



ALKAHYDROXY
(ALKA VITA)

ESTUDIO ANTIBACTERIAL
en

ESCHERICHIA COLI (ATCC 25922)

STAPHYLOCOCCUS AUREUS (ATCC 25923)

KLEBSIELLA PNEUMONIAE (ATCC 10031)

PSEUDOMONA AERUGINOSA (ATCC 27853)

Marzo, 2007



INTERLAB

International Laboratory References and Services
AV. JUAREZ No. 1049 OTE. LOCAL 15 C.P. 27000
TORREON, COAH. TEL. (571) 718-98-00

**RESULTADOS FINALES DE LAS PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD
ANTIBACTERIAL "IN VITRO" CON EL PRODUCTO ALKAHIDROXY® COMO
AGENTE ANTIMICROBIANO**

MARZO, 18 DE 2007.

PROPÓSITO Y OBJETIVO:

YA QUE EL USO INDISCRIMINADO DE ANTIBIOTICOS, HA PROVOCADO QUE MUCHAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS NO RESPONDAN A LOS TRATAMIENTOS CONVENCIONALES; SE BUSCA DESARROLLAR NUEVAS TERAPIAS ANTIBACTERIANAS QUE SEAN EFECTIVAS E INOCUAS PARA EL SER HUMANO, POR LO TANTO ESPERAMOS:

- 1.- DEMOSTRAR LA ACCION BACTERICIDA DE ALKAHIDROXY®
- 2.- DETERMINAR LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA DE ALKAHIDROXY® SOBRE DIFERENTES CEPAS BACTERIANAS.





INTERLAB

International Laboratory References and Services

AV. JUAREZ No. 1049 OTE. LOCAL 15 C.P. 27000
TORREON, COAH. TEL. (871) 718-96-00

FUNDAMENTO:

LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DEL ALKAHIDROXY® COMO AGENTE ANTIMICROBIANO SE DETERMINO POR TECNICA DE CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI) EXPRESADO EN LA CANTIDAD QUE SE NECESITA PARA INHIBIR EL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS A SER PROBADOS. LA CONCENTRACION MAS BAJA EN LA QUE NO HAY CRECIMIENTO VISIBLE ES LA CMI.

MATERIAL:

I.- EN UNA PRIMERA ETAPA SE UTILIZARON LAS CEPAS DE LAS BACTERIAS GRAM-NEGATIVA *ESCHERICHIA COLI* (ATCC 25922)
GRAM -POSITIVA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (ATCC 25923)
**KLEBSIELLA PNEUMONIAE* (ATCC10031)
**PSEUDOMONA AERUGINOSA* (ATCC 27853)



II.- EN UNA SEGUNDA ETAPA SE UTILIZARON CEPAS DE BACTERIAS RESISTENTES A DIFERENTES ANTIBIOTICOS UTILIZADOS.



INTERLAB

International Laboratory References and Services

AV. JUAREZ No. 1049 OTE. LOCAL 15 C.P. 27000
TORREON, COAH. TEL. (871) 718-96-00

EL MEDIO UTILIZADO:

CALDO MUELLER- HINTON AJUSTADO A UN pH FINAL DE 7.3
ESPECTROFOTOMETRO ESTÁNDAR DE Mc FARLAND 0.5%
MATERIAL USUAL EN DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

METODO:

SE UTILIZARON TUBOS DE VIDRIO CON TAPA DE ROSCA CON 4 mL DE CALDO MUELLER HINTON, A UN pH FINAL DE 7.3 A LOS CUALES SE LES AGREGO 0.5 mL DE ALKAHIDROXY EN DILUCIONES SERIADAS UTILIZANDO COMO BASE ALKAHIDROXY AL 100%. A CADA TUBO SE AGREGO 1 mL DE INOCULO DE LA BACTERIA, AJUSTADO A UNA CONCENTRACION DE 1.5×10^8 a la 8ª EN BASE AL ESTANDAR DE MC FARLAND SE INCUBARON LOS TUBOS 18 HORAS A UNA TEMPERATURA DE 35 C.
SE REALIZO LA DETERMINACION POR TRIPLICADO

SE HICIERON LECTURAS A UNA LONGITUD DE ONDA DE 625 nm ,
Y POSTERIORMENTE SE VERIFICO LA MUERTE BACTERIANA HACIENDO CULTIVOS DE LOS TUBOS EN MEDIOS APROPIADOS PARA TAL FIN.

LAS LECTURAS A 625 nm FUERON LAS SIGUIENTES:

ESCHERICHIA COLI (ATCC 25922)

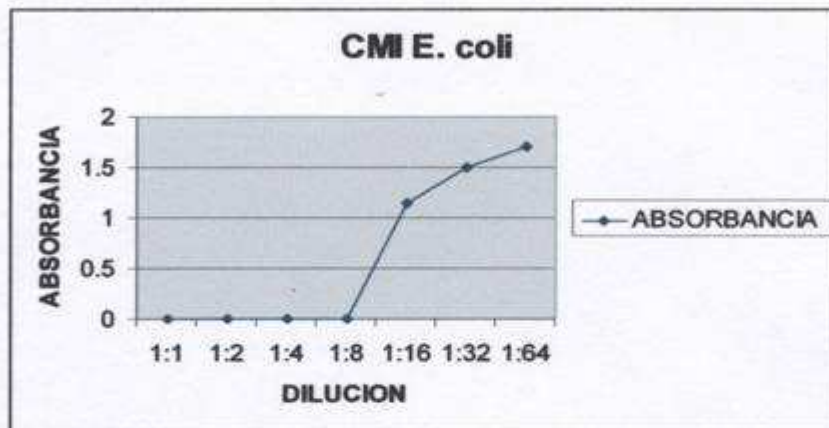
%CONCENTRACION: ALKAHIDROXY®	10%	5%	2.5%	1.25%	0.62%	0.31%	0.15%	
DILUCION:	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	TESTIGO
MUESTRA 1	.008	.005	.001	.004	1.10	1.43	1.60	1.21
MUESTRA 2	.004	.007	.001	.006	1.19	1.55	1.72	1.38
MUESTRA 3	.001	.005	.002	.004	1.18	1.53	1.82	1.28
DESARROLLO PROMEDIO	.004	.005	.001	.005	1.15	1.50	1.71	1.29
%INHIBICION	99.7%	99.6%	99.9%	99.6%	12%	+	+	



INTERLAB

International Laboratory References and Services

AV. JUAREZ No. 1049 OTE. LOCAL 15 C.P. 27000
TORREON, COAH. TEL. (871) 718-06-00



STAPHYLOCOCCUS AUREUS (ATCC 25923)

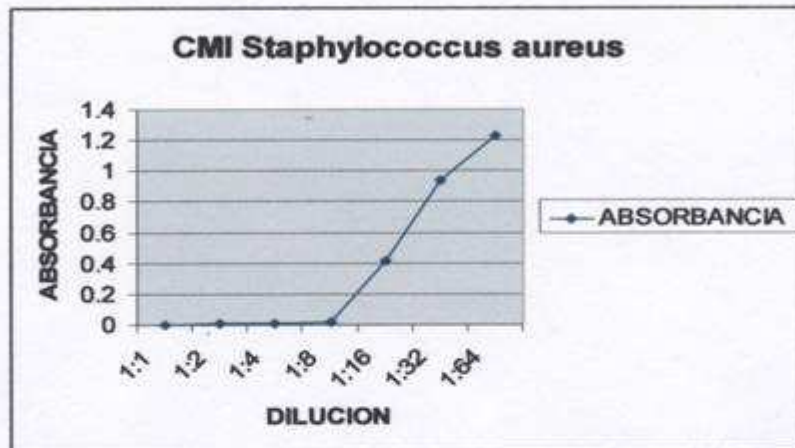
%CONCENTRACION: ALKAHIDROXY®	10%	5%	2.5%	1.25%	0.62%	0.31%	0.15%	
DILUCION	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	TESTIGO
MUESTRA 1	.005	.003	.008	.014	0.412	0.954	1.12	1.15
MUESTRA 2	.003	.007	.009	.020	0.395	0.938	1.25	1.32
MUESTRA 3	.004	.012	.004	.019	0.443	0.929	1.32	1.28
DESARROLLO PROMEDIO	0.004	0.007	0.007	0.017	0.416	0.940	1.23	1.25
%INHIBICIÓN	99.7%	99.4%	99.4%	98.6%	66.7%	24.8%	1.6%	



INTERLAB

International Laboratory References and Services

AV. JUAREZ No. 1049 OTE. LOCAL 15 C.P. 27000
TORREON, COAH. TEL. (871) 718-66-00



** EL CRECIMIENTO PRIMARIO DE LAS CEPAS DE **KLEBSIELLA PNEUMONIAE* (ATCC10031) Y DE **PSEUDOMONA AERUGINOSA* (ATCC 27853), FUE NULO, POR LO QUE SE HICIERON RESIEMBRAS EN DIFERENTES MEDIOS CON EL MISMO RESULTADO, POR LO QUE ES DE SUPONER QUE EL MEDIO DE TRANSPORTE DE LA CEPA VIENE MAL, POR LO QUE SE PIDIO SE CAMBIARA DE OTRO LOTE. POSTERIORMENTE PROCEDEREMOS A PROBARLAS, CON EL MISMO PROTOCOLO ANTERIOR.



INTERLAB

International Laboratory References and Services

AV. JUAREZ No. 1049 OTE. LOCAL 15 C.P. 27000
TORREON, COAH. TEL. (871) 718-96-00

II.- EN UNA SEGUNDA ETAPA, SE UTILIZARON CEPAS AISLADAS DE PACIENTES INTERNADOS EN LA CLINICA HOSPITAL No 16 DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL DE ESTA CIUDAD, CON DIFERENTES PADECIMIENTOS INFECCIOSOS, LAS CUALES MOSTRARON RESISTENCIA A DIFERENTES ANTIBIOTICOS PROBADOS POR EL METODO DE KIRBY BAUER.

EL MEDIO UTILIZADO:

CALDO MUELLER- HINTON AJUSTADO A UN pH FINAL DE 7.3
ESPECTROFOTOMETRO ESTÁNDAR DE Mc FARLAND 0.5%.
MATERIAL USUAL EN DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

METODO:

SE UTILIZARON TUBOS DE VIDRIO CON TAPA DE ROSCA CON 4 mL DE CALDO MUELLER HINTON, A UN pH FINAL DE 7.3 A LOS CUALES SE LES AGREGO 0.5 mL de ALKA-HIDROXY EN DILUCIONES SERIADAS UTILIZANDO COMO BASE ALKAHIDROXY AL 100%. A CADA TUBO SE AGREGO 1 mL DE INOCULO DE LA BACTERIA AJUSTADO A UNA CONCENTRACION DE 1.5×10^8 a la 8^{a} EN BASE AL ESTANDAR DE MC FARLAND SE INCUBARON LOS TUBOS 18 HORAS A UNA TEMPERATURA DE 35 C.

SE REALIZO LA DETERMINACION POR TRIPLICADO.

SE HICIERON LECTURAS A UNA LONGITUD DE ONDA DE 625 nm ,Y POSTERIORMENTE SE VERIFICO LA MUERTE BACTERIANA HACIENDO CULTIVOS DE CADA TUBO EN MEDIOS APROPIADOS PARA TAL FIN.



INTERLAB

International Laboratory References and Services

AV. JUAREZ No. 1049 OTE. LOCAL 15 C.P. 27000
TORREON, COAH. TEL (871) 718-96-00

LAS LECTURAS A 625 nm FUERON LAS SIGUIENTES:

A).- ESCHERICHIA COLI RESISTENTE A:

AMIKACINA (constr: 30 mcg), CEFOTAXIMA (constr: 30 mcg) , CIPROFLOXACINA (constr: 5 mcg), CLORANFENICOL (constr: 30 mcg), GENTAMICINA (constr: 10 mcg) , NETILMICINA (constr: 30 mcg), SULFAMETOXASOL-TRIMETROPIN (constr: 25 mcg), NITROFURANTOINA (constr: 300 mcg).



CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI) CON ALKAHIDROXY

%CONCENTRACION: ALKAHIDROXY®	10%	5%	2.5%	1.25%	0.62%	0.31%	0.15%	
DILUCIÓN	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	TESTIGO
MUESTRA 1	.0012	.0021	.019	.143	.168	0.203	0.292	0.302
MUESTRA 2	.0018	.0019	.017	.152	.172	0.215	0.275	0.298
MUESTRA 3	.0010	.0010	.016	.138	.178	0.202	0.283	0.300
DESARROLLO PROMEDIO	.0010	.0016	.017	.144	.172	.206	.283	0.300
%INHIBICIÓN	99.7%	99.5%	94.3%	52%	42.6%	31.3%	5.66%	



INTERLAB

International Laboratory References and Services

AV. JUAREZ No. 1048 DTE. LOCAL 15 C.P. 27000
TORREON, COAH. TEL. (871) 718-96-00

B).- STAPHYLOCOCCUS AUREUS, RESISTENTE A:

CEFALOTINA (constr: 30 mcg), CIPROFLOXACINA (constr: 5 mcg), DICLOXACILIN (constr: 1 mcg), ERITROMICINA (constr: 15 mcg), GENTAMICINA (constr: 10 mcg), PENICILINA (constr: 10 u), VANCOMICINA (constr: 30 mcg), SULFAMETOXASOL TRIMETROPIN (constr: 25 mcg).



CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI) CON ALKAHIDROXY.

%CONCENTRACION: ALKAHIDROXY®	10%	5%	2.5%	1.25%	0.62%	0.31%	0.15%	
DILUCION	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	TESTIGO
MUESTRA 1	.039	.034	.025	.124	.127	.133	.129	0.158
MUESTRA 2	.028	.030	.020	.132	.133	.135	.127	0.152
MUESTRA 3	.032	.027	.029	.128	.129	.130	.133	0.145
DESARROLLO PROMEDIO	.033	.030	.024	.128	.129	.132	.129	0.151
%INHIBICIÓN	78.1%	80.1%	84.1%	15.2%	14.6%	12.6%	14.6%	



INTERLAB

International Laboratory References and Services

AV. JUAREZ No. 1049 OTE. LOCAL 15 C.P. 27000
TORREON, COAH. TEL. (871) 718-06-00

C).- PSEUDOMONA AERUGINOSA RESISTENTE A:

CARBENICILINA (constr: 100mcg), CIPROFLOXACINA (constr: 5 mcg), CEFOTAXIMA (constr: 30 mcg), GENTAMICINA (constr: 10 mcg), AMIKACINA (constr: 30 mcg), NITROFURANTOINA (constr: 300 mcg), IMIPENEM (constr:), PIPERAZILINA-TAZOBACTAM (constr:).



CONCENTRACION MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) CON ALKAHIDROXY

%CONCENTRACION: ALKAHIDROXY®	10%	5%	2.5%	1.25%	0.62%	0.31%	0.15%	
DILUCION	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	TESTIGO
MUESTRA 1	.012	.019	.048	.673	.557	.594	.658	0.560
MUESTRA 2	.008	.020	.042	.652	.562	.613	.712	0.584
MUESTRA 3	.015	.025	.038	.662	.584	.622	.722	0.572
DESARROLLO PROMEDIO	.011	.021	.042	.662	.567	.609	.697	0.572
%INHIBICIÓN	98.0%	96.3%	92.6%	+	0.9%		+	+



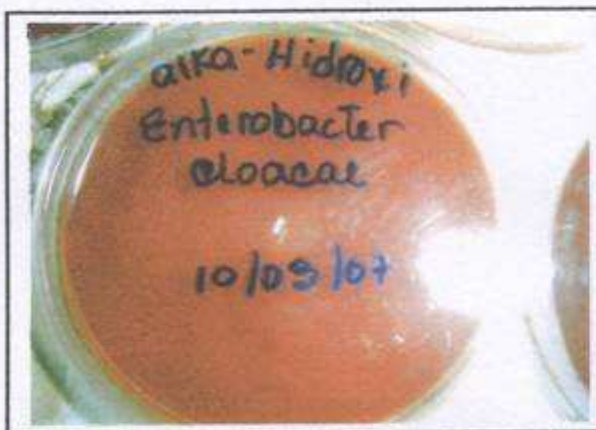
INTERLAB

International Laboratory References and Services

AV. JUAREZ No. 1049 OTE. LOCAL 15 C.P. 27000
TORREON, COAH. TEL. (871) 718-96-00

D).- ENTEROBACTER CLOACAE RESISTENTE A:

AMIKACINA (constr: 30 mcg), NETILMICINA (constr: 30 mcg), CEFOTAXIMA (constr: 30 mcg), CIPROFLOXACINA (constr: 5 mcg), CLORANFENICOL (constr: 30 mcg), GENTAMICINA (constr: 10 mcg), NETILMICINA (constr: 30 mcg), NITROFURANTOINA (constr: 300 mcg).



CONCENTRACION MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) CON ALKAHIDROXY

%CONCENTRACION: ALKAHIDROXY®	10%	5%	2.5%	1.25%	0.62%	0.31%	0.15%	
DILUCION	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	TESTIGO
MUESTRA 1	.048	.042	.079	.152	.162	.210	.294	0.312
MUESTRA 2	.040	.038	.071	.162	.184	.232	.312	0.322
MUESTRA 3	.029	.037	.082	.159	.175	.222	.305	0.314
DESARROLLO PROMEDIO	.039	.039	.077	.157	.173	.221	.303	0.316
%INHIBICIÓN	87.6%	87.6%	75.6%	50.3%	45.2%	30%	4.1%	

Las pruebas anteriores fueron realizadas en las instalaciones de INTERLAB S.A. ubicadas en Av. Juárez N° 1049 Ote. De la ciudad de Torreón Coahuila, México por:

QFB. IRENE LOPEZ LOZOYA

Ced. Prof. N° 408460



REFERENCIAS:

1. Loran, V. (ed.), 1986. Antibiotics in laboratory medicine, 2nd ed. Williams and Wilkins, Baltimore.
2. McFarland, J. 1907. The nephelometer: an instrument for estimating the numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. J. Am. Med. Assoc. 49:1176-1178.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A. S. Weissfeld. 1998. bailey and Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby , Inc., St. Louis.
4. Nacional Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard: M7-A4, Méthods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 4th ed. Nacional Committe for Clinical Laboratory Standard, Wayne, Pa.
5. Nacional Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard: M2-A6. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 6th ed. Nacional committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
6. Nacional Committee for Clinical Laboratory Standards. 1997. Approved Standard: M11-a4 ed. Méthods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 4th ed. Nacional Committe for Clinical Laboratory Standards, Wynw, Pa.