) on doctors' visits, and because SMA was convenient and easy to carry out (LSEP and HSEP), differences between pharmacies were not significant (Table 5).

visits, and because SMA was convenient and easy to carry out (LSEP and HSEP), differences between pharmacies were not significant (Table 5).

**Table 5.** Patient reported motives for self-medicating with antibiotics

<b>Patient reported reasons associated to self - medicating<sup>d</sup></b>	<b>LSEP<sup>a</sup> (n=130)</b>	<b>%</b>	<b>HSEP<sup>b</sup> (n=75)</b>	<b>%</b>	<b>p value<sup>c</sup></b>
Easy to obtain medication in the pharmacy	42	23	33	25	.450
Save money from doctors visit	41	23	16	12	< .001*
Save time on doctors' visit	34	19	34	26	.090
Convenient (ease of curing perceived symptoms)	25	14	31	24	.010*
Symptoms of illness are not severe	15	8	6	5	.070
Previous knowledge regarding antibiotic use	10	6	7	5	.420
Don't like going to the doctor	10	6	3	2	.060
Distance to the clinic	4	2	1	1	.140
Other	0	0	0	0	< .001*

<sup>a</sup>LSEP- Low Socio-Economic Setting Pharmacies

<sup>b</sup>HSEP- High Socio-Economic Setting Pharmacies

<sup>c</sup>(\*) Significant at .05 level

<sup>d</sup> Multiple responses allowed

## Discussion

The majority of the respondents reported practicing SMA recurrently, but this proportion was greater in LSEP pharmacies as compared to HSEP pharmacies. One previous study in Guatemala found that disparate socio-economic groups self-medicate in similar proportions (Ramay et al., 2015) and is not the case with the four pharmacies in this study. Differences in socio-economic characteristics have been cited as a determinant for self-medication practices (Ocan et al., 2015) although there is mixed data regarding its effect. In addition to

socio-economic status, gender has also been cited as a determinant for self-medication in previous studies (Ocan et al., 2015), wherein more women markedly carried out self-medication with antibiotics (Eticha & Mesfin, 2014; Ramay et al., 2015). In our study gender was significantly different between LSEP and HSEP pharmacies. More women than men completed the SMA survey in LSEPs, and more men than women in the HSEPs.

Socio-economic status and gender of self-medicating respondents may be influenced by pharmacy-questionnaire location and hours

during which questionnaire is administered. Pharmacies participating in the current study were centrally located, near urban centers frequented by working class citizens and questionnaire was administered during normal work hours (8 am–4 pm). These characteristics emphasize the nature by which socio-economic and demographics related to gender may vary according to pharmacy location and pharmacy hours even within the same country. Differences in socio-economic status and gender in SMA practice need to be taken into account when designing interventions aimed at influencing the dispensing practice of antibiotics.

Sources of medication-information sought by respondents differed between pharmacy respondents according to socio-demographic characteristics. In the LSEP setting, a significantly higher proportion of patients reported using old-prescriptions in order to self-medicate with antibiotics, an uncommon resource used in comparison to other similar studies (Eticha & Mesfin, 2014; Gupta, Bobhate, & Shrivastava, 2011; Ocan et al., 2014; Pan, Cui, Zhang, Farrar, Law, & Ba-Thein, 2012), but similar to previous reports in Chile (Fuentes Albarrán & Villa Zapata, 2008). Using old prescriptions to self-medicate in this setting is understandable given that respondents report not have time or money to visit a physician.

A significantly higher proportion of LSEP respondents seek advice from pharmacy staff upon self-medicating with antibiotics a characteristic of self-medication that presents an opportunity for guiding the rational use of antibiotics in the pharmacy setting. In uncomplicated infectious disease situations, licensed pharmacists have been shown to facilitate antibiotic dispensing in collaboration with physicians, reducing prescribing and

dispensing of antibiotic products (Roque, Soares, Breitenfeld, Figueiras, & Herdeiro, 2015), a system that models improvements in access to medication while preserving antibiotic potency (Daulaire, Bang, Tomson, Kalyango, & Cars, 2015). Nevertheless, pharmacists are not required to be present when dispensing medications in the pharmacy in Guatemala, presenting a barrier to this type of service in this LMIC context. According to our results, respondents seek advice from pharmacy personnel who may facilitate access to antibiotics, nevertheless several important steps must to be taken in order to improve policy regarding the role of the pharmacist in the retail pharmacy setting. If pharmacy personnel are to steward antibiotic use in private pharmacies, necessary advances in regulations must be made for antibiotic purchase and dispensing.

Respondents in LSEP pharmacies used old prescriptions to guide SMA whereas in HSEP pharmacies, respondents' contacted physicians by phone guiding SMA practice. Although it has not been systematically documented, telephone advice in the private health care sector in Guatemala seems to be common for patients in the private sector. In these cases, doctors in Guatemala make over-the-phone recommendations indicating which antibiotic should be taken without examining the patient and without writing a formal prescription. Phone prescriptions for antibiotics have been cited in other countries, for example in Scotland, where patients presenting self-diagnosed symptoms and treatments were more likely to be prescribed medications they requested over the phone than during face-to-face consultations (Hewitt, Gafaranga, & McKinstry, 2010). In one Danish study, one of every five telephone consultations resulted in prescribing medication, antibiotics being the most frequent medication recommended

by physicians (Moth, Huibers, Christensen, & Vedsted, 2014).

Telephone consultations facilitate overcoming barriers to seeking medical treatment, but represent an informal practice that may result in increased antibiotic prescribing, use, and resistance. In addition to overuse and resistance of antibiotics, the dangers of informal prescribing may lead to the wrong medication, dose or duration of therapy. Nevertheless, absence of pharmacy regulations facilitates telephone-prescription SMA and is opportune given difficulties in access to health care. Antibiotic dispensing practices are multifaceted, and the result of various interworking health professionals who are often unaware of their actions contributing to the resistance and the ineffectiveness of antimicrobial medications in Guatemala.

Respondents perceived a negative or neutral effect of SMA on their health, a characteristic generalizable across all pharmacies involved in this study. Additionally, a large proportion of respondents, in all pharmacies, suffered side effects as a result of self-medication in this study, a concern posed in previous studies (Bennadi, 2014) but not consistently demonstrated in all countries. Two studies carried out in Latin American populations reported similar risks including side effects due to SMA, inadequate dose or antimicrobial drugs (Bojalil & Calva, 1994), and allergic reactions (Horton & Stewart, 2012). In China, 55.2% of all adverse reactions reported from medications were due to antibiotics (Pan et al., 2012). Nevertheless, in one review of LMICs where SMA was highly prevalent in all countries, adverse effects were rarely reported as a result of its practice (Ocan et al., 2015). In a separate study regarding side effects and Emergency Room admissions in France, only

1% of admissions were due to adverse reactions from self-medication (Asseray et al., 2013). Our results show a relatively high proportion of side effects resulting from SMA. However, the health care system implications regarding severity and cost of these adverse effects are unclear.

Our results show that some respondents needed to seek medical advice (via telephone or medical visit) after SMA implying increased costs and time in medical visits as well as overuse of antimicrobial agents. But these results do not prove causality or indicate cost in the risks associated to SMA.

Motives for SMA differed between LSEP and HSEP pharmacies but were centered on the cost of medical visits. In LSEP respondents self-medicated to save money spent on doctors visits and in HSEP respondents self-medicated to save time on doctors visits. Additionally, improved access to antibiotics was similarly noted as a driver of SMA across pharmacies. Similar characteristics have been reported in other LMICs, including Guatemala (Ahmad, Patel, Mohanta, & Balkrishnan, 2014; Eticha, & Mesfin, 2014; Ramay et al., 2015) and resulted in inadequate antibiotic consumption (Ocan et al., 2014; Skliros et al., 2010). SMA also predicts an increase in antibiotic resistance in LMICs including countries within Latin America (Alsan, Schoemaker, Eggleston, Kammili, Kolli, & Bhattacharya, 2015). SMA is a strategy used by patients in order to easily obtain medications, but its practice results in financial gain of private pharmacies in Guatemala, and poses a threat toward antibiotic resistance. Our results emphasize the importance of antimicrobial stewardship programs in the pharmacy setting in Guatemala. Pharmacy personnel are the gatekeepers of antimicrobial agents, but pharmacies currently

lack infrastructure and support from qualified personnel to take on the responsibility to oversee medication dispensing practices in Guatemala. Additionally, current guidelines for antibiotic stewardship programs are geared for high income developed countries (*Lancet* [Editorial], 2015) and these programs should consider different approaches for LMIC settings where socio-cultural SMA practice vary from country to country.

Guatemala would benefit from national and regional support in developing regulations regarding the rational use and dispensing of medications in the pharmacy so that incentives in antibiotic dispensing shift from financial interests to antimicrobial preservation. Solutions to this global problem must be innovative and use the evidence based information (Fitchett, 2015) provided by this and other studies, in order to preserve antimicrobial effectiveness (Aryee & Price, 2015).

Limitations of this study include those known for cross-sectional studies. Although the four pharmacies included in the study offer a contrast in terms of the socioeconomic characteristics of their clients, these pharmacies are not representative of all pharmacies in Guatemala. Selection of the four pharmacies was determined by access given by their owners.

Our findings contribute to the general understanding surrounding informal antibiotic use in Guatemala and may serve as the basis for understanding regulations regarding the rational use of antibiotics in these particular settings. Nonetheless, there is much that needs to be identified and researched regarding informal pharmacy practice in Guatemala.

## Acknowledgments

We would like to acknowledge the Department of Anthropology, University of Denver for logistical support in initial study design and development of the manuscript, Dr. Elfego Rolando Lopez from the University of the Valley of Guatemala for revising initial versions of the methodology and Rochelle Ramay edited final versions of the manuscript.

## References

- Ahmad, A., Patel, I., Mohanta, G., & Balkrishnan, R. (2014). Evaluation of self medication practices in rural area of town Sahaswan at Northern India. *Annals of Medical and Health Sciences Research*, 4(8), 73. doi:10.4103/2141-9248.138012
- Alsan, M., Schoemaker, L., Eggleston, K., Kammili, N., Kolli, P., & Bhattacharya, J. (2015). Out-of-pocket health expenditures and antimicrobial resistance in low-income and middle-income countries: an economic analysis. *Lancet Infectious Diseases*, 15(10), 1203-1210. doi:10.1016/S1473-3099(15)00149-8
- Aryee, A., & Price, N. (2015). Antimicrobial stewardship - can we afford to do without it?: Antimicrobial stewardship - can we afford to do without it? *British Journal of Clinical Pharmacology*, 79(2), 173-181. doi:10.1111/bcp.12417
- Asseray, N., Ballereau, F., Trombert-Paviot, B., Bouget, J., Foucher, N., Renaud, B., ... Queneau, P. (2013). Frequency and severity of adverse drug reactions due to self-medication: A Cross-Sectional Multicentre Survey in Emergency



- Departments. *Drug Safety*, 36(12), 1159–1168. doi:10.1007/s40264-013-0114-y
- Bennadi, D. (2014). Self-medication: A current challenge. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 5(1), 19. doi:10.4103/0976-0105.128253
- Bennish, M. L., & Khan, W. A. (2010). What the future holds for resistance in developing countries. In A. de J. Sosa, D. K. Byarugaba, C. F. Amábile-Cuevas, P.-R. Hsueh, S. Kariuki, & I. N. Okeke (Eds.), *Antimicrobial Resistance in Developing Countries* (pp. 37–57). New York, NY: Springer New York. Retrieved from [http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-89370-9\\_4](http://link.springer.com/10.1007/978-0-387-89370-9_4)
- Bloom, G., Wilkinson, A., Tomson, G., Awor, P., Zhang, X., Masu Ahmed, S., ... Blessing, V. (2015). *Addressing Resistance To Antibiotics In Pluralistic Health Systems*. STEPS Centre, Institute of Development Studies and Science Policy Research Unit, University of Sussex. Retrieved from <http://steps-centre.org/wp-content/uploads/AMR.pdf>
- Bojalil, R., & Calva, J. J. (1994). Antibiotic misuse in diarrhea. A household survey in a Mexican community. *Journal of Clinical Epidemiology*, 47(2), 147–156.
- Chioro, A., Coll-Seck, A. M., Høie, B., Moeloek, N., Motsoaledi, A., Rajatanavin, R., & Touraine, M. (2015). Antimicrobial resistance: a priority for global health action. *Bulletin of the World Health Organization*, 93(7), 439–439. doi:10.2471/BLT.15.158998
- Daulaire, N., Bang, A., Tomson, G., Kalyango, J., & Cars, O. (2015). Universal access to effective antibiotics is essential for tackling antibiotic resistance. *Journal of Law Medicine & Ethics*, 43(S3), 17–21.
- Eticha, T., & Mesfin, K. (2014). Self-medication practices in Mekelle, Ethiopia. *PLoS ONE*, 9(5), e97464. doi:10.1371/journal.pone.0097464
- Fitchett, J. R. (2015). Antibiotics, copayments, and antimicrobial resistance: investment matters. *Lancet Infectious Diseases*, 15(10), 1125–1127. doi:10.1016/S1473-3099(15)00057-2
- Fuentes Albarrán K. (2006). Análisis y cuantificación de los patrones de automedicación en usuarios de farmacias Salcobrand de Valdivia. (*Undergraduate Thesis*). Universidad Austral de Chile, Valdivia.
- Fuentes Albarrán K, & Villa Zapata L. (2008). Analysis and quantification of self-medication patterns of customers in community pharmacies in southern Chile. *Pharmacy World Science*, 6(30), 863–868. doi:10.1007/s11096-008-9241-4
- Gupta, P., Bobhate, P. S., & Shrivastava, S. R. (2011). Determinants of Self Medication Practices in an Urban Slum Community. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 4(3) 54-57.
- Hartman, I., Dos Santos, L., Horna, M. E., & Morales, S. D. (2015). Percepcion de la gravedad del cuadro clinico como determinante de automedicacion entre estudiantes universitarios. *Revista*

- Chilena de Salud Pública*, 19(1), 30–36.
- Hewitt, H., Gafaranga, J., & McKinstry, B. (2010). Comparison of face-to-face and telephone consultations in primary care: qualitative analysis. *British Journal of General Practice*, 60(574), 201–212. doi:10.3399/bjgp10X501831
- Horton, S., & Stewart, A. (2012). Reasons for self-medication and perceptions of risk among Mexican migrant farm workers. *Journal of Immigrant and Minority Health*, 14(4), 664–672. doi:10.1007/s10903-011-9562-6
- Ilić, K., Jakovljević, E., & Škodrić-Trifunović, V. (2012). Social-economic factors and irrational antibiotic use as reasons for antibiotic resistance of bacteria causing common childhood infections in primary healthcare. *European Journal of Pediatrics*, 171(5), 767–777. doi:10.1007/s00431-011-1592-5
- Lancet [Editorial]. (2015). NICE antimicrobial stewardship: right drug, dose, and time? *Lancet* [Editorial], 386(9995), 717. doi:10.1016/S0140-6736(15)61522-7
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (2013). Lista básica de medicamentos, Guatemala: Autor.
- Morgan, D. J., Okeke, I. N., Laxminarayan, R., Perencevich, E. N., & Weisenberg, S. (2011). Non-prescription antimicrobial use worldwide: A systematic review. *Lancet Infectious Diseases*, 11(9), 692–701. doi:10.1016/S1473-3099(11)70054-8
- Moth, G., Huibers, L., Christensen, M., & Vedsted, P. (2014). Drug prescription by telephone consultation in Danish out-of-hours primary care: a population-based study of frequency and associations with clinical severity and diagnosis. *BMC Family Practice*, 15(1), 142. doi:10.1186/1471-2296-15-142
- Ocan, M., Bwanga, F., Bbosa, G. S., Bagenda, D., Waako, P., Ogwal-Okeng, J., & Obua, C. (2014). Patterns and predictors of self-medication in Northern Uganda. *PLoS ONE*, 9(3), e92323. doi:10.1371/journal.pone.0092323
- Ocan, M., Obuku, E. A., Bwanga, F., Akena, D., Richard, S., Ogwal-Okeng, J., & Obua, C. (2015). Household antimicrobial self-medication: a systematic review and meta-analysis of the burden, risk factors and outcomes in developing countries. *BMC Public Health*, 15(1), 1. doi:10.1186/s12889-015-2109-3
- Pan, H., Cui, B., Zhang, D., Farrar, J., Law, F., & Ba-Thein, W. (2012). Prior knowledge, older age, and higher allowance are risk factors for self-medication with antibiotics among university students in Southern China. *PLoS ONE*, 7(7), e41314. doi:10.1371/journal.pone.0041314
- Ramay, B. M., Lambour, P., & Cerón, A. (2015). Comparing antibiotic self-medication in two socio-economic groups in Guatemala City: a descriptive cross-sectional study. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 16(1), 1. doi:10.1186/s40360-015-0011-3
- Roca, I., Akova, M., Baquero, F., Carlet, J., Cavaleri, M., Coenen, S., ... Vila, J. (2015). The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New Microbes and New Infections*, 6, 22–29. doi:10.1016/j.nmni.2015.02.007

- Roque, F., Soares, S., Breitenfeld, L., Figueiras, A., & Herdeiro, M. T. (2015). Influence of community pharmacists' attitudes on antibiotic dispensing behavior: A cross-sectional study in Portugal. *Clinical Therapeutics*, 37(1), 168–177. doi:10.1016/j.clinthera.2014.11.006
- Santa-Ana-Tellez, Y., Mantel-Teeuwisse, A. K., Dreser, A., Leufkens, H. G. M., & Wirtz, V. J. (2013). Impact of over-the-counter restrictions on antibiotic consumption in Brazil and Mexico. *PLoS ONE*, 8(10), e75550. doi:10.1371/journal.pone.0075550
- Skliros, E., Merkouris, P., Papazafiropoulou, A., Gikas, A., Matzouranis, G., Papafragos, C., ... Sotiropoulos, A. (2010). Self-medication with antibiotics in rural population in Greece: a cross-sectional multicenter study. *BMC Family Practice*, 11(1), 58. doi:10.1186/1471-2296-11-58
- Tobon Marulanda, F. A. (2002). Estudio sobre la automedicación en la Universidad de Antioquia, Medellín Colombia. *Iatreia*, 15(4), 242–247.
- Wirtz, V. J., Dreser, A., & Gonzales, R. (2010). Trends in antibiotic utilization in eight Latin American countries, 1997-2007. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 27(3), 219-225. doi:10.1590/S1020-49892010000300009
- Wirtz, V. J., Herrera-Patino, J. J., Santa-Ana-Tellez, Y., Dreser, A., Elseviers, M., & Vander Stichele, R. H. (2013). Analysing policy interventions to prohibit over-the-counter antibiotic sales in four Latin American countries. *Tropical Medicine & International Health*, 18(6), 665–673. doi:10.1111/tmi.12096
- World Health Organization, Drug Utilization Research Group, Latin America. (1996). Multicenter study on self-medication and self-prescription in six Latin American Countries. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 61(6), 488-493.
- World Health Organization. (2014). *Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance*. Geneva, Switzerland: World Health Press. Retrieved from [http://apps.who.int/iris/stream/10665/112642/1/9789241564748\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/stream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1)
- World Health Organization. (2015). Antimicrobial resistance, draft global action plan on antimicrobial resistance: *Sixty-Eight World Health Assembly, Provisional agenda item 15.1*. Geneva: Author. Retrieved from [apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA68/A68\\_20-en.pdf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA68/A68_20-en.pdf)

## Actividad larvicida de aceites esenciales de *Lippia alba* y *Lippia graveolens*, contra *Aedes aegypti* L.

### Larvicidal activity of essential oils of *Lippia alba* and *Lippia graveolens*, on *Aedes aegypti* L.

Francisco Aldana<sup>1</sup>, Sully Cruz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Maestría Multidisciplinaria en Producción y Uso de Plantas Medicinales, Universidad de San Carlos de Guatemala.

<sup>2</sup>Departamento de Farmacognosia y Fitoquímica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

aldanacerna@hotmail.com

Recibido: agosto, 2016 • Aceptado: enero, 2017

#### Resumen

*Aedes aegypti* L. (Díptera: Culicidae), es vector de los virus que provocan las enfermedades febriles Dengue, Chikungunya y Zika, que afectan a gran parte de la población en los países tropicales, por lo que la búsqueda de nuevos plaguicidas naturales constituye un recurso importante para combatir a este mosquito. En el presente estudio se evaluaron cinco aceites esenciales obtenidos de tres quimiotipos de *Lippia graveolens* Kunth. (timol, carvacrol y mixto) y dos de *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson (citral y carvona), como alternativa para disminuir el impacto ambiental, del uso de insecticidas químicos para el control de las larvas del mosquito. Se realizaron bioensayos para cada uno de los cuatro estadios larvarios, en un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones, empleando cuatro concentraciones de los aceites esenciales (0.4, 0.2, 0.1 y 0.05 mg/mL); la lectura de mortalidad se hizo a las 24 h de exposición y se determinó la concentración letal media (CL<sub>50</sub>). En los cuatro estadios larvarios, el aceite esencial obtenido del quimiotipo timol de *L. graveolens*, mostró las CL<sub>50</sub> más bajas con las mayores mortalidades: primer estadio, 0.056 mg/mL 95% IC [0.046, 0.064]; segundo estadio 0.068 mg/mL 95% IC [0.062, 0.077]; tercer estadio, 0.088 mg/mL 95% IC [0.080, 0.096]; cuarto estadio, 0.092 mg/mL 95% IC [0.084, 0.100]. Estos resultados sugieren el potencial uso del aceite esencial quimiotipo timol, como un insecticida de origen natural, para el control de *A. aegypti*.

Palabras clave: Insecticida natural, quimiotipos, timol, Dengue, Zika.

## Abstract

*Aedes aegypti* L. (Díptera: Culicidae), is a vector of the viruses that cause febrile illnesses such as Dengue, Chikungunya and Zika, which affect in large extent the population of tropical countries, thus, the search of pesticides of natural origin is an important resource to combat this mosquito. In this study five essential oils, obtained from three chemotypes of *Lippia graveolens* Kunth. (thymol, carvacrol and mixed) and two of *Lippia alba* (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P. Wilson (citrinal and carvone), were evaluated as an alternative to chemical pesticides to reduce the environmental impact, in order to control the insect larvae. Bioassays were performed randomly for each of the four instars in an experimental design with four replications, using four concentrations of the essential oils (0.4, 0.2, 0.1 and 0.05 mg / mL); the mortality reading was recorded after 24 hours of exposure and the median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) was determined. In all larval stages, the essential oil obtained from *L. graveolens* thymol chemotype showed the lowest LC<sub>50</sub> with the highest mortality rate: first instar, 0.056 mg/mL 95 % CI ([0.046, 0.064]); second instar, 0.068 mg/mL 95 % CI [0.062, 0.077]; third instar, 0.088 mg/mL 95 % CI [0.080, 0.096]; fourth instar, 0.092 mg/mL 95 % CI [0.084, 0.100]. These results suggest the potential use of the essential oil thymol chemotype, as an insecticide of natural origin, to control *A. aegypti*.

Keywords: natural insecticide, chemotypes, thymol, Dengue, Zika.

## Introducción

En Guatemala en 2009 se reportó una epidemia de dengue con 10,438 casos; 71% se presentaron en el norte y zonas costeras, aumentando la ocurrencia de dengue hemorrágico de 12 en 2006 a 417 para ese año (Pan American Health Organization [PAOH], 2012). *Aedes aegypti* L. es vector en Guatemala de la enfermedad viral del dengue (Villatoro, 2006), alcanzando su máximo en la temporada de lluvias por la picadura de hembras infectadas (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala [MSPAS], 2007). *A. aegypti* es transmisor de la fiebre chikungunya, causada por arbovirus (Angelini et al., 2007; Pialoux, Gaüzère, Jauréguiberry, & Strobel, 2007); también es vector del virus del zika, reportado en Guatemala hasta finales del 2015, contabilizándose 112 casos para la tercera semana epidemiológica, del 17 al 23 de enero del 2016 (MSPAS, 2016). Nelson (1986), expresa que las larvas de *Aedes* pasan por cuatro estadios, creciendo durante las tres mudas de 1 hasta 7 mm (Marquetti, 2008);

por ello, la larva es un estado oportuno para su control, al carecer de su capacidad como transmisor y su desplazamiento aéreo.

Aceites esenciales obtenidos de especies aromáticas tales como *Piper auritum* Kunth., *Piper aduncum* L., Pimenta racemosa (P. Miller) J. W. Moore y *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants (referida como *Chenopodium ambrosioides* L.), han demostrado efecto larvicida contra *Aedes aegypti* (Leyva et al., 2009). También se estudió la actividad insecticida y repelente del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. Ex Britton & P. Wilson, quimiotipo carvona-limoneno sobre adultos de *Tribolium castaneum* Herbst., en granos de trigo (*Triticum aestivum* L.). La repelencia a las 2 y 24 h y a los 7, 14 y 21 días a concentración de 0.052 µL/mL de aire utilizando un olfatómetro, mostró diferencia significativa sobre el control. El efecto insecticida producido por

la pulverización e impregnación de papel con el aceite esencial a concentraciones de 0.131, 0.263 y 0.526  $\mu\text{L}/\text{mL}$  de aire, fue evaluado haciendo conteos de mortalidad a las 24 h y a los siete días, encontrándose diferencias significativas a las 24 h a favor del método de pulverización, (Ringuelet et al., 2014).

Alvarado (2011), estudió el efecto insecticida sobre *Anopheles aegypti* y *Anopheles albimanus* C. R. G. Wiedemann, de los aceites esenciales de *Lippia dulcis* Trev., *L. graveolens* Kunth y *L. alba* en concentraciones de 0.1 mg/mL, 0.05 mg/mL y 0.025 mg/mL. De ellos, solo *L. graveolens* produjo respuesta letal para el primero y segundo estadio larvario de *A. aegypti* en concentraciones de 0.1 mg/mL; en tanto que para *A. albimanus*, la concentración de 0.1 mg/mL produjo algún efecto letal en los cuatro estadios larvarios y la de 0.05 mg/mL solo tuvo algún efecto para el primero y segundo estadios. Este estudio no evaluó los aceites obtenidos a nivel de los quimiotipos de ambas especies.

Mediante estudios previos se han caracterizado en Guatemala quimiotipos de distintas especies de *Lippia*. Para *L. alba*, Fischer y otros (2004), identificaron dos quimiotipos: mircenona (con olor a moho) y citral (con olor a limón). Para esta misma especie, Mérida (2012) estudió la composición de los aceites esenciales de dos morfotipos, los cuales forman parte de la colección del Centro Experimental Docente (CEDA) de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala (FAUSAC), detectando igual número de quimiotipos: citral, que corresponde al morfotipo hojas lanceoladas, y carvona, representado por el morfotipo hojas redondas. Para *L. graveolens*, los estudios realizados por Fischer, Franz, López y Pöll (1997), citados por Pérez, Mérida, Farfán y Ribeiro (2012), sobre variabilidad en la composición del

aceite esencial de cinco poblaciones de las regiones áridas y suelo rocoso de Guatemala, se establecieron los siguientes quimiotipos: timol en la localidad de Casas de Pinto del departamento de Zacapa con 71%; carvacrol en la localidad de El Carrizal, municipio de San Jacinto del departamento de Chiquimula, con 51.8 % y mixto en la localidad de El Subinal, municipio de Guastatoya, departamento de El Progreso. Senatore y Rigano (2001), extrajeron por hidrodestilación los aceites esenciales de *L. alba* y *L. graveolens* de plantas silvestres de Guatemala, con un rendimiento de 0.22% y 0.26% volumen/peso en base seca respectivamente. La composición de los aceites esenciales analizada por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-MS) para *L. alba* se caracterizó por su alto contenido de limoneno (43.6%) y piperitona (30.6%), en tanto que para *L. graveolens*, consistió principalmente en timol (30.6%) y sesquiterpenos, de los cuales, los mayoritarios fueron cariofileno (4.6%) y óxido de cariofileno (4.8%). En un estudio conducido por Salgueiro, Cavaleiro, Gonçalves y Cunha (2003), se evaluó la composición química del aceite esencial de dos muestras de *L. graveolens* de Guatemala, obtenidos por hidrodestilación y analizados por CG-MS. Los rendimientos de aceite esencial variaron del 3 al 3.5%; los principales constituyentes para cada una son: la primera con 0.2% de carvacrol, 18.1% de timol y 6.8% *p*-cimeno; la segunda con 44.8% de carvacrol, 7.4% de timol y 21.8% de *p*-cimeno.

En una revisión realizada por Linde, Colauto, Albertó y Gazim (2016), que recopila información de los principales quimiotipos de *L. alba* encontrados por diferentes autores en Sudamérica, se citan; para Brasil: citral–mircenona, citral–limoneno y carvona–limoneno (Atti-Serafini et al., 2002), citral, geraniol, trans- $\beta$ -cariofileno, carvona, limoneno y biciclosesquifelandreno (López, Stashenko, &

Fuentes, 2011); para Colombia: citral y carvona (Mesa-Arango, Montiel-Ramos, Zapata, Durán, Betancur-Galvis, & Stashenko, 2009). carvona y limoneno (Stashenko, Jaramillo, & Martínez, 2003); y para Uruguay: linalol (Lorenzo, Paz, Davies, Vila, Cañigüeral, & Dellacassa, 2001).

Según lo indica Ciccio y Ocampo (2006), en los estudios realizados por ellos en Costa Rica (1998), en Guatemala por Fischer y otros (2004) y en la provincia de Corrientes, Argentina por Richiardi y otros (1999), se encontró en común, un quimiotipo que contiene mircenona (37.8 – 58.2%) y (Z)-ocimenona (11.1 – 16.3%); además, establecen que carvona (62.44 – 67.55%) y limoneno (20.77 – 24.95%) son los constituyentes mayoritarios en las muestras analizadas en 2006 en Costa Rica.

Para *L. graveolens* nativas de la península de Yucatán en México, Tezara, Herrera, Coronel, Urich, y Calvo-Irabién, (2003), refieren los quimiotipos timol, carvacrol y sesquiterpenoide, indicando que los dos primeros prevalecen en las zonas secas, en tanto que el tercero es propio de las zonas húmedas.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad larvicida de los aceites esenciales obtenidos de dos quimiotipos de *L. alba* y de tres de *L. graveolens* sobre los cuatro estadios larvarios de *Aedes aegypti* estableciendo su CL50, para que la información pueda ser considerada en los programas de control del vector.

## Materiales y métodos

Obtención de material vegetal y larvas de *Aedes aegypti*.

Los dos quimiotipos de *L. alba* evaluados (citral

y carvona), corresponden a los estudiados por Mérida (2012) y se obtuvieron de la colección de plantas medicinales del CEDA-FAUSAC. Los tres quimiotipos de *L. graveolens* (timol, carvacrol y mixto), se colectaron en los sitios de crecimiento silvestre en los departamentos de El Progreso, Zacapa y Chiquimula, en las localidades indicadas por Pérez, Mérida, Farfán, y Ribeiro (2012); la cosecha del follaje de ambas especies, se realizó en el mes de septiembre del 2015 y fue secado a la sombra durante 20 días. Las larvas de *A. aegypti*, de la cepa Sanarate-Escuintla, fueron proveídas por el Laboratorio del Programa Nacional de Enfermedades Transmitidas por Vectores del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala.

Extracción de los aceites esenciales por hidrodestilación

La extracción se realizó en el laboratorio del departamento de Farmacognosia y Fitoquímica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Se determinó el contenido de humedad de las muestras con el cual se corrigió el peso del material requerido en cada corrida en base al 10% de contenido hídrico, teniendo todas la misma cantidad de materia seca. Para cada extracción, la cantidad equivalente a 50 g de material vegetal molido y tamizado fue introducida a un balón de un litro de capacidad, al que se agregó agua destilada a manera de cubrir la muestra y se acopló al aparato Neo-Clevenger. (Alvarado, 2011). Se mantuvo el balón en calentamiento a temperatura constante durante 3 h. Al terminar el procedimiento de extracción, se colectaron las muestras en viales previamente tarados y rotulados, estableciéndose el peso del aceite obtenido en cada corrida. Los viales se protegieron de la luz y se almacenaron en el refrigerador

hasta su uso. Para cada quimiotipo se corrió la extracción por triplicado y se determinó el rendimiento promedio.

#### Conducción de los bioensayos y descripción de los tratamientos

Se realizaron los bioensayos con cada uno de los cuatro estadios larvarios de *A. aegypti*, empleando cuatro concentraciones de cada quimiotipo de aceite esencial. Se preparó para cada uno la solución madre a concentración de 1 mg de aceite esencial por mL de agua reposada por 48 hr para eliminar el cloro residual, conteniendo 0.1% de dimetilsulfóxido como agente emulsificante. La solución madre se sonificó para optimizar la solubilidad y a partir de ella se prepararon concentraciones de 0.05, 0.10, 0.20 y 0.40 mg/mL. En cada pozo de una microplaca se colocaron 10 larvas del estadio larvario correspondiente, en 100 µL del agua de su medio de crianza, en donde posteriormente se agregaron 100 µL de la dilución del aceite a evaluar. El estudio incluyó un control negativo con agua conteniendo 0.1 % de dimetilsulfóxido; la lectura de mortalidad se realizó a las 24 h de iniciado el tratamiento (Alvarado, 2011).

#### Análisis de la información de los bioensayos

Se utilizó el programa StatPlus 5.8.4.0 de descarga libre para hacer el análisis probit, con el que se obtuvieron las  $CL_{50}$  y  $CL_{95}$  con un intervalo de confianza del 95%.

### Resultados

#### Sitios de colecta de follaje de quimiotipos de *Lippia*

El follaje de *L. alba*, se obtuvo de la colección de plantas medicinales de la FAUSAC, en el campus de la zona 12 de la ciudad de Guatemala. Para la obtención del follaje de *L. graveolens*, se acudió a campos de cultivo y a orilla de cercos en donde crece de manera espontánea en los departamentos de Chiquimula, Zacapa y El Progreso. Los especímenes de *L. graveolens* Kunth y *L. alba* (Mill.) N. E. Browne ex Britton; Familia LAMIACEAE, fueron depositados en el Herbario de la Escuela de Biología BIGU con los números de voucher 73,149, 73,145, 73,146, 73,147, 73,148 respectivamente. Se muestran los datos de colecta en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Datos de colecta de follaje de *Lippia graveolens* y *Lippia alba*

Sitios de recolección	Especie y quimiotipo	Coordenadas		Altitud msnm
		Latitud	Longitud	
El Carrizal, San Jacinto, Chiquimula	<i>L.graveolens</i> carvacrol	14° 39' 18.09" N	89° 29' 50.60" O	83
Casas de Pinto, Río Hondo, Zacapa	<i>L.graveolens</i> timol	15° 01' 34.00" N	89° 36' 51.10" O	205
El Subinal, Guastatoya, El Progreso	<i>L.graveolens</i> mixto	14° 51' 21.00" N	90° 08' 01.00" O	520
*CEDA, Zona 12, Ciudad de Guatemala.	<i>L. alba</i> citral	14° 35' 11" N	90° 55' 58" O	1502
*CEDA, Zona 12, Ciudad de Guatemala.	<i>L. alba</i> carvona	14° 35' 11" N	90° 55' 58" O	1502

\*CEDA corresponde al acrónimo del Centro Experimental Docente de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala.



Porcentaje de rendimiento de aceites esenciales

La Tabla 2 contiene los resultados de la extracción de los cinco materiales empleados

en el presente estudio. Se puede apreciar que *L. graveolens* presenta mayor contenido de aceite y entre sus quimiotipos, el carvacrol, el de rendimiento superior.

**Tabla 2.** Porcentaje de rendimiento de aceite esencial

Especie	Quimiotipo (morfotipo u origen)	Rendimiento en %	Desviación típica
<i>L. alba</i>	citral (hojas lanceoladas)	0.87	0.02
<i>L. alba</i>	carvona (hojas redondas)	1.05	0.04
<i>L. graveolens</i>	carvacrol (San Jacinto)	4.15	0.13
<i>L. graveolens</i>	timol (Casas de Pinto)	3.99	0.09
<i>L. graveolens</i>	mixto (El Subinal)	1.23	0.07

Mortalidad observada a las 24 h

En los bioensayos realizados, el tratamiento testigo no reportó mortalidad, por lo cual no fue necesario incluirlo en el análisis. El

resumen de los datos de mortalidad procesados por el programa StatPlus 5.8.4.0 para los cinco quimiotipos de aceite se presenta en las Tablas 3 y 4.

**Tabla 3.** Resumen del análisis Probit para el primer y segundo estadios larvarios de *A. aegypti*

Estadio larvario	Primer estadio larvario				Segundo estadio larvario				
	Concentración →	CL <sub>50</sub> mg/mL	95% IC	CL <sub>95</sub> mg/mL	95% IC	CL <sub>50</sub> mg/mL	95% IC	CL <sub>95</sub> mg/mL	95% IC
Quimiotipo ↓									
Timol	0.056	[0.046, 0.064]	0.093	[0.081, 0.119]	0.068	[0.062, 0.077]	0.095	[0.085, 0.111]	
Carvacrol	0.061	[0.046, 0.071]	0.117	[0.099, 0.155]	0.098	[0.088, 0.112]	0.146	[0.127, 0.191]	
Mixto	0.100	[0.091, 0.114]	0.142	[0.124, 0.187]	0.164	[0.148, 0.181]	0.241	[0.217, 0.279]	
Citral	0.084	[0.076, 0.091]	0.112	[0.104, 0.127]	0.106	[0.088, 0.125]	0.219	[0.187, 0.277]	
Carvona	0.087	[0.079, 0.095]	0.118	[0.109, 0.136]	0.148	[0.107, 0.187]	0.437	[0.360, 0.583]	

IC= Intervalo de confianza

**Tabla 4.** Resumen del análisis Probit para el tercer y cuarto estadios larvarios de *A. aegypti*

Estadio larvario	Tercer estadio larvario				Cuarto estadio larvario				
	Concentración →	CL <sub>50</sub> mg/mL	95 % IC	CL <sub>95</sub> mg/mL	95 % IC	CL <sub>50</sub> mg/mL	95 % IC	CL <sub>95</sub> mg/mL	95 % IC
Quimiotipo ↓									
Timol	0.088	[0.080, 0.096]	0.120	[0.110, 0.140]	0.092	[0.084, 0.100]	0.127	[0.115, 0.152]	
Carvacrol	0.151	[0.136, 0.166]	0.213	[0.194, 0.242]	0.318	[0.288, 0.350]	0.459	[0.417, 0.525]	
Mixto	0.280	[0.251, 0.313]	0.434	[0.389, 0.503]	0.333	[0.303, 0.363]	0.463	[0.424, 0.526]	
Citral	0.285	[0.256, 0.320]	0.447	[0.400, 0.520]	0.356	[0.322, 0.384]	0.481	[0.441, 0.554]	
Carvona	0.304	[0.270, 0.346]	0.509	[0.447, 0.608]	0.367	[0.336, 0.401]	0.506	[0.459, 0.598]	

IC= Intervalo de confianza

La  $CL_{50}$  en los cuatro estadios larvarios para los aceites de los cinco quimiotipos varió desde 0.056 mg/mL 95 % IC [0.046, 0.064], hasta 0.367 mg/mL 95 % IC [0.336, 0.401], mostrando el mejor valor en todos los casos el quimiotipo timol de *L. graveolens*, cuyo máximo registrado fue para el cuarto estadio, con valor de 0.092 mg/mL 95 % IC [0.084, 0.100]. Su correspondiente  $CL_{95}$  varió desde 0.093 mg/mL 95% IC [0.081, 0.119], hasta 0.509 mg/mL 95 % IC [0.447, 0.608], mostrando el mejor valor en todos los casos el quimiotipo timol de *L. graveolens*, cuyo máximo reportado fue para el cuarto estadio con valor de 0.127 mg/mL 95% IC [0.115, 0.152].

## Discusión

### Extracción y rendimiento de aceites esenciales

Entre las dos especies estudiadas, se determinó un mayor potencial de producción de aceites esenciales en *L. graveolens*, que en *L. alba*, excepto para el quimiotipo mixto de *L. graveolens*, colectado en la aldea El Subinal de Guastatoya, El Progreso, cuyo contenido es ligeramente superior que el mayor de los encontrados en *L. alba* pero muy por debajo de los otros dos quimiotipos de su misma especie. Estos rendimientos, guardan coherencia con los referidos por Alvarado (2011), quien reportó para *L. alba* 1.02% y para *L. graveolens* 4.02%. El origen de las colectas no se especifica en el estudio, solamente que fueron obtenidas de áreas silvestres de Guatemala. También se encuentra relación con lo expresado por Alonso (2004), que refiere para *L. alba* un contenido de aceites esenciales entre el 0.5 y el 1.5%; así como por los rendimientos encontrados por Pérez y otros (2012), que reportan para *L. graveolens*, un contenido de aceites esenciales del orden del 4.34%, siendo también en

este caso la excepción, el rendimiento del quimiotipo mixto, que produjo un rendimiento de 1.23%.

Los contenidos de aceites esenciales reportados por Morataya (2006), difieren grandemente de los encontrados en el presente caso para *L. graveolens* y aunque también refiere valores diferentes para *L. alba*, si guardan una relación con los resultados obtenidos, siendo sus datos, los siguientes: *L. graveolens* 1.8022%, *L. alba* lanceolada 0.0345% y *L. alba* redonda 1.4831%. Cabe señalar sin embargo, que el origen de las colectas de ambas especies para el caso de Morataya (2006), corresponde al municipio de Samayac del departamento de Suchitepéquez; siendo diferente a la procedencia de las muestras evaluadas en el presente estudio.

### Respuesta letal a las 24 h

La  $CL_{50}$  en los cuatro estadios larvarios para los aceites de los cinco quimiotipos varió desde 0.056 mg/mL 95% IC [0.046, 0.064], hasta 0.367 mg/mL 95% IC [0.336, 0.401], mostrando el mejor valor en todos los casos el quimiotipo timol de *L. graveolens*, cuyo máximo registrado fue para el cuarto estadio con valor de 0.092 mg/mL 95% IC [0.084, 0.100].

La  $CL_{95}$  en los cuatro estadios larvarios para los aceites de los cinco quimiotipos varió desde 0.093 mg/mL 95% IC [0.081, 0.119], hasta 0.509 mg/mL 95 % IC [0.447, 0.608], mostrando el mejor valor en todos los casos el quimiotipo timol de *L. graveolens*, cuyo máximo reportado fue para el cuarto estadio con valor de 0.127 mg/mL 95 % IC [0.115, 0.152].

Los resultados obtenidos, difieren con los reportados por Alvarado (2011), al haber

encontrado que solo *L. graveolens* produjo respuesta letal para el primero y segundo estadio larvario de *A. aegypti*, en concentraciones de 0.1 mg/mL; ya que en el presente estudio, esta especie, particularmente el quimiotipo timol, provocó mortalidades hasta el cuarto estadio larvario con  $CL_{50}$  de 0.092 mL 95% IC [0.084, 0.100] y una  $CL_{95}$  de 0.127 mL 95% IC [0.115, 0.152]. Es evidente que la composición de los aceites esenciales de los quimiotipos, incide en la respuesta de mortalidad de la larva del vector.

Rojas, García y Morales (2010), estudiaron los aceites esenciales de nueve especies de *Piper* colectadas en Guatemala. La dosis más baja utilizada (0.025 mg/mL) no mostró mayor actividad larvicida. Los aceites con mayor potencial contra larvas de los cuatro estadios de *A. albimanus* y *A. aegypti* (referido en el estudio como *Stegomyia aegypti*), fueron los obtenidos de *Piper patulum* Bertol. y *P. auritum* a la mayor dosis empleada (0.2 mg/mL), mostrando el de *P. patulum* para *S. aegypti* la mejor  $CL_{50}$ , con un valor de 0.062 mg/mL para los primeros tres estadios larvarios y de 0.122 mg/mL para el cuarto estadio. Los resultados de las evaluaciones de aceites esenciales de *Piper auritum* Kunth, *P. aduncum* L., *P. racemosum* y *C. ambrosioides*, sobre larvas de *A. aegypti* por Leyva y otros (2009), registraron alta actividad, siendo *P. auritum* el que presentó mayor efecto letal con la menor  $CL_{50}$  (0.17 mg/mL), seguido por *P. racemosum* (0.27 mg/mL), *C. ambrosioides* (0.35 mg/mL) y *P. aduncum* (0.57 mg/mL). Al comparar los datos sobre el efecto larvicida del aceite esencial de *P. patulum* reportado por Rojas y otros (2010), cuya composición no se describe en el estudio, se advierten resultados similares a los producidos en el presente caso, particularmente con los reportados por *L. graveolens* quimiotipo timol, con una  $CL_{50}$  para

los cuatro estadios larvarios, de 0.056 mg/mL 95% IC [0.046, 0.064] hasta 0.092 mg/mL 95% IC [0.084, 0.100], aun cuando la composición de los aceites pudiese variar notoriamente.

En otro estudio conducido (Leyva et al., 2008), se encontraron los siguientes datos en el uso de aceites esenciales para el control de larvas de *A. aegypti*: *Curcuma longa* L. con  $CL_{50}$  y  $CL_{95}$  de 0.025 y 0.044 mg/mL respectivamente; *Malaleuca leucadendron* L. con  $CL_{50}$  y  $CL_{95}$  de 0.041 y 0.051 mg/mL en el orden presentado; *Artemisia abrotamum* L. con  $CL_{50}$  y  $CL_{95}$  de 0.193 a 0.272 correspondientemente. Los resultados de las dos primeras especies citadas, muestran superior efecto letal sobre el mejor quimiotipo de *L. graveolens* de los acá estudiados (timol), con  $CL_{50}$  que va de 0.056 mg/mL 95% IC [0.046, 0.064] a 0.092 mL 95% IC [0.084, 0.100] y  $CL_{95}$  en el rango de 0.093 mg/mL 95% IC [0.081, 0.119] a 0.127 mg/mL 95% IC [0.115, 0.152], para los cuatro estadios larvarios. Aun cuando *C. longa* y *M. leucadendron* parecen ser buenas alternativas de control, la actividad larvicida mostrada por *L. graveolens* del quimiotipo timol es promisoría, siendo una ventaja desde la perspectiva ambiental, que *L. graveolens* al ser una especie nativa de Guatemala, se encuentra adaptada a las condiciones que prevalecen en sus sitios de crecimiento silvestre y áreas de cultivo, generalmente, de escasa precipitación pluvial.

Bassolé y otros (2003), estudiaron la actividad de los aceites esenciales obtenidos de las hojas deshidratadas de *Cymbopogon proximus* (Hochst. ex A. Rich.) Maire, & Weiller, *Lippia multiflora* Moldenke y *Ocimum canum* Sims, contra huevos y larvas del tercer y cuarto estadio de *A. aegypti* y de miembros del complejo *Anopheles gambiae*. *L. multiflora*, con timol como constituyente principal del aceite

esencial (29.9 %), mostró la mayor actividad larvicida, con  $CL_{50}$  0.0535  $\mu\text{L}/\text{mL}$  95% IC [0.0474, 0.0593] y  $CL_{90}$  de 0.0748  $\mu\text{L}/\text{mL}$  95 % IC [0.0707, 0.0820] para *A. aegypti*; Estos resultados son semejantes a los producidos por el quimiotipo timol de *L. graveolens* del presente estudio, probablemente por su alto contenido en este componente (71%), según lo reportan Fischer y colaboradores (1997), citados por Pérez y otros (2012).

En un estudio realizado en Río de Janeiro, Brasil por Carvalho y otros (2003), con el aceite esencial extraído de *Lippia sidoides* Cham. mediante arrastre de vapor, se evaluó la actividad larvicida del tercer y cuarto estadio de *A. aegypti*, empleando el aceite esencial puro, su hidrolato puro (agua del proceso de co-distilación cuyo análisis reveló la presencia de derivados alquílicos de fenol, timol y carvacrol), hidrolato diluido (1:2; 1:5; 1:10 1:20, v/v) y sus principales constituyentes timol y carvacrol (Sigma Co., USA), a las concentraciones de 0.085, 0.04, 0.017 y 0.008% para timol y 0.04% carvacrol, en Tween-80 a 0.04% en agua destilada, el cual también fue utilizado como testigo. Los resultados mostraron que el aceite puro, el hidrolato puro y en dilución de 1:2, mataron a la totalidad de larvas en 5 min, la dilución 1:5 y 1:10 lo hicieron en 20 min y 24 h respectivamente y la de 1:20 mató al 50% de las larvas en 24 h; el Tween-80 diluido en agua no produjo mortalidad. El timol produjo el 100% de mortalidad en 30 min a concentraciones de 0.085 y 0.040%, y en 1.5 h a la concentración de 0.017. El carvacrol solo, a concentración de 0.040% no produjo mortalidad a las 24 h, pero al combinar 0.040% de timol y 0.040% de carvacrol, se produjo el 100% de la mortalidad a los 30 min. Barreira, de Moraes, Lima y Pinho, (2004), estudiaron la actividad larvicida contra el tercer estadio de *A. aegypti*, de los aceites esenciales de nueve plantas de

amplia distribución en el noreste de Brasil. Los mejores resultados y los constituyentes principales del aceite esencial corresponden a: *Ocimum gratissimum* L. (LC50 0.060  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ; 43.7% de eugenol y 32.7% de 1-8 cineol), *L. sidoides*. (LC50 0.063  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ; 80.8 % de timol), *Ocimum americanum* L. (LC50 0.067  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ; 70.9 % de *E*-metil-cinamato), *Cymbopogon citratus* Stapf. (LC50 0.069  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ; 60.3% de geraniol y 39.7% de neral). Silva y colaboradores (2008), expresan que el aceite esencial de *Lippia gracilis* HBK mostró potente efecto insecticida contra larvas de *A. aegypti* del tercer y cuarto estadio. El carvacrol y el óxido de cariofileno fueron los principales compuestos responsables de la actividad de *L. gracilis* e *Hyptis pectinata* Poit; los componentes menores probablemente actúan de forma sinérgica para *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth. Con excepción de lo expresado por Silva y colaboradores (2008), estos datos podrían explicar la razón por la cual el aceite esencial del quimiotipo timol de *L. graveolens* evaluado en el presente estudio, produjo mejores efectos letales, pudiendo ser entonces los otros constituyentes o sus interacciones para el quimiotipo carvacrol, los responsables de su actividad larvicida.

Como conclusiones de la evaluación de la actividad larvicida de los aceites obtenidos de los cinco quimiotipos de *Lippia*, se enfatiza que *L. graveolens* presenta mayor contenido de aceites esenciales y mayor efecto letal que *L. alba*. Los resultados obtenidos evidencian la susceptibilidad de las larvas más jóvenes a la acción insecticida de los aceites esenciales, produciendo 10 de los 20 tratamientos 100 % de mortalidad para el primer estadio larvario, disminuyendo paulatinamente al cuarto, en el que únicamente dos tratamientos eliminaron la totalidad de las larvas (*L. graveolens* quimiotipo timol a concentraciones de 0.2 y

0.4 mg/mL). Queda claro, que *L. graveolens* reportó mayor efectividad, particularmente el quimiotipo timol, con una  $CL_{50}$  y  $CL_{95}$  de 0.092 mL 95 % IC [0.084, 0.100] y 0.127 mg/mL 95% IC [0.115, 0.152] respectivamente para el cuarto estadio larvario, en comparación con *L. alba*, cuyo mejor resultado lo mostró para ese mismo estadio larval de *A. aegypti*, el quimiotipo citral, con  $CL_{50}$  de 0.356 mg/mL 95% IC [0.332, 0.384] y  $CL_{95}$  de 0.481 mg/mL 95% IC [0.441, 0.554].

Por lo ya expresado, es conveniente considerar el uso del quimiotipo timol de *L. graveolens*, en los programas de control del vector *A. aegypti*. Asimismo, se recomienda realizar evaluaciones de su actividad insecticida contra otras especies de plagas, principalmente, aquellas relevantes desde el punto de vista de la entomología médica. Se deben conducir estudios de la persistencia del aceite esencial en aplicaciones de campo, con el fin de establecer la frecuencia de los tratamientos a los criaderos del mosquito. También es conveniente que se evalúe en diferentes épocas del año el rendimiento y composición del aceite esencial de esta especie y quimiotipo, para definir los mejores momentos de cosecha.

Además de su propiedad insecticida, los aceites esenciales estudiados, pueden tener aplicación, por su efecto repelente como lo estableció para *L. alba* Ringuelet y otros (2014).

### Agradecimientos

Ha sido de gran valor el apoyo de las siguientes entidades y personas: Laboratorio del Programa Nacional de Enfermedades Transmitidas por Vectores del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala, por la donación de las larvas de *A. aegypti*; Francisco Salcedo, auxiliar de investigación de proyectos y estudiante de Química Farmacéutica

Carol Betancourt, Auxiliar del Laboratorio de Fitoquímica, CCQQ-USAC, por su participación en el montaje de los bioensayos; Biólogo Max Mérida, investigador de proyectos CCQQ-USAC, por la ubicación de los sitios de recolección y participar en la cosecha del follaje de los quimiotipos de *L. graveolens*.

### Referencias

- Alonso, J. (2004). *Tratado de fitofármacos y nutracéuticos*. Rosario, Argentina: Corpus
- Alvarado, B. (2011). *Determinación de la actividad larvicida de seis extractos y aceites de plantas del género Lippia nativas de Guatemala*, contra *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* vectores transmisores del dengue y el paludismo respectivamente. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Angelini, R., Finarelli, A., Angelini, P., Petropulacos, K., Macini, P., Fiorentini, C., & Cassone, A. (2007). An outbreak of chikungunya fever in the province of Ravenna, Italy. *Eurosurveillance*, 12(36), 3260. Recuperado de <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3260>
- Atti-Serafini, L., Pansera, MR, Atti-Santos, AC, Rossato, M., Pauletti, GF, Rota, LD, ... y Moyna, P. (2002). La variación en el rendimiento de aceite esencial y la composición de *Lippia alba* (Mill.) NE Br. crecido en el sur de Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 4 (2), 72-74.

- Bassolé H., Guelbeogo, R., Nébié, R., Constantini, C., Sagnon, N., Kabore, Z., & Traoré. S. (2003). Ovicidal and larvicidal activity against *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* complex mosquitoes of essential oil extracted from three spontaneous plants of Burkina Faso. *Parassitologia* 45(1), 23-26.
- Barreira, E., de Moraes, S., Lima, M., & Pinho, E. (2004). Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 99(5), 541-544.
- Carvalho, A., Melo, V., Craveiro, A., Machado, M., Bantim, M., & Rabelo, E. (2003). Larvicidal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. against *Aedes aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(4), 569-571.
- Ciccio, J., & Ocampo, R. (2006). Variación anual de la composición química del aceite esencial e *Lippia alba* (Verbenaceae) cultivada en Costa Rica. *Lankesteriana*, 6(3), 149-154.
- Fischer, U., Lopez, R., Pöll, E., Vetter, E., Novak, J., & Franz, C. (2004). Two chemotypes Within *Lippia alba* populations in Guatemala. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(4), 333-335. doi: 10.1002/ffj.1309
- Leyva, M., Tacoronte, J., Marquetti, M., Scull, R., Montada, D., Rodríguez, & Bruzón, R. (2008). Actividad insecticida de aceites esenciales de plantas en larvas de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 60(1), 78-82
- Leyva, M., Marquetti, M., Tacoronte, J., Scull, R., Tiomno, O., Mesa, A., & Montada, D. (2009). Actividad larvicida de aceites esenciales de plantas contra *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Revista Biomédica*, 20, 5-13
- Linde, G., Colauto, N., Albertó, E., & Gazim, Z. (2016). Quimiotipos, extracción, composición y aplicaciones del aceite esencial de *Lippia alba*. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*, 18(1), 191-200. doi: 10.1590/1983-084X/15\_037
- López, M., Stashenko, E., & Fuentes, J. (2011). Composición química y propiedades antigenotóxicas de los aceites esenciales de *Lippia alba*. *Genética y Biología Molecular*, 34 (3), 479-488. doi.org/10.1590/S1415-47572011005000030
- Lorenzo, D., Paz, D., Davies, P., Vila, R., Cañigüeral, S., y Dellacassa, E. (2001). Composición de un nuevo tipo de aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) NE Brown de Uruguay. *Flavour Frag*, 16 (5), 356-359.
- Marquetti, M. (2008). *Aspectos bioecológicos de importancia para el control de Aedes aegypti y otros culicidos en el ecosistema urbano*. (Tesis de Doctorado) Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” Departamento de Control de Vectores. La Habana.
- Mérida, M. (2012). *Estudio del rendimiento y composición del aceite esencial de diferentes poblaciones silvestres de Lippia chapasensis Loes. del altiplano occidental guatemalteco*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

- Mesa-Arango, CA, Montiel-Ramos, J., Zapata, B., Durán, C., Betancur-Galvis, L., & Stashenko, E. (2009). Citral y carvona quimiotipo de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill.) NE Marrón colombianos: composición., La citotoxicidad y la actividad antifúngica *Memorias del Instituto Oswaldo Cruz*, 104 (6), 878-884.
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Guatemala. (2007). *Protocolos Nacionales de Vigilancia y Salud Pública*. Recuperado de [Phttp://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/PROTOCOLOS\\_MSPAS\\_2007.pdf](http://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/PROTOCOLOS_MSPAS_2007.pdf)
- Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Guatemala. (2016). *Centro Nacional de Epidemiología*. Recuperado de [http://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/Publicaciones%202016/SEMEPI/SEMEPI\\_3\\_2016.pdf](http://epidemiologia.mspas.gob.gt/files/Publicaciones%202016/SEMEPI/SEMEPI_3_2016.pdf)
- Morataya, M. (2006). *Caracterización farmacopéica de cuatro plantas aromáticas nativas de Guatemala: albahaca de monte (Ocimum micranthum), orégano (Lippia graveolens), salvia sija (Lippia alba) y salviyá (Lippia chiapasensis)*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala
- Pan American Health Organization (2012). Guatemala. *Health in the Americas: country volume*, 358-372. Recuperado de [http://www.paho.org/salud-en-las-americas-2012/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=132&Itemid=](http://www.paho.org/salud-en-las-americas-2012/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=132&Itemid=)
- Pérez, J., Mérida, M., Farfán, C., & Ribeiro, A. (2012). Análise e discriminação de quimiotipos de *Lippia graveolens* H.B.K. da Guatemala por microextração em fase sólida, cg-em e análise multivariada. *Quimica Nova*, 35(1), 97-101.
- Pialoux, G., Gaüzère, B., Jauréguiberry, S., & Strobel, M. (2007). Chikungunya, an epidemic arbovirolosis. *Lancet, Infectious Diseases*, 7(5), 319-327. doi:10.1016/S1473-3099(07)70107-X
- Ringuelet, J., Ocampo, R., Henning, C., Padín, S., Urrutia, M., & Dal Bello, G. (2014). Actividad insecticida del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown sobre *Tribolium castaneum* Herbst. en granos de trigo (*Triticum aestivum* L.) *Revista Brasileira de Agroecología*, 9(2), 214-222.
- Rojas, E., García, R., & Morales, A. (2010). *Actividad de extractos vegetales sobre larvas de insectos de importancia en entomología médica*. (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Gonçalves, M., & da Cunha, A. (2003). Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Medica*, 69(1), 80-83. doi:10.1055/s-2003-37032
- Senatore, F., & Rigano, D. (2001). Essential oil of two *Lippia* spp. (Verbenaceae) growing wild in Guatemala. *Flavour and Fragrance Journal*, 16(3), 169-171. doi:10.1002/ffj.972
- Stashenko, E. E., Jaramillo, B. E., & Martínez, J. R. (2003). Comparación de la composición química y de la actividad

antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias*, 27(105), 579-597.

Silva, W., Dória G., Maia, R., Nunes, R., Carvalho, G., Blank, A., ... Cavalcanti, S. (2008). Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. *Bioresource Technology*, 99(8), 3251–3255. doi: 10.1016/j.biortech.2007.05.064.

Tezara, W., Herrera, A., Coronel, I., Urich, R., y Calvo-Irabien, L. (2003). Características fotosintéticas y producción de aceites esenciales de *Lippia graveolens* en poblaciones naturales y cultivadas en un jardín común en Yucatán. *Memorias del Instituto de Biología Experimental*, 6, 153-156.

Villatoro, G. (2006). *Historia del dengue en Guatemala*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Humanidades. Guatemala.



## Relación de la riqueza de hongos conidiales con factores ambientales y de la hojarasca, en la Reserva Ecológica Cayalá, Guatemala

### Relationship of the richness of conidial fungi with environmental and leaf litter factors in the Cayalá Ecological Reserve, Guatemala

Ricardo Figueroa<sup>1</sup>, Osberth Morales<sup>1</sup>, María del Carmen Bran<sup>1</sup>, Rafael Castañeda-Ruiz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

<sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical Alejandro de Humboldt (INIFAT), Santiago de Las Vegas, C. Habana, Cuba, C.P.

figueroaricard@gmail.com

Recibido: septiembre 2016 • Aceptado: enero 2017

#### Resumen

Los hongos conidiales se desarrollan en ambientes muy variados en los que influye la temperatura, la humedad y la profundidad de la hojarasca. En esta investigación se analizó la influencia que tiene la humedad del ambiente, microambiente y hojarasca; la temperatura del ambiente y microambiente y la profundidad de la hojarasca, en el desarrollo de 14 especies de hongos anamórficos encontrados en la Reserva Ecológica Cayalá, un bosque urbano ubicado en la Ciudad de Guatemala. Este análisis se realizó por medio de muestreos durante la época lluviosa de julio a noviembre de 2013 y por estadística multivariada para asociar las distintas variables con las especies fúngicas. Se encontró que la presencia de *Bactrodesmium longisporum* MB Ellis, *Beltrania rhombica* Penz, *Michelia*, *Junewangia globulosa* (Thoth) WA Baker & Morgan - Jones y *Neopodocodis megasperma* (Boedijin) Rifai fueron influenciadas por la profundidad de la hojarasca y la temperatura del microambiente mientras que el resto de especies lo fueron por la humedad del ambiente, microambiente y hojarasca. Es importante conocer la forma en que las variables evaluadas afectan la presencia de estos hongos, por su acción en la dinámica de remanentes boscosos urbanos, para contribuir a su conservación.

Palabras clave: bosques urbanos, hongos microscópicos, hongos asexuales.

## Abstract

Conidial fungi develop in distinct habitats with several environmental conditions in which influences the temperature, humidity and depth of litter. In this research the influence of the humidity, temperature, microenvironment and litter moisture and temperature and depth of litter, was analyzed in the development of 14 species of anamorphic fungi found in the Reserva Ecológica Cayalá, located in Guatemala City. This analysis was performed by sampling during the rainy season from July to November 2013 and using multivariate statistics for different variables associated with the species. It was found that the presence of *Bactrodesmium longisporum* MB Ellis, *Beltrania rhombica* Penz, *Michelia*, *Junewangia globulosa* (Thoth) WA Baker & Morgan - Jones, and *Neopodocodis megasperma*(Boedijn) Rifai, was influenced by the depth of litter and microenvironment temperature while the other species were for the environmental humidity, microenvironment moisture and litter moisture. It is important to know how the evaluated variables affect the presence of these fungi, by the role its action on the dynamics of urban forest remnants, to contribute to their conservation.

Keywords: urban forests, microscopy fungi, asexual mushrooms.

## Introducción

Los hongos conidiales son un grupo de microorganismos que se encuentra repartidos mayoritariamente en el Phylum Ascomycota y una menor parte en Basidiomycota. Se caracterizan por reproducirse a través de mitosis por vía asexual, así como por la producción de conidios y cuerpos fructíferos microscópicos (Seifert, Morgan-Jones, Gams, & Kendrick, 2011). Según Kirk, Cannon, Minter y Stalpers (2008) se considera que hay tres grupos morfológicos dentro de los hongos anamórficos: Hyphomycetes, que producen conidios sobre hifas o agregaciones de hifas conocidas como conidiomas sinemáticos o esporodoquios; Agonomycetes, que son estériles pero producen clamidósporas, esclerocios y/o estructuras vegetativas similares y Coelomycetes, cuyo micelio produce conidios en picnidios, acérvulos o conidiomas estromáticos o cupulares. Durante la producción de conidios se distinguen cinco etapas: conidiogénesis o iniciación, maduración, delimitación, separación del conidio y proliferación de la célula conidiógena

o conidióforo para formar conidios (Webster & Weber, 2007). La conidiogénesis puede ocurrir de dos modos básicos blástico o tálico (Hoog & Guarro, 1995).-

Estos hongos microscópicos se cuentan dentro de los principales agentes de la descomposición de la materia orgánica en el suelo (Cannon & Sutton, 2004). Una considerable cantidad de hongos anamórficos produce lacasas extracelulares, las cuales pueden estar implicadas en procesos de degradación y transformación de compuestos vegetales recalcitrantes como lignina, taninos y otros compuestos fenólicos. La producción de estas enzimas les permite desarrollarse sobre la hojarasca de una manera eficiente y los vuelve muy importantes en su función como degradadores (Rodríguez, Falcon, Carnicero, Perestelo, De La Fuente, & Trojonowski, 1996).

En Guatemala, existe un vacío de información con respecto a estos hongos ya que solamente se ha realizado un estudio en el

que se describieron 12 especies que fueron encontradas en la Reserva Ecológica Cayalá ubicada en la Ciudad de Guatemala (Figueroa, Bran, Morales, & Castañeda, 2016). Por esta razón, se desconocen los factores ambientales que influyen en la presencia de conidiales en la hojarasca a nivel local. Este trabajo tuvo como finalidad buscar relaciones entre la humedad y profundidad de la hojarasca, la temperatura y la humedad ambiental y del microambiente en los sitios de muestreo, con la presencia de especies de hongos conidiales en la Reserva Ecológica Cayalá, uno de los pocos bosques urbanos de la ciudad de Guatemala.

## Materiales y métodos

### Recolección de muestras de hojarasca

La Reserva Ecológica Cayalá es uno de los pocos bosques urbanos que posee la ciudad de Guatemala y cuenta con un área de 97 823.46 m<sup>2</sup> dominada por *Quercus* sp. En este lugar se delimitó al azar una parcela de 25 m<sup>2</sup> (N 14°37'7.57" y O 90°29'33.35") y se subdividió en 25 subparcelas de 1 m<sup>2</sup>. Cada mes se seleccionaron aleatoriamente 10 subparcelas, por cuatro meses (agosto a noviembre). En cada subparcela se tomaron 15.0 g de la hojarasca más próxima al suelo (hojas, ramitas y semillas) y se transportaron al laboratorio en bolsas de papel. Se tomaron mediciones del grosor de la capa de hojarasca, humedad y temperatura del microambiente y de la humedad relativa y temperatura ambiental del área con un higrómetro digital marca Hygro-Thermometer®. Las muestras se transportaron al laboratorio para su análisis, en un lapso no mayor a 24 h, según lo descrito por Heredia, Castañeda-Ruiz, Becerra y Arias (2006).

### Medición de la humedad del sustrato

Se tomaron 5.0 g de la hojarasca recolectada de cada una de las subparcelas y se colocaron durante 48 horas en un horno a 85 °C, hasta

alcanzar peso constante. Posteriormente, el porcentaje de humedad se calculó por medio de la siguiente fórmula: % humedad = (peso seco del sustrato/ peso húmedo del sustrato) x 100 (Ulloa & Hanlin, 1978).

### Determinación de las especies

Las especies se determinaron al comparar las descripciones microscópicas con literatura especializada, entre ellas Ellis (1976), Nawawi, Kuthubutheen, & Sutton (1990), Seifert y otros (2011) entre otras.

### Riqueza específica (S)

Se define como el número total de especies obtenidas por un censo de la comunidad. En este estudio se elaboró un listado de las especies identificadas, el total de las cuales constituyó la riqueza específica (S) de la parcela muestreada. Asimismo, a través de una curva de acumulación y el índice de Chao 2, se estimó la riqueza esperada de especies para el sitio muestreado, el cual se basó en la incidencia (presencia/ausencia) de una especie en una muestra dada (Moreno, 2001), para lo cual se utilizó el programa EstimateS®.

### Análisis multivariados

Se recurrió a estos análisis para encontrar patrones en los datos, los cuales no era posible analizar con variables separadas. Para comparar las condiciones ambientales medidas en las sub-parcelas en los cuatro muestreos (julio, agosto, septiembre, noviembre) se realizó un análisis de conglomerados, en el programa Past®. Para relacionar la presencia o ausencia de las especies con las variables (temperatura y humedad del microambiente, profundidad y humedad de la hojarasca, temperatura y humedad del ambiente), se realizó un análisis de correspondencia canónica (Moreno, 2001), con el programa R®.

## Resultados

La riqueza específica encontrada fue de 12 especies y dos géneros, las 12 fueron descritas con detalle por Figueroa, Bran, Morales y Castañeda (2016). Las especies incluidas en este estudio fueron: *Bactrodesmium longisporum* M. B. Ellis, *Beltrania rhombica* Penz, M., *Cacumisporium pleuroconidiophorum* Davidkina & Melnik, *Cryptophiale guadalcanalensis* Matsush, *Ellisembia* sp., *Helicosporium* sp., *Junewangia globulosa* (Tóth) WA Baker & Morgan-Jones, *Synnemacrodictys stilboidea* (J. Mena

& Mercado) WA Baker & Morgan-Jones, *Mariannaea elegans* (Corda) Samson, *Neopodoconis megasperma* (Boedijn) Rifai, *Physalidiella matsushimae* (R.F Castañeda & W.B. Kendr.) M. Morelet, *Thozetella nivea* (Berk.) Kuntze, *Vermiculariopsiella immersa* (Desm.) Bender y *Yuccamyces cubensis* (RF Castañeda) Castañeda RF. La curva de acumulación de especies evidenció que el número aumentó desde el primer muestreo hasta el número 31 (julio a septiembre), a partir del cual ya no se encontraron nuevos registros y se alcanzó la asíntota (Figura 1).

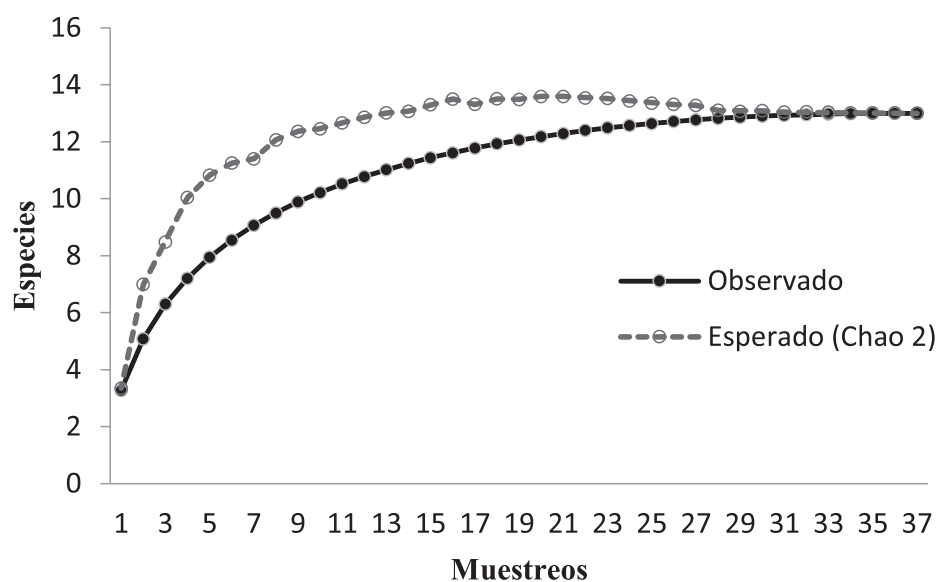


FIGURA 1. Curva de acumulación de especies. La línea discontinua describe la riqueza esperada, calculada por el índice Chao 2, la línea continua describe la riqueza observada (95 % de intervalo de confianza).

La humedad del microambiente fue mayor que la del ambiente en los meses de julio, agosto y noviembre; mientras que la humedad de la hojarasca fue menor que la del microambiente y del ambiente. La temperatura del microambiente fue siempre superior a la del ambiente. La profundidad de la hojarasca aumentó de julio a septiembre y disminuyó en noviembre (Tabla 1).

Al relacionar las variables ambientales con los muestreos por medio de un análisis de

conglomerados, éste mostró la formación de dos grupos claramente separados. El primero fue constituido por los muestreos realizados en los meses de julio-septiembre, con valores de humedad del ambiente y microambiente por arriba del 83 % y temperaturas entre 19-22 °C. El segundo grupo lo conforma el muestreo realizado del mes de noviembre, que se caracterizó por valores de humedad y temperatura menores comparado con los meses anteriores (Tabla 1, Figura 2).

**Tabla 1.** Variables ambientales registrados durante los muestreos

Parámetro <sup>1</sup>	Mes			
	Julio	Agosto	Septiembre	Noviembre
Humedad del microambiente (%)	85.7 (3.2)	83.7 (2.2)	84.1 (0.8)	79.5 (1.3)
Temperatura del microambiente (°C)	22.8 (0.6)	21.5 (0.6)	20.4 (0.4)	20.7 (1.2)
Humedad del ambiente (%)	85.0 (0.0)	83.0 (0.0)	87.0 (0.0)	78.0 (0.0)
Temperatura ambiente (°C)	22.0 (0.0)	20.0 (0.0)	19.0 (0.0)	18.0 (0.0)
Humedad de la hojarasca (%)	72.2 (4.3)	75.4 (3.6)	79.2 (2.2)	53.7 (1.7)
Profundidad de la hojarasca (cm)	1.8 (0.8)	2.7 (0.7)	3.4 (1.0)	3.1 (0.9)

<sup>1</sup> Media (desviación estándar)

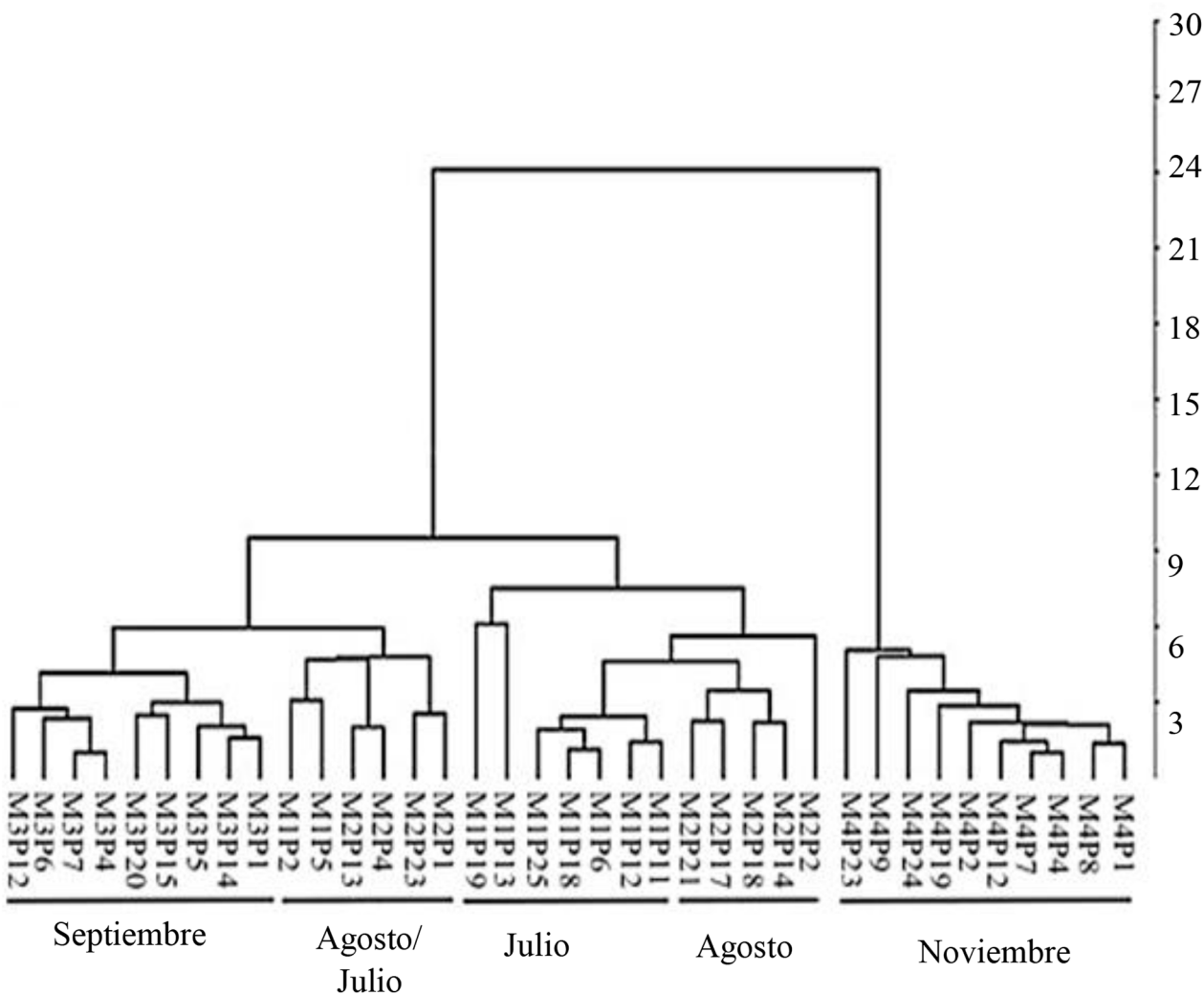


FIGURA 2. Análisis de conglomerados de las variables ambientales medidas en los muestreos. El dendrograma fue construido con base en distancias euclidianas. M: muestreo, P: Parcela.

El análisis de correspondencia canónica en el que se relacionaron variables ambientales y especies encontradas mostró que la fructificación de *B. longisporum*, *B. rhombica*, *N. megasperma* y *J. globulosa* estuvo principalmente influenciada por la temperatura del microambiente, la profundidad de la

hojarasca, además que se desarrollaron únicamente en el mes de noviembre. El resto de especies se encontraron en condiciones similares de temperatura, humedad de la hojarasca, humedad ambiente y humedad del microambiente y la mayoría fructificó durante todo el muestreo (Figura 3).

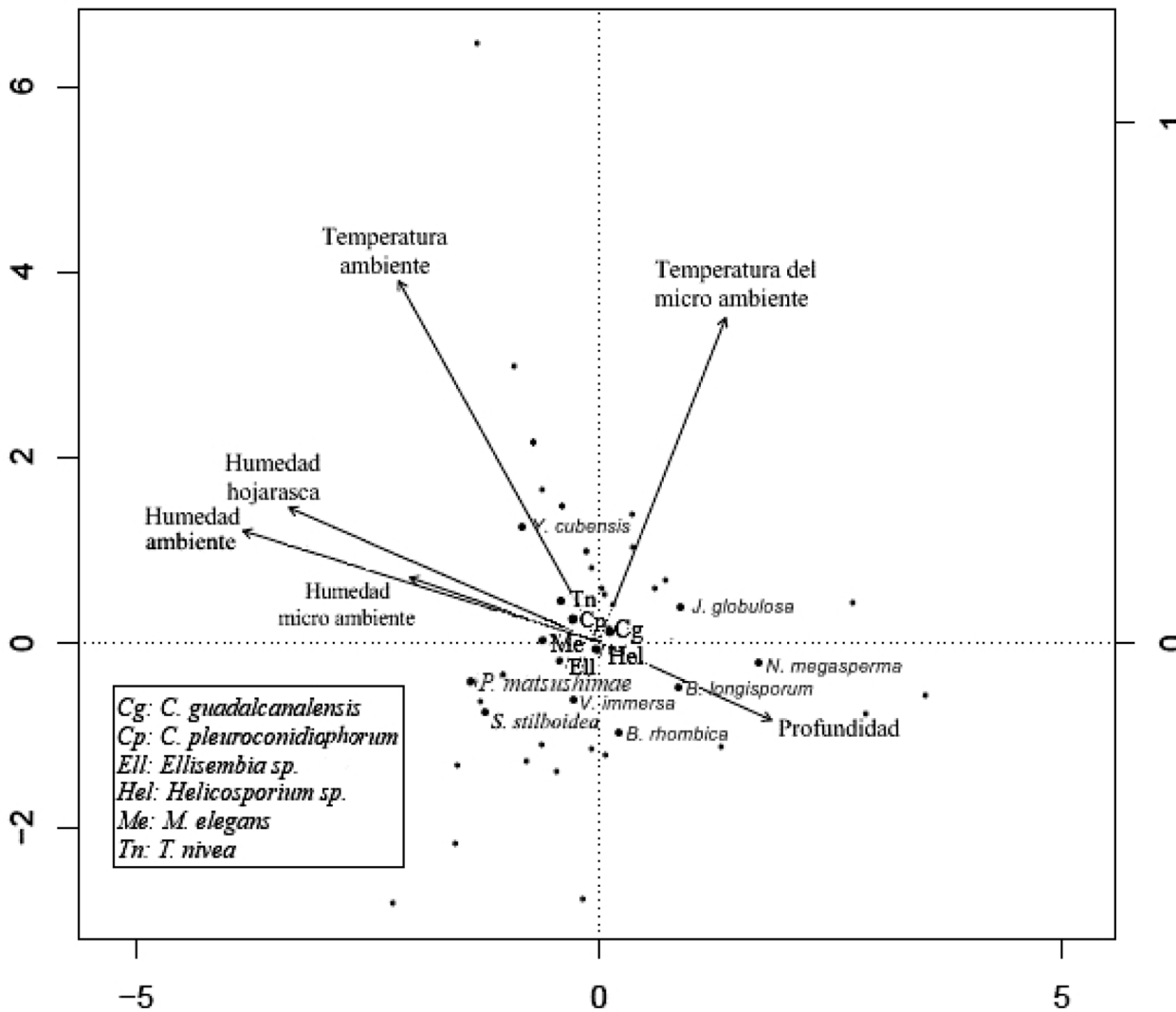


FIGURA 3. Análisis de correspondencia canónica. Las flechas describen las variables ambientales y de la hojarasca, los puntos pequeños describen las sub-parcelas, los puntos grandes describen las especies y las líneas punteadas representan los ejes (componente 1, 38 % de la varianza, componente 2, 33 % de la varianza).

## Discusión

La riqueza de especies encontradas en este estudio fue menor a la encontrada en otra investigación similar en Costa Rica (Bills & Polishook, 1994). Sin embargo, de acuerdo con la curva de acumulación de especies, en este estudio se logró encontrar la cantidad esperada para el área trabajada, por la cantidad de muestreos realizados y el tamaño de la parcela utilizada (Ludwing & Reynolds, 1988; Ulloa & Hanlin, 1978). Es importante anotar que este número corresponde a hongos asociados a hojarasca de encino (*Quercus* sp), pero la cantidad de especies podría ser mayor al aumentar la diversidad vegetal (Castañeda, Osorio, Canal, & Galeano, 2010).

Con respecto a la temporalidad de aparición de estos hongos, la mayoría de especies se desarrollaron durante los meses de julio, agosto y septiembre cuando las condiciones climáticas y del microambiente fueron similares. Además, *Y. cubensis* y *V. immersa* ya no se observaron en noviembre, cuando hay descenso de la temperatura y humedad del ambiente y microambiente. Lo anterior concuerda con Castañeda y otros (2010) quienes indicaron que la presencia de células conidiógenas, conidios hialinos y paredes delgadas, los hace más vulnerables a la disminución de la humedad y temperatura.

Los hongos *B. longisporum*, *B. rhombica*, *J. globulosa* y *N. megasperma* se encontraron únicamente en el mes de noviembre y poseen hifas de color oscuro, por lo que se considera que son *más resistentes a la desecación y a la exposición a la luz solar*, ya que sus paredes celulares contienen melanina, lo que les confiere la capacidad de absorber y disipar la luz ultravioleta (Heredia, Alarcón, Hernández,

Ferrera, & Almaraz, 2014).

Las observaciones anteriores fueron comprobadas por el análisis de correspondencia canónica el cual mostró que la presencia de *B. longisporum*, *B. rhombica*, *N. megasperma* y *J. globulosa* fueron influenciadas por la profundidad de la hojarasca y la temperatura del microambiente. Lo anterior pudo deberse a que el porcentaje de humedad más alto se observa cuando la capa de hojarasca es mayor, aun cuando la temperatura ambiente disminuya (Cannon & Sutton, 2004), lo cual se evidenció en este trabajo durante el mes de noviembre. Sin embargo, también se debe considerar la influencia de la disponibilidad de nutrientes, pH, tensión de oxígeno, entre otros, sobre la presencia de determinadas especies en los substratos (Valenzuela, Leiva, & Godoy, 2001).

Además, es probable que las especies más comunes y que aparecieron durante todo el lapso de muestreo (*C. guadalcanalensis*, *C. pleuroconidiophorum*, *Helicosporium* sp., *M. elegans*, *T. nivea*), podrían exhibir una estrategia de vida tolerante al estrés, lo que les permite crecer en condiciones ambientales adversas y con pocos nutrientes, comparado con *B. longisporum*, *B. rhombica*, *J. globulosa* y *N. megasperma* que pueden considerarse especies ruderales, con periodos de vida cortos pero con un alto potencial reproductivo (Cannon & Sutton, 2004).

En cuanto a preferencia de substrato, las diferencias entre las especies puede deberse a que la distribución de estos hongos en los restos vegetales no es homogénea, ya que algunas se especializan en colonizar substratos con determinadas características físico-químicas, de manera que las diferentes comunidades fúngicas puedan realizar los procesos de degradación de forma eficiente (Lodge, 1997; Cannon & Sutton, 2004). Asimismo,

la preferencia de substrato podría contribuir a la heterogeneidad espacial de la comunidad fúngica (Lodge & Cantrell, 1995).

### Agradecimientos

Este trabajo formó parte del proyecto “Diversidad de macrohongos y microhongos de Guatemala” que se ejecuta en la Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos, a la que se agradece por el apoyo otorgado. A la Reserva Ecológica Cayalá, por avalar la realización de este trabajo. A los revisores, por las mejoras y sugerencias

### Referencias

- Bills, G., & Polishook, J. (1994). Abundance and diversity of microfungi in leaf litter of a lowland rain forest in Costa Rica. *Mycologia*, 86(2), 187- 198.
- Cannon, P., & Sutton, B. (2004). Microfungi on wood and plant debris (Pp. 217-239). In G. Mueller, G. Bills & M. Foster. *Biodiversity of fungi, inventory and monitoring methods*. Burlington: Elsevier Academic Press.
- Castañeda, M., Osorio, A., Canal, N., & Galeano, P. (2010). Especies, distribución y hospederos del género *Anastrepha schiner* en el departamento del Tolima, Colombia. *Agronomía Colombiana*, 28(2), 265-271.
- Ellis, M. (1976). *Dematiaceous Hyphomycetes*. Surrey: Commonwealth Mycological Institute.
- Figueroa, R., Bran, M., Morales, O., & Castañeda-Ruiz, R. (2016). Nuevos registros de hongos anamórficos para Guatemala. *Revista Científica*, 26(1), 40-50.
- Heredia, C., Alarcón, A., Hernández, L., Ferrera, R., & Almaraz, J. (2014). Diversidad, ecología e importancia potencial de los hongos endófitos septados oscuros en México. *Botanical Sciences*, 92(3), 321-333.
- Heredia, G., Castañeda-Ruiz, R. F., Becerra C., & Arias, R. (2006). Contribución al conocimiento de los hongos conidiales saprobios del estado de Tabasco. *Revista Mexicana de Micología*, 23, 53-62.
- Hoog, G. & Guarro, J. (1995). *Atlas of clinical fungi*. Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Kirk, P., Cannon, P., Minter, D. & Stalpers, J. (2008). *Dictionary of the fungi*. (10th Ed.). London: CABI.
- Lodge, D., & Cantrell, S. (1995). Fungal communities in wet tropical forests: variation in time and space. *Canadian Journal of Botany*, 73(1), 1391-1398.
- Lodge, D. (1997). Factors related to diversity of decomposer fungi in tropical forests. *Biodiversity and Conservation*, 6(5), 681-688.
- Ludwing, J., & Reynolds, J. (1988). *Statistical ecology. A primer on methods and computing*. New York: John Wiley, & Sons.
- Moreno, C. (2001). *Métodos para medir la biodiversidad*. Zaragoza: M&T-Manuales y Tesis.
- Nawawi, A., Kuthubutheen, A., & Sutton, B. (1990). New species and combinations in *Vermiculariopsiella* (Hyphomycetes). *Mycotaxon*, 37, 173-182.



- Rodríguez, A., Falcon, M., Carnicero, A., Perestelo, F., De La Fuente, G. & Trojanowski, J. (1996). Laccase activities of *Penicillium chrysogenum* in relation to lignin degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 45, 399-403.
- Seifert, K., Morgan-Jones, G., Gams, W. & Kendrick, B. (2011). *The genera of Hyphomycetes*. Hong Kong: APS press.
- Ulloa, M., & Hanlin, R. (1978). *Atlas de Micología Básica*. México: Concepto, S.A.
- Valenzuela, E., Leiva, S., & Godoy, R. (2001). Variación estacional y potencial enzimático de microhongos asociados con la descomposición de hojarasca de *Nothofagus pumilio*. *Revista Chilena de Historia Natural*, 74(4), 737-749.
- Webster, J. & Weber, R. (2007). *Introduction to fungi*. (3rd Ed.). Cambridgeshire: Cambridge University Press.
- realizadas a este manuscrito.

# Dictamen—evaluación de los artículos e instrucciones para autores.

La Revista, es una publicación semestral, de tipo académico, cuyo objetivo es ofrecer a la comunidad académica, científica e investigadores, un medio de difusión que permita tratar temas relacionados con la salud, industria, recursos naturales y tecnología. La Convocatoria de recepción trabajos está abierta todo el año y se reciben trabajos de todos los profesionales (nacionales e internacionales) de las áreas mencionadas.

Los trabajos que se envían deberán ser originales, inéditos y no estar postulados de forma simultánea para su publicación en otras revistas u órganos editoriales. Para cumplir con este requisito, el autor podrá descargar de la página electrónica de la revista, el formato de la carta de originalidad: <http://www.revistaiiqb.usac.edu.gt>

La recepción de un trabajo no implica ningún compromiso de la revista para su publicación.

Todos los autores son responsables del contenido; el primer autor asume la responsabilidad intelectual de los resultados del proceso editorial; los autores son responsables de obtener los derechos de autor para reproducir material gráfico o fotográfico de terceros.

Los autores asumen la responsabilidad si se detecta falsificación de datos o falta de autenticidad en la investigación. Se comprometen también a no reutilizar trabajos ya publicados, total o parcialmente.

El primer autor recibirá gratuitamente un ejemplar de la revista, en donde se publicó su trabajo.

## Proceso de dictámen

Todos los trabajos se someten a dos etapas de dictamen:

Una primera lectura por parte del Editor, con objeto de verificar si cubre los requisitos del perfil de la revista.

En caso de ser aceptado, es enviado a dos dictaminadores especialistas en el tema, miembros del Consejo Editorial (arbitraje académico de revisión por pares).

Durante todo el proceso se conservará el anonimato tanto de los dictaminadores como de los autores.

En el caso de discrepancia entre aceptado y rechazado, el texto será enviado a un tercer dictaminador, cuya decisión definirá su estatus de publicación; en este caso.

El dictamen final es inapelable.

## Cesión de derechos

El o los autores conceden el permiso para que su material se difunda en la Revista y medios Electrónicos. Los derechos patrimoniales de los artículos publicados son cedidos a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, tras la aceptación académica y editorial del original para que éste se publique y distribuya tanto en versión impresa como electrónica. El o los autores conservan sus derechos morales conforme lo establece la ley. La carta de cesión de derechos podrá descargarse desde la página electrónica <http://www.revistaiiqb.usac.edu.gt>

La Revista está disponible en acceso abierto en la página <http://www.revistaiqb.usac.edu.gt> <http://www.revistasguatemala.usac.edu.gt>

Todos sus contenidos pueden ser usados gratuitamente para fines no comerciales, dando los créditos a los autores y a la revista.

Los documentos deben ser enviados a la Editora a las siguientes direcciones electrónicas: [revistacientifica@usac.edu.gt](mailto:revistacientifica@usac.edu.gt) [almadariaga1@gmail.com](mailto:almadariaga1@gmail.com)

Los artículos aceptados para su publicación son publicados en Internet en archivo tipo pdf y es de libre acceso. Sitio Web <http://www.revistaiqb.usac.edu.gt> [www.revistasguatemala.usac.edu.gt](http://www.revistasguatemala.usac.edu.gt)

La revista científica pública los siguientes tipos de trabajos: 1) Artículos Originales 2) Artículos de Revisión 3) Cartas al editor. Los artículos de revisión sólo se consideran por invitación.

Los documentos deberán estar escritos a renglón abierto (1.5), con tipo de letra Times, tamaño 12 y numerados en la parte inferior de cada hoja, incluyendo la del título. Deben enviarse por correo electrónico, en formato MS Word. Las figuras y fotos se recibirán en formato jpg. Los cuadros y gráficos se recibirán en formato MS Excel.

### Artículos originales.

Son artículos dirigidos a informar sobre resultados de investigación original en las áreas, de salud, industria, tecnología y ambiente. Se colocará en el siguiente orden:

Título, adscripción institucional de los autores y autor responsable con dirección, teléfono, y dirección electrónica.

Resumen en español (incluir al final cinco palabras claves).

Título y resumen en inglés (incluir al final cinco palabras clave). Extensión 250 palabras, en hojas aparte.

- o Introducción
- o Materiales y métodos
- o Resultados (Tablas, figuras y fotos)
- o Discusión
- o Agradecimientos.
- o Referencias

**Artículos de revisión.** Este apartado tiene como propósito la presentación de artículos de revisión bibliográfica sobre temas relevantes a la salud, industria, tecnología y ambiente. Estos artículos comparan los métodos, resultados y conclusiones de trabajos originales y serán presentados únicamente por invitación. Referencias 65 mínimo.

**Cartas al editor:** Estas cartas son comunicaciones cortas con los objetivos siguientes: 1) Estimular la discusión de los trabajos publicados en la revista científica o escribir críticas constructivas no mayores de dos páginas y en un tiempo no mayor de dos meses después de publicado el artículo en cuestión. 2) Comunicaciones de observaciones científicas breves. En este caso se permite un máximo de tres páginas, una tabla o figura y cinco referencias.

Las citas en el texto, las referencias, tablas y figuras deben elaborarse de acuerdo a las normas de la Asociación Psicológica Americana (APA).

Todos los trabajos deben acompañarse de una carta frontal con el nombre de todos los autores, y direcciones electrónicas.

# Manuscript selection-reviewing of the articles and instructions for authors

The journal is a semiannual academic publication whose objective is to provide the academic and scientific community and researchers with a platform that allows them to address issues related to health, industry, natural resources and technology.

Material offered for publication must be original, inedited and not under simultaneous consideration by any other journal nor published anywhere else. In order to meet these criteria, the author will be able to download the statement of originality format from the website of the journal: <http://www.revistaiiqb.usac.edu.gt>

Submission of a manuscript does not constitute any commitment from the journal to publish the paper. All authors are responsible for the content. The first author assumes intellectual responsibility for the results of the editing process. The authors are responsible for obtaining copyright permission in order to reproduce graphic or photographic material of third parties.

The authors assume responsibility for any falsification of data or fraud in the publication.

They also commit not to re-use previously published material, in whole or in part. The first author will receive a free copy of the journal in which his/her paper was published.

## Manuscript selection

All works undergo two stages of evaluation:

They are first read by the Editorial Board to ensure that the manuscript meets the minimal

standards as required by the journal. If it is accepted, this Editorial Board proposes two reviewers who have knowledge of the field discussed in the manuscript, and to whom the paper will be sent (peer review).

Both reviewers will use a piece of paper where the evaluating aspects will be specified. During the entire process the anonymity of both the reviewers and the authors will be maintained.

In case of discrepancy between the accepted and the rejected papers, the manuscript will be sent out to a third reviewer, whose decision will determine its publication, in this case.

The final decision is irrevocable.

## Copyright transfer agreement

The author(s) grant permission for their paper to be published in the journal and through electronic means. The copyrights of published articles are transferred to the Faculty of Chemical Sciences and Pharmacy of the San Carlos University of Guatemala after academic and editorial acceptance of the original work to be published and distributed, both printed and electronically. The author(s) retain their moral rights according to the law. The Copyright Transfer Agreement form will be available for download in the website <http://www.revista.iqb.usac.edu.gt>

The journal is available to the public for free on the website <http://revistaiiqb.usac.edu.gt>. [www.revistasguatemala.usac.edu.gt](http://www.revistasguatemala.usac.edu.gt)

All its contents can be used for free and for noncommercial uses, giving credits to the

authors and the journal.

The Scientific Journal of the Faculty of Chemical and Pharmaceutical Science is the bulletin of the research activities from the Faculty.

The Scientific Journal provides publishing consideration to all article sent that contains original research material in its totally and has not been published or is not under editorial review in its essential part in any other form of publication in paper or electronic. If it has been published previously partially (example in congress) should be included in the cover letter and at the end of the summary and abstract.

The documents should be sent to the editor to the following e-mail address:  
revistacientifica@usac.edu.gt  
almadariaga@hotmail.com.

Articles accepted to be published are posted on the Internet in a PDF file that is of free access.  
Web Site: <http://www.revistaiiqb.usac.edu.gt>  
<http://www.revistasguatemala.usac.edu.gt>

The Scientific Journal post the following works: 1) Original Articles 2) Review Articles 3) Letters to the editor. Review Articles are considered just as an invitation. Documents must be written in a (1.5 line), font Times, font size 12 and must be numbered at the bottom of each page, including the one where title is located. It must be sent by email in MS Word format. Figures and pictures will be received in JPG format. Charts and graphics will be received in MS Excel format.

**Original Articles:** They're articles addressed to inform about the results of the original investigation in the fields of: health, industry, technology and environment. They will be placed in the following order:

Title, relationship with the authors and responsible author including address, phone,

fax and e-mail. Summary in Spanish language (including five key words at the end) Title and summary in English language (including five key words at the end) length of 250 words in separate sheets.

- Introduction
- Methods and Materials
- Results (tables, graphics and pictures)
- Discussion
- Appreciation
- References

**Review Articles** The purpose of this section is to present bibliographical-review articles regarding outstanding health, industry, technology and environment matters. These articles compare methods, results and conclusions of original works and they will be shown with invitation only.  
65 references

Letters for the editor these letters are short statements with the following objectives: 1) Promulgating discussion regarding works published on the magazine.

**Letters to the editor:** These letters are short memorandums with the purposes of: 1). Stimulate the discussion of published works in the Scientific Magazine or write constructive points of view, no larger than two pages and in a period of time no longer that two months after the article has been published. 2) The communications of short scientific observations. In this case it is permitted threes pages maximum, a spreadsheet or figure and five references.

The quotes in the text, references, spreadsheets and figures have to be elaborated according to the rules of the American Psychological Association, (APA). Every work will have to include a main letter with the name of every author and e-mail addresses.





Universidad de San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia  
Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas  
Edificio T-13, Ciudad Universitaria zona 12  
[www.revistaiqb.usac.edu.gt](http://www.revistaiqb.usac.edu.gt)  
[www.revistasguatemala.usac.edu.gt](http://www.revistasguatemala.usac.edu.gt)