

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

**INHIBICIÓN DE BACTERIAS PATOGENAS POR SIETE
PLANTAS NATIVAS DEL DEPARTAMENTO DE
ALTA VERAPAZ
PARA EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES**

Compendio de Tesis

Presentado por

María Isabel Deleon Rojas

Para optar el título de

QUÍMICO BIÓLOGO

Guatemala, abril de 1995

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

03
T(1656)
00 3

**JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO: Lic. Jorge Rodolfo Perez Folgar

SECRETARIO: Lcda. Eleonora Gaytán

VOCAL I: Lic. Manuel Angel Herrera

VOCAL II: Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán

VOCAL III: Lic. Miguel Orlando Garza Sagastume

VOCAL IV: Br. Jorge Luis Galindo Arévalo

VOCAL V: Br. Edgar Antonio García del Pozo

TESIS QUE DEDICO:

A DIOS

A MARÍA LA VIRGEN

A MIS PADRES Y HERMANOS

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS

A MI PATRIA GUATEMALA

AGRADECIMIENTO

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

A LA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

AL DEPARTAMENTO DE CITOLOGÍA Y DE MICROBIOLOGÍA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

AL INSTITUTO DE NUTRICIÓN DE CENTROAMÉRICA Y PANAMÁ (INCAP)

AL LABORATORIO Y DROGUERÍA DE PRODUCTOS
FITOFARMACEUTICOS (FARMAYA)

AL LIC. ARMANDO CÁCERES ESTRADA, Por la asesoría brindada en la
realización del presente trabajo

A MIS PADRES Y HERMANOS

A MIS COMPAÑEROS

INDICE

	Página
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCION	3
3. ANTECEDENTES	4
3.1 Monografía de Alta Verapaz	4
3.2 Medicina Tradicional en Alta Verapaz	5
3.3 Importancia de las Plantas Medicinales	7
3.4 Actividad Antibacterina <i>in vitro</i>	10
3.5 Bacterias Objeto de Estudio	13
3.6 Descripción de las Plantas de Estudio	22
4. JUSTIFICACIONES	31
5. OBJETIVOS	32
6. HIPOTESIS	33
7. MATERIALES Y METODOS	34
7.1 Universo de Trabajo	34
7.2 Muestra	34
7.3 Medios	35
7.4 Procedimiento	37
7.5 Análisis Estadístico	39
8. RESULTADOS	42
9. DISCUCION DE RESULTADOS	45
10. CONCLUSIONES	47
11. RECOMENDACIONES	49
12. REFERENCIAS	50
13. ANEXOS	56

1. RESUMEN

El presente estudio se dividió en dos etapas, en la primera etapa se demostró la acción inhibitoria *in vitro* de siete extractos etanólicos de plantas originarias de Alta Verapaz obtenidos por maceración y recambio de solvente con una concentración de 100 mg/ml, con el propósito de determinar la efectividad de dichas plantas contra cuatro bacterias Gram-negativo causantes de infecciones en piel y gastrointestinales siendo éstas: *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. flexnerii* y *S. typhi* y dos bacterias Gram-positivo causantes de infecciones respiratorias superiores, *S. aureus* y *S. pyogenes*, utilizando el método de dilución de Mitscher. Se observó que todos los extractos de las plantas en estudio a excepción de *A. ciliatum* mostraron actividad inhibitoria *in vitro* por lo menos contra un microorganismo del estudio. Dos plantas (*C. chiapensis* y *E. lancifolia*) mostraron actividad antibacteriana contra todos los microorganismos del estudio exceptuando a *S. pyogenes* el cual mostró resistencia. Unicamente *E. semialatum* mostró actividad inhibitoria *in vitro* contra todos los microorganismos del estudio.

En la segunda etapa, se realizaron diluciones de 5 y 2.5 mg/ml de los extractos etanólicos que presentaron actividad antibacteriana *in vitro* en el tamizaje, con el fin de encontrar la concentración inhibitoria mínima contra las bacterias más activas. Observándose que *R. alpinia* y *P. maculata* no mostraron actividad

antibacteriana positiva a estas concentraciones, mientras que *N. lobata* únicamente mostró actividad antibacterina contra *S. pyogenes* a una concentración de 5 mg/ml, a igual concentración *C. chiapensis* mostró actividad antibacteriana únicamente contra *S. aureus*. El extracto etanólico de *E. lancifolia* mostró actividad inhibitoria *in vitro* a una concentración de 5 mg/ml contra *P. aeruginosa* y a la concentración de 2.5 mg/ml contra *S. typhi*. Todos los microorganismos del estudio exceptuando a *P. aeruginosa* fueron inhibidos a concentraciones menores de 2.5 mg/ml por el extracto etanólico de *E. semialatum*, donde *S. aureus* y *S. typhi* fueron inhibidos hasta una concentración de 1.0 mg/ml.

2. INTRODUCCIÓN

El grupo étnico K'ekchi del departamento de Alta Verapaz, se ha caracterizado por un profundo conocimiento de la flora medicinal, según lo manifiesta Dieseldorff (1). Actualmente se está valorizando el uso de plantas medicinales usadas en el tratamiento de infecciones para demostrar el nivel en eficacia de esta " medicina ancestral".

En el presente estudio se pretende comprobar la veracidad de lo anteriormente expuesto a través de la demostración de la acción antibacteriana *in vitro* de siete plantas nativas utilizadas para el tratamiento de infecciones a las cuales se les atribuyen propiedades medicinales siendo éstas: *Arthrostemma ciliatum*, *Catopheria chiapensis*, *Euphorbia lancifolia*, *Eupatorium semialatum*, *Neurolaena lobata*, *Renealmia alpinia* y *Polymnia maculata*, contra cuatro bacterias Gram negativo causantes de infecciones en piel y gastrointestinales, igualmente dos cepas bacterianas Gram positivo, causantes de infecciones respiratorias superiores.

Para la evaluación antibacteriana de las plantas se utilizó la técnica de Mitscher que consiste en un método de dilución en agar inoculado por estrías, realizando primero un tamizaje de la actividad con los extractos para luego determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM)(2).

3. ANTECEDENTES

3.1 Monografía del Departamento de Alta Verapaz

Extensión territorial : Aproximadamente 8,686 Km².

Población absoluta estimada: 539,375 habitantes (3).

Cabecera Departamental: Cobán (1,317 mts. Sobre el nivel del mar).

Municipios: San Pedro Carchá, San Juan Chamelco, Senahú, Tactic, La Tinta y San Cristóbal Verapaz (4).

El territorio del departamento de Alta Verapaz es de topografía quebrada, sobre todo en la parte Norte. Sin embargo, la erosión no ha hecho mayores estragos por reducción de la capa fértil natural de los suelos gracias a que en Alta Verapaz raramente se registran lluvias torrenciales, siendo común una lluvia constante (llamada "chipi - chipi") que mantiene la tierra, sin lavar sus materiales orgánicos y otros elementos de su fertilidad.

Es característica especial de este departamento la formación de grandes embudos por sus numerosas montañas, cerros y hondonadas. Igualmente es común que dichos embudos no tengan salidas naturales y terminen en "siguanes" (barrancos) que sirven de resumideros a las aguas pluviales y la existencia de numerosos ríos subterráneos, que afloran algunas veces, atraviesan un valle y vuelven a desaparecer en la montaña (4).

Por su configuración topográfica el departamento de Alta Verapaz tiene una gama de climas muy diferentes que van desde

cálido a frío por lo que son propicios para acoger cultivos muy variados como café, maíz, frijol, cardamomo, té, chile, cacao, legumbres, pimienta, etc (4).

En el renglón industrial, la actividad más generalizada es la orfebrería, destacando además fábricas de calzado y de sacos de yute; en menor escala, aunque de importancia económica, figuran pequeñas artesanías y una procesadora de té (4).

La actividad minera en Alta Verapaz es de importancia significativa debido a la explotación de plomo, zinc y especialmente petróleo, es de esperar que la explotación de petróleo llegue a los niveles comerciales que los expertos han calculado para esta región, y de ser así, la región cobrará un impulso económico de dimensiones impredecibles (5).

3.2 Medicina tradicional en Alta Verapaz

El departamento de Alta Verapaz posee un rico acervo de conocimientos populares, obtenidos de una herencia cultural mágico-religiosa acumulados a través de su historia con respecto a las creencias, prácticas y recursos médicos. Se puede decir que cada grupo social o étnico ha seleccionado sus elementos y los ha jerarquizado de acuerdo con sus necesidades las cuales han sido condicionadas por el ambiente y su cultura (6).

En 1940 Erwin Dieseldorff logra ganarse la confianza de los indígenas que viven en el departamento de Alta Verapaz que pertenecen a la raza K'ekchí, entre los que hay regular número de curanderos generalmente de avanzada edad, que han aprendido las

propiedades curativas de las plantas y poseedores de los misterios de la naturaleza, estas personas durante siglos han venido transmitiéndose de generación en generación las propiedades de la flora medicinal y curativas de las plantas, siendo discípulos unos de otros, logrando profundos y bastos conocimientos durante su larga práctica. Es así como Dieseldorff enumera 48 plantas y describe la historia de cómo los curanderos hacían uso de éstas plantas medicinales (1).

En la vida de los indígenas, el curandero juega hoy en día el papel más importante, si tiene buen éxito en sus curaciones, cobrando no sólo fama en su vecindad, sino en todo el departamento.

Las plantas que el conoce y emplea son generalmente las de su propio área, tal parece que aún no conocen procedimientos de conservación en estado seco, por lo que las busca y las usa frescas, siendo el mismo quien compone la poción que entrega a sus enfermos. Como es natural, él nunca divulga la composición de la medicina a sus enfermos, para no dar lugar a que ellos mismos puedan proporcionársela y eventualmente perder el respeto, admiración y poder, que el oficio de curandero conlleva, aconsejando a su clientela que no deben de ir a buscar las plantas medicinales, porque las culebras las protegen, permitiendo sólo a los curanderos cortarlas (1).

Generalmente los curanderos mezclan lo religioso con sus prácticas de curaciones, así lo hemos visto a través de la historia de los pueblos y Alta Verapaz no es una excepción, por lo que aún hoy en día acompañan a sus prácticas para que tengan éxito, la

ayuda e intervención divina y por eso no principian ninguna cura sin una invocación, haciendo a la vez la señal de la cruz sobre la parte afectada. Hay curanderos que retienen en la memoria una lista larga y específica, usando por ejemplo, para cada mordida de serpiente una planta especial, y como generalmente usan varias plantas, entre las cuales se encuentra la que es eficaz, alcanzando de esta manera el éxito, lo anteriormente expuesto motivó la creencia que para cada mordedura de serpiente o enfermedad hay una planta específica; la hierba generalmente debe asemejarse a la serpiente, ya sea en el color o en las marcas de la piel. Los curanderos de preferencia emplean plantas que a su modo de pensar se asemejan a la parte afectada, atribuyendo al dios bueno de su teogonía pagana, o a el dios del cerro, que los k'ekchies llaman Tzultacá, el hecho que la forma del cerro y de la planta coincidan en algo para que el curandero reconozca el uso que pueda darle (1).

El conocimiento de las plantas medicinales es un secreto profesional, celosamente guardado por los curanderos que solamente es divulgado entre personas de su misma jerarquía, de su entera confianza y sobre todo en aquellos casos en que les pueden dar informes acerca de otras plantas que ellos desconocen (1).

3.3 Importancia de las Plantas Medicinales

La herbolaria ha sido desde siglos el recurso básico de la medicina tradicional en Guatemala. El cronista de la época de la conquista, Bernardo de Sahagún como , hace referencia a la cantidad

de plantas encontradas en América, las cuales no sólo eran utilizadas, sino habían sido debidamente catalogadas de acuerdo a sus diferentes usos, tales como medicinales, alimenticias, forrajeras, ornamentales e incluso rituales (6).

Los conocimientos de la variedad de plantas medicinales existentes en Mesoamérica en la época prehispánica se enriqueció con los aportes peninsulares traídos por los conquistadores junto con un cúmulo de creencias sobre su utilización (6).

Las condiciones ecológicas del istmo mesoamericano y el respeto por las bondades terapéuticas de las diferentes plantas provocaron el desarrollo del conocimiento sobre el cultivo, recolección y uso de las plantas medicinales (6).

Consecuencia de esto, en Guatemala se han llevado a cabo algunos estudios sobre plantas medicinales entre las cuales se pueden citar: " Las Plantas Medicinales de Guatemala " por: Mejía (1927) (7); "Las Plantas Medicinales del departamento de Alta Verapaz" por Dieseldorff (1940), en donde describe la flora medicinal del lugar, haciendo un importante esfuerzo al clasificarla y anotar su uso y nombre en lengua k'ekchí (1); "La Flora de Guatemala" por Standley y colaboradores (1946-74), representa la más completa obra sobre botánica guatemalteca confiable, (aunque en la práctica se ha encontrado que aún esta monumental obra está incompleta) (8); "Relación de unos Aspectos de la Flora útil de Guatemala" por Aguilar-Girón (1966), este extenso trabajo describe a profundidad las principales especies botánicas

de utilidad y potencial económico para el país, en que se incluye un análisis muy completo sobre su composición y contenidos (9).

Publicaciones recientes incluyen estudios médicos, tales como: Etnobotánica por CEMAT (1980) donde 150 plantas medicinales del centro y occidente de Guatemala son enumeradas (10,11), Estudios de Etnomedicina por Villatoro (1984) en la que describe el desarrollo histórico y sociocultural de la Medicina Tradicional en Guatemala (6).

Barahona en 1986, investiga la actividad de 14 plantas contra *Trichomonas vaginalis*, encontrando que cuatro de ellas poseen actividad inhibitoria *in vitro* (12).

Y en 1987 Cáceres *et al.*, investigan la actividad diurética de 67 plantas como un mecanismo de depuración bacteriana habiendo encontrado que 14 de ellas elevan significativamente el volumen urinario (13). Ese mismo año realizan un trabajo de tamizaje de la actividad antimicrobiana de plantas, para el tratamiento de enfermedades dermatomucosas, de uso popular en Guatemala en el cual se incluyeron 89 plantas de las cuales el 31.5 por ciento mostraron actividad inhibitoria *in vitro* (14); en 1990 evaluaron 84 plantas usadas también en Guatemala para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales donde el 40.48 por ciento de las plantas estudiadas poseían efecto inhibitorio sobre una o más de las enterobacterias estudiadas (15); y en 1991 evaluaron 68 plantas medicinales usadas para el tratamiento de infecciones respiratorias contra bacterias gram positivo de las cuales el 41.20 por ciento de

las plantas inhibieron el crecimiento de una o más de las bacterias probadas (16).

Estos numerosos estudios y otros más corroboran la riqueza e importancia de la flora medicinal usada en la región para el tratamiento de enfermedades infecciosas (1,6-16).

3.4 Actividad antibacteriana *in vitro*.

El uso de técnicas microbiológicas modernas demuestran que las plantas frecuentemente exhiben una potencia significativa contra bacterias patógenas al hombre. La actividad antimicrobiana de las plantas puede ser detectada observando el crecimiento de los microorganismos que se ponen en contacto con los extractos obtenidos de las plantas (2,17). Los extractos de las plantas son usualmente preparados por la percolación o dilución del polvo seco de éstas con agua o bien con solventes orgánicos (18).

3.4.1 TÉCNICA DE DIFUSIÓN

En la técnica de difusión se utilizan discos que contienen el extracto de la planta que se va a probar, primeramente se pone el disco en contacto en el medio inoculado con el microorganismo y después de la incubación se procede a medir el diámetro de la zona al rededor de la placa. Los discos pueden ser de papel filtro, porcelana, o bien se pueden utilizar cilindros de acero inoxidable o agujeros hechos en el agar (17-19).

Esta técnica no es recomendable usarla para muestras, cuando no son altamente solubles en agua, tal es el caso de los aceites

esenciales o extractos no polares. Por otra parte algunos compuestos solubles en agua poseen una alta difusión y muy baja actividad antimicrobiana (18).

Las ventajas de esta técnica, es que se utilizan cantidades pequeñas de extracto que se pueden probar hasta seis extractos diferentes contra un sólo microorganismo. Esta técnica es recomendable para el tamizaje preliminar de sustancias puras (alcaloides, flavanoides), utilizando agar Mueller-Hinton ya que este proporciona un crecimiento satisfactorio para la mayoría de patógenos humanos. Además deben utilizarse cepas de bacterias provenientes de Colección de Cultivo Tipo Americano (ATCC). Y no se recomienda utilizarse con esta técnica microorganismos patógenos asilados de pacientes (19).

3.4.2 TÉCNICA DE DILUCIÓN

Las técnicas de dilución son aquellas que requieren de una dispersión homogénea de la muestra en agar. Se usan para determinar principalmente los valores de concentración inhibitoria mínima (CIM) de un extracto, aceite esencial o una sustancia pura, y en el tamizaje preliminar de la actividad antimicrobiana (19).

En la técnica de dilución en agar se mezcla una cantidad del extracto antimicrobiano con el agar nutritivo y se deja reposar (19).

Ríos *et al*, en 1988 efectuó una revisión de la literatura donde compara los métodos antibacterianos para el tamizaje de productos naturales, en el cual evaluó las ventajas, desventajas y menciona estudios realizados anteriormente con esta técnica: Entre

las ventajas de la técnica está la simpleza, rapidez y la posibilidad de estudiar hasta 8 microorganismos en una sola caja de Petri, y los resultados obtenidos con este método son equivalentes a aquellos obtenidos con los métodos de difusión y dilución en medio líquido Mitscher *et al* (1972). Barón y Bruckner (1984) comprobaron la susceptibilidad de bacterias anaerobias usando la técnica de dilución en agar y la técnica microdilución en caldo para comparar los CIM de algunos antibióticos de amplio espectro (Cloranfenicol, Penicilina, Clindamicina, etc.) utilizando 110 bacterias anaerobias, los CIM determinados por los dos métodos eran similares. Gabrielyan *et al.* (1985) estudió la sensibilidad de 8 antibióticos con 200 cepas de *P. aeruginosa* aisladas de pacientes hospitalizados utilizando los métodos de dilución en agar y difusión, obteniendo resultados similares con ambos métodos (17-19).

Utilizando la técnica de dilución en agar Mitscher realizó un estudio de tamizaje con más de 1000 extractos de plantas y encontró que el 26 por ciento de éstas tenían acción antibacteriana (2).

La técnica de dilución en agar es la más conveniente para ser implementado en laboratorios pequeños donde se carece de autoclave ya que es muy difícil preparar extractos estériles de plantas sin el uso de ésta, y se tiene la ventaja que se obtienen extractos etanólicos libre de contaminantes, sólo en este método se pueden utilizar extractos no estériles ya que los microorganismos aeróbicos son incapaces de desarrollarse abajo del agar solidificado y la contaminación ocasional en el cultivo que se

desarrolla en la superficie del agar se reconoce fácilmente mediante la incubación de estas 24 horas antes de su inoculación con los microorganismos de estudio (17-19).

La técnica de Mitscher establece la cantidad de muestra necesaria, la cual no puede ser mayor de 1 mg en 1 ml de agar. Las muestras que resulten activas deben ser re-ensayadas a una concentración de 0.1 mg de extracto en 1 ml de agar, en ese caso los extractos con pequeñas cantidades de agente antimicrobiano serán inactivas y deberán ser eliminados (19).

Tomando en cuenta las propiedades mencionadas la técnica de dilución en agar parece ser el más conveniente para ensayos de rutina con muestras complejas como extractos de plantas (18,19)

3.5 Bacterias objeto de estudio

3.5.1 BACTERIAS GRAM NEGATIVO

3.5.1.1 *Escherichia coli*

E. coli es un bacilo gram negativo capaz de crecer en condiciones aerobias o anaerobias en medio simple, no forma esporas, la mayoría de estas cepas tienen flagelos y por lo tanto son móviles (20-25).

La capacidad de *E. coli* para causar enfermedad no está restringida a ningún serotipo de la bacteria sino a la capacidad de producir una exotoxina termolábil y otra termoestable transmitidas genéticamente por medio de los plásmidos, los cuales además de que contienen genes para las exotoxinas, también poseen genes con

factores que facilitan la colonización y la adherencia de cepas de *E. coli* al epitelio intestinal (24,25).

3.5.1.1.1 Patogenicidad

E. coli es un microorganismo que interviene en infecciones urinarias, peritonitis, apendicitis y en infecciones en la vesícula biliar y vías biliares, en conjunción con otras bacterias entéricas. También suele hallarse en la piel del perineo y en los genitales infectando con frecuencia pequeñas heridas que se contaminan con orina y con heces (21).

Además *E. coli* se asocia por lo menos con cuatro tipos de infecciones humanas entéricas que incluyen cepas enteropatógenas, enterotoxigénicas, enteroinvasivas y enterohemorrágicas (23).

Las cepas de *E. coli* enterotoxigénicas causan diarrea secretoria debido a la elaboración de toxinas. Típicamente causa diarrea acuosa, profusa y están frecuentemente implicadas en casos de diarrea en viajeros (23).

E. coli enteroinvasiva causa un síndrome similar al de la infección por *Shigella*. Los pacientes con infección por esta cepa van a excretar heces con sangre, moco y abundantes leucocitos polimorfonucleares (20,23).

La colitis hemorrágica es recientemente reconocida como una infección entérica debido a cepas de *E. coli* de un serotipo específico O157:H7. Estas cepas causan diarrea severa caracterizada por heces sanguinolentas, y producen una citotoxina que parece ser idéntica a la toxina de shiga de *Shigella dysenteriae* (22,23).

3.5.1.1.2 Tratamiento

La mayoría de las cepas de *E. coli* son sensibles a las sulfamidas, ampicilina, cefalosporinas, tetraciclinas, y carbencilina. La doxacilina tiene gran valor profiláctico en las diarrea a causa de *E. coli* enterotóxigenica. El subsaliciato de bismuto proporciona alivio sintomático pero no tiene efecto sobre el volumen total de la materia fecal. No se ha demostrado la eficacia de agentes antiperistálticos como los anticolinérgicos o el difenoxilato en las diarrea por *E. coli* (22-26).

3.5.1.2 *Salmonella typhi*

Es un bacilo gram negativo, móvil, no fermenta la lactosa o sacarosa, utilizan la glucosa en forma oxidativa y fermentativa produciendo ácido pero no gas (21-25).

3.5.1.2.1 Patogenicidad

S. typhi causa un amplio rango de infecciones entéricas humanas desde enterocolitis autolimitante severa con o sin bacteremia, hasta fiebre tifoidea (27).

El prototipo de la fiebre entérica es la producida por *S. typhi*. La fiebre tifoidea, contraída por la ingestión de alimentos o aguas contaminadas, suele empezar de modo insidioso, tras un período de incubación de 7 a 14 días, con malestar, anorexia y cefalea, seguidas de fiebre. Esta última aumenta a menudo gradualmente y se acompaña de bradicardia relativa.

Los bacilos de la tifoidea llegan al intestino delgado poco después de su ingestión y se desarrollan allí, posteriormente pueden perforar la mucosa y penetrar a los vasos linfáticos para ser transportados en la sangre y causar peritonitis (25,27).

3.5.1.2.2 Tratamiento

En las fiebres entéricas y en las septicemias producidas por salmonelas, el cloranfenicol es el fármaco de mayor uso a pesar de su elevada toxicidad; habiéndose detectado cepas de *Salmonella* resistentes al mismo. También puede emplearse ampicilina, trimetoprim sulfametoxazol sustancias menos tóxicas, pero de menor efectividad. Aunque la respuesta al tratamiento es generalmente rápida se producen recaídas a menos de que el paciente sea tratado durante un mínimo de 2 semanas, ya que los microorganismos causales tienden a sobrevivir dentro de las células fagocíticas (22,25).

Mientras que las fiebres entéricas y bacteremias con lesiones focales requieren un tratamiento antimicrobiano, la mayor parte de casos de enterocolitis no lo requieren, ya que la excreción podría prologarse por la acción de los antimicrobianos. Algunos portadores crónicos se han curado con ampicilina, pero en la mayoría de los casos el tratamiento antibiótico conjuntamente con la colesistectomía (23,25).

3.5.1.3 *Shigella flexnerii*

Es un bacilo gram negativo, inmóvil, anaerobio facultativo, no fermenta la lactosa, pero si otros carbohidratos produciendo ácido pero no gas, se ha sugerido que podrían tener un antígeno

termolábil que las recubre, a pesar de que no poseen cápsula demostrable (20-25,27).

3.5.1.3.1 Patogenicidad

S. flexnerii produce lesiones en el conducto gastrointestinal que se limitan generalmente a la porción terminal del íleon y el cólon; estas lesiones son principalmente ulceraciones de la mucosa, cubiertas por una pseudomembrana formada por leucocitos polimorfonucleares, restos celulares y bacterias englobadas en una trama de fibrina (27).

La disentería por *S. flexnerii* se caracteriza, por dolor abdominal, diarrea con moco y sangre además de fiebre, la aparición repentina tiene un período de incubación de 1 a 4 días. Cuando la diarrea es grave, la pérdida de líquidos y sales puede causar deshidratación y desequilibrio hidroelectrolítico, particularmente en los niños (23,26).

3.5.1.3:2 Tratamiento

En casos de individuos con procesos graves, los niños de corta edad o adultos debilitados, se recomienda un tratamiento antibiótico acompañado de la administración intravenosa de líquidos y electrólitos. Generalmente, las *S.typhi* es susceptible a la ampicilina, tetraciclinas, estreptomina y colistina; sin embargo, las cepas resistentes aparecen con rapidez, por lo que se hace necesario determinar el patrón de susceptibilidad del microorganismo aislado. En la actualidad la ampicilina es considerado el fármaco de elección (21,22,26).

3.5.1.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Es un bacilo gram negativo, móvil, generalmente no encapsulado y no produce esporas, fermenta la glucosa produciendo ácido pero no gas, es oxidasa positivo, y produce amoniaco con arginina. Se encuentra frecuentemente en pequeñas cantidades como parte de la microbiota normal de la piel y del intestino, así mismo se encuentra con frecuencia en el suelo agua y aire.

En medios de cultivo forma colonias blandas, brillantes que presentan una coloración fluorescente por la difusión de dos pigmentos piocianina y fluoresceína (22,24,25).

3.5.1.4.1 Patogenicidad

Las infecciones graves por *P. aeruginosa* casi invariablemente se producen cuando hay una lesión tisular local o resistencia disminuída del hospedero, a pesar de sus muchos factores de virulencia esta bacteria rara vez causa enfermedad en pacientes sanos (23-25).

P. aeruginosa da lugar a infecciones del tracto urinario, infecciones de quemaduras y de heridas, casos de septicemia, abscesos y meningitis. Son también cada vez más frecuentes las bronconeumonías y las endocarditis bacterianas subagudas producidas por este microorganismo (21,22,25).

3.5.1.4.2 Tratamiento

Se ha visto que la sulfadiacina es un medicamento eficaz, también se ha detectado eficacia en la amikacina, ampicilina, ciprofloxacina, ticarcilina o piperaciclina en combinación con un

aminoglucósido; La polimixina es un antibiótico eficaz en infecciones localizadas (26).

3.5.2 BACTERIAS GRAM POSITIVO

3.5.2.1 *Staphylococcus aureus*

Es un coco gram positivo que crece agrupándose en racimos, inmóvil, no formador de esporas, sin cápsula, catalasa positivo y aerobio facultativo. Causa gran variedad de procesos supurativos en el hombre. La supuración es característica de la enfermedad estafilocócica. Ciertas cepas elaboran una enterotoxina que produce intoxicaciones alimentarias (20,21).

3.5.2.1.1 Patogenicidad

Entre las infecciones en la piel causadas por *Staphylococcus aureus* se incluyen la celulitis, furúnculos, ántrax, pústulas, carbunclos, impétigo e infecciones post-operatorias en varios sitios (23).

Procesos tales como bacteremia, endocarditis, meningitis, neumonía, osteomielitis se ven comúnmente como infecciones nosocomiales (23,25).

La mayor parte de las infecciones en los tejidos son localizadas. En infecciones muy severas penetran los gérmenes a través de las barreras locales de la lesión e invaden los ganglios linfáticos y el torrente sanguíneo. Una vez el estafilococo consigue penetrar en los tejidos profundos del cuerpo, su multiplicación causa necrosis y eventualmente, origina la formación

de abscesos. Si llega a establecerse la bacteremia, aparecen frecuentemente focos metastásicos (24,25,27).

S. aureus causa bronquitis que se acompaña de leucocitosis con neutrofilia, necrosis tisular, masas de estafilococos en áreas necróticas, trombosis en pequeños vasos sanguíneos y hemorragia, los pacientes se caracterizan por la expectoración de esputo amarillo sanguinolento (28,29).

3.5.2.1.2 Tratamiento

Las cepas productoras de penicilinasa son resistentes a las penicilinas corrientes, pero pueden resultar susceptibles a derivados semisintéticos de la penicilina que no son hidrolizados por la enzima. Por lo tanto el tratamiento debe realizarse con derivados semisintéticos de la penicilina, como la meticilina (26).

El tratamiento con nafcilina o con antibióticos de segunda generación como las cefalosporinas, clindamicina y vancomicina han demostrado eficacia contra *S. aureus* (26).

3.5.2.2 *Streptococcus pyogenes*

Bacteria gram positivo, de forma esférica que se encuentra formando cadenas largas especialmente en medios líquidos. Aunque habitualmente son gram positivo, pueden convertirse en gram negativo o variable a medida que el cultivo envejece (22,23).

Son anaerobios facultativos, su metabolismo es fermentativo y el principal producto de éste es el ácido láctico, es catalasa negativo, beta hemolítico y oxidasa negativo (22,23).

3.5.2.2.1 Patogenicidad

S. pyogenes puede causar tanto enfermedades supurativas como secuelas no supurativas (21).

El primer grupo incluye la faringitis estreptocócica aguda (con o sin escarlatina) y todas sus complicaciones supuradas, incluyendo adenitis cervical, otitis media, mastitis, abscesos peritonsilares, meningitis, peritonitis y neumonía. También incluye infecciones uterinas estreptocócicas del puerperio (sepsis puerperal), celulitis estreptocócica de la piel, linfangitis estreptocócica y erisipela (infección aguda de la piel y de los tejidos subcutáneo) (18-20).

Los estreptococos del grupo A de Lancefield (*S. pyogenes*) son responsables de la gran mayoría de las infecciones estreptocócicas en seres humanos y son de importancia debido a su papel como precursores de la fiebre reumática y de la glomerulonefritis (23-25,27).

Los pacientes con faringitis estreptocócica aguda albergan grandes cantidades de microorganismos en las fosas nasales y la faringe. Si no se administran antimicrobianos los microorganismos pueden persistir en la porción superior del aparato respiratorio durante semanas o meses, una vez que los síntomas han desaparecido (28,29).

3.5.2.2.2 Tratamiento

Los estreptococos beta hemolíticos se encuentran entre las bacterias patógenas más sensibles a la acción de los medicamentos antimicrobianos. Las sulfamidas suprimen rápidamente el crecimiento

de los estreptococos, pero actúa sólo como bacteriostático. Sin embargo, la penicilina es bactericida y por tanto un agente mucho más efectivo además de ser de bajo costo y no tóxica (26,29).

La práctica nos dice que pueden utilizarse otros antibióticos tales como la eritromicina, en el tratamiento de las infecciones por estreptococos, en especial en pacientes que tienen en su historia anotaciones de hipersensibilidad a la penicilina. Las tetraciclinas no son recomendables porque actualmente se han desarrollado muchas cepas resistentes a estos medicamentos (18).

3.6 DESCRIPCIÓN DE LAS PLANTAS DE ESTUDIO

En el departamento de Alta Verapaz en 1990 la Comisión Nacional para el Aprovechamiento de las plantas Medicinales (CONAPLAMED) realizó un estudio sobre la utilización del recurso fitoterapéutico (3), en el que se enumeran cerca de 49 plantas a las que se les atribuyen propiedades terapéuticas de las cuales se escogieron siete para elaborar este estudio.

3.6.1 *Arthrostemma ciliatum* Ruiz & Pavón ex Cogn.

3.6.1.1 FAMILIA: *Melastomaceae*

3.6.1.2 NOMBRE COMÚN: Nitro; Nitro dulce; Caña de Cristo; Chamajij (Alta Verapaz); Tzelectzá (Cobán K'ekchI) (30).

3.6.1.3. HABITAT Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Crece entre maleza o en bosques mixtos, frecuentemente en bosques de pino como maleza de crecimiento secundario, a una altura de 1,500 m sobre el nivel del mar o menos; Alta Verapaz, Izabal, Jutiapa, Santa Rosa,

Quetzaltenango, San Marcos, Huehuetenango, Zacapa. Se ha descrito también en México, Belice, Panamá, Jamaica, América del Sur (30).

3.6.1.4. DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA: Planta de muchas ramas herbáceas y escandescuentes, el tallo mide hasta 1 m de altura y presenta forma cuadrangular; las ramas son quebradizas, suculentas cuadrangulares pilosas o glandular-pilosas. Sus hojas son suculentas de forma ovada, base subcordada y por sus nervaduras es penta nervada. Flores con pétalos de 2.5 cm de largo, rosado oscuro, rojo encendido, los estambres algunos isomorfos o varios dimorfos (30).

Las flores largas son bastante atractivas es por eso que en El Salvador llaman a la planta " Jazmín montés", en Guatemala la llaman nitro porque su savia tiene sabor ácido, es por eso que los agricultores mascan el tallo de la planta y se refrescan (30).

3.6.1.5. USOS EN MEDICINA TRADICIONAL: La planta se utiliza como diurético y antiséptico urinario, se mastican 3 tallos de 20 cm diariamente por 5 días, bebiendo el líquido que despiden (3).

Para la disentería se cuele la Caña de Cristo y se toma un vaso, o se prepara una toma con el jugo de 5 tallos de Caña de Cristo y se bebe media taza de agua dos veces al día (3,31-33).

3.6.2 *Cathopheria chiapensis* Gray ex Benth.

3.6.2.1 FAMILIA: *Lamiaceae*

3.6.2.2 NOMBRE COMÚN: Linimento; Bajlac ché (Alta Verapaz, K'ekchí); Milimento (una corrupción de linimento); Baxlak cé (K'ekchí) (31).

3.6.2.3 HABITAT Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Crece como maleza común en los jardines, a una altura de 1,000 a 1,7000 m Sobre el nivel del mar. Alta Verapaz, Chiquimula, Guatemala (Volcán de Pacaya), Huehuetenango (en cultivos, pero también como maleza). También se ha descrito en México (Chiapas), El Salvador, Honduras (31).

3.6.2.4 DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA: Hierba robusta o arbustiva, de 1 - 3 m de alto; simple o escasamente ramificada. Los tallos presentan cuatro ángulos; con pubescencia finamente adpresa o puberulenta; de hojas grandes, ovadas o anchamente deltoide-ovadas que miden de 10 - 18 cm de largo y de 7 - 11 cm de ancho, largamente acuminadas en el ápice y redondeadas o subcordadas en la base, decurrentes en el pecíolo, denticuladas o subenteras, finamente escaberulosa en el haz y densamente tormentosa, puberulente o glabra en el envés; flores con pocas espigas, en largos pedúnculos nudosos frecuentemente de 7 - 15 cm de largo y de 2.5 cm de ancho. Las flores son muy numerosas, amontonadas con pétalos de color rosado. Se han visto algunas plantas de estas especies en flor, aparentemente florecen durante los meses húmedos. Es una maleza común en algunos jardines de Cobán y puede ser reconocida rápidamente por su fuerte olor que ha sugerido su nombre local de "Linimento", un poco sugestivo de los linimentos comerciales (31).

3.6.2.5 USOS EN MEDICINA TRADICIONAL: El extracto de la planta se usa como remedio local para la ronquera y que las hojas son utilizadas en la frente para aliviar el dolor de cabeza (1). Se colocan sobre la frente hojas de linimento untadas con sebo (33).

También se le atribuye propiedades antiespasmódicas (31,34).

3.6.3 *Euphorbia lancifolia* Schlecht.

3.6.3.1 FAMILIA: *Euporbiaceae*

3.6.3.2 NOMBRE COMÚN: Sapillo; Hierba lechera; Ixbut (K'ekchí) (7,22).

3.6.3.3 HABITAT Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICO: Hábitat de húmedo a levemente seco, algunas veces crece en bosques de pino o en campo abierto a una altura de 600 - 1,900 m Sobre el nivel del mar. Alta Verapaz, Izabal, Santa Rosa, Guatemala, Sacatepéquez, Quetzaltenango, San Marcos, Quiché, Huehuetenango. También se ha descrito en el sur de México, Belice y Honduras (31).

Se dice que la planta es originaria de Cobán pero se encuentra en muchas partes de Guatemala (34).

3.6.3.4 DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA: Es una planta silvestre que al cortarse los tallos dejan escapar un jugo lechoso como sucede en casi todas las Euforbiáceas (34).

Es una hierba subtrepadora o rastrera de tallos delgados, cilíndricos, algo carnosos, lisos y articulados de color verde pálido, hojas alternas romboideo-lanceoladas, anchas en la base y con extremidades agudas, de 5 - 9 cm de largo por 1.5 - 2 cm de ancho en la base, con las nervaduras laterales invisibles; flores pequeñas y blanquizas, con el cáliz de 4 segmentos y el ovario veloso. Se dice que las semillas son nutritivas para el ganado (31,34).

3.6.3.5 USOS EN MEDICINA TRADICIONAL: Se dice que dobla la cantidad de la leche en vacas que comen la planta. Una infusión o decocción de la planta es frecuentemente dada a mujeres lactantes para incrementar el flujo de leche, y aún en mujeres que no han sido madres (8,34-36).

Es de suponerse que en realidad la hierba no aumenta la cantidad de la leche que normalmente la vaca puede producir, sino que simplemente normaliza la producción cuando ésta ha bajado por algún desorden en el funcionamiento de las glándulas en las que actúa como estimulante o normalizador (34).

La inyección intravenosa de la planta causa baja en la presión sanguínea (37). También se utiliza como antiséptico urinario (31).

3.6.4 *Eupatorium semialatum* Benth.

3.6.4.1 FAMILIA: *Asteraceae*

3.6.4.2 NOMBRE COMÚN: Bacché, Baq ce' o Q'eqci káy (K'ekchí); Barretillo; Chicajol (Huehuetenango) (31).

3.6.4.3 HABITAT Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Crece como maleza en bosques mixtos, frecuentemente en los bosques de roble y pino, pocas veces en bosques de ciprés; a una altura de 1,000 - 3,300 m Sobre el nivel del mar; Alta Verapaz, Baja Verapaz, El progreso, Zacapa, Chiquimula, Jalapa, Guatemala, Chimaltenango, Sololá, El Quiché, Huehuetenango, Quetzaltenango y San Marcos. También en México, El Salvador y Costa Rica (31).

3.6.4.4 DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA: Arbusto o pequeño árbol de 1 a 6 m de altura ramas subcilíndricas cafés, densamente pubescentes. Las

hojas son duras con peciolo corto, oblongo o lanceolado-oblongo de más o menos 4 - 9 cm de longitud, agudas o acuminadas al ápice de agudas a atenuadas a la base; en el borde remotamente crenado dentadas, el haz de color verde oscuro y verde pálido en el envés; densamente pilosas en la costa de la planta y nervios inflorescencias corimbos; numerosas flores en cabezuela de color rosado pálido, de 6 - 7 cm de longitud (31).

3.6.4.5 USOS EN MEDICINA TRADICIONAL: Como antidiarreico, se cuecen seis ramitas en 1 1/2 taza de agua por 15 minutos, se deja reposar y se cuele. Se toman dos tazas del preparado al día (1,3).

Como analgésico abdominal y antiespasmódico se cuecen de 4 - 5 hojas en tres vasos de agua y se deja hervir hasta que consuma 1/3 del líquido, se deja enfriar, y se bebe un vaso del preparado cada 12 horas por 4 días (1,3).

Las hojas son utilizadas popularmente como hipoglicemiante (37).

3.6.5 *Neurolaena lobata* (L.) R.Br.

3.6.5.1 FAMILIA: *Asteraceae*

3.6.5.2 NOMBRE COMÚN: Tres puntas (Izabal); Mano de Lagarto (Petén); Gavilana Capitana (Costa Rica) (30,38).

3.6.5.3 HABITAT Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Crece como maleza en humedad o en bosques de roble, comúnmente de crecimiento secundario en campos de cultivo como maleza entre las plantaciones de banano, crece a 1,400 m Sobre el nivel del mar; Alta Verapaz, Chiquimula, Escuintla, Izabal, Petén, El Progreso, Quetzaltenango, Retahuleu,

San Marcos, Santa Rosa y Suchítepequez. También en Sur de México, Belice, El Salvador y Panamá (30).

3.6.5.4 DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA: Planta herbácea, erecta de 1 - 4 m de altura, espaciadamente ramificada, de tallos estriados surcados, densamente pubescente cuando son jóvenes; las hojas son alternas, grandes, cortamente pecioladas o sésiles, con márgenes dentados y trilobadas en el ápice; las inflorescencias son corimbos-paniculados con cabezuelas numerosas discoides, con cerca de 20 flores en cada una; corolas amarillo anaranjadas involucros de 6 mm márgenes dentados (30).

3.6.5.5 USOS EN MEDICINA TRADICIONAL: Como remedio para malaria (3,30). La infusión de esta planta se utiliza como tónico estomacal, febrífugo y antidiarréico. El cocimiento se ha empleado como amebicida, contra la calentura y en el tratamiento de diarrea, acompañadas de dolor de estómago (38,39).

En Venezuela la cataplasma se usa contra veneno de serpientes colocando la planta fresca sobre la herida (38,39). Como abortivo se machaca la hoja de tres puntas, se hace horchata y se bebe hasta que de el resultado deseado. Para cólicos se hace el cocimiento de hojas de la planta y se bebe, también se usa para el llanto insistente de los niños (33).

3.6.6 *Renealmia alpinia* (Rotbell) Mass.

3.6.6.1 FAMILIA: *Zingiberaceae*

3.6.6.2 NOMBRE COMÚN: Chucho Tz'í, (Alta Verapaz); Nabaij (Petén, Maya) (3,30).

3.6.6.3 HABITAT Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Crece en bosques mixtos a una altura de 1,500 m Sobre el nivel del mar o menos; Petén, Alta Verapaz, Izabal, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Suchítepequez, Sololá y Huehuetenango. También en sur de México, Belice, Norte y Sur América (30).

3.6.6.4 DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA: Planta de tallos de 2 m de altura; hojas sésiles o subsésiles, lanceoladas u oblongas ademinadas o agudas en la base, miden de 15 - 50 cm de largo y de 5 - 12 cm de ancho, galabras. Flores en panículas naciendo de la base de la planta de 15 - 30 cm, con un largo pedúnculo, pedicelos de 1 cm de longitud cáliz roja, corola amarilla. El fruto es una cápsula subglobosa de color roja de 1 cm de diámetro (30).

Esta planta es abundante en varios lugares de Alta Verapaz y los indígenas utilizan el fruto para dar sabor al caldo de carne (30).

3.6.6.5 USOS EN MEDICINA TRADICIONAL: Las hojas secas se aplican a fracturas, esguinces y superficies doloridas con el fin de reducir la inflamación (30).

Las hojas o la planta completa se cocen en agua y esta mixtura se usa en baño contra la fiebre (3). El extracto de las hojas se utiliza como remedio contra la fiebre (38).

3.6.7 *Polymnia maculata* Cav.

3.6.7.1 FAMILIA: Asteraceae

3.6.7.2 NOMBRE COMÚN: Ax (K'ekchí, Alta Verapaz); Chocotorro (Santa Rosa); Mirasol (Quetzaltenango, Retahuleu) (32).

3.6.7.3 HABITAT Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA: Crece entre la maleza húmeda, en bosques mixtos, algunas veces en bosques de pino y roble; crece a 200 - 3,000 m sobre el nivel del mar; Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Jalapa, Petén, El Progreso, Quetzaltenango, El Quiché, Retahuleu, Sacatépequez, San Marcos, Santa Rosa, Sololá, Suchítepequez y Zacapa. Se ha descrito también en Sur de México, Belice y Panamá (32).

3.6.7.4 DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA: Planta herbácea erecta de 1 - 3 m de altura, el tallo con manchas púrpuras, espaciadamente vellosa, hojas sésiles peciolos alados las hojas inferiores de 10 - 30 cm de largo, frecuentemente palmeado-lobadas, lóbulos agudos o acuminados, la lámina es triplinervada. Flores en cabezuela numerosas formando corimbos-paniculados, disco de 10 - 15 mm de diámetro; lígulas florales y corolas de color amarillo, frutos en aquenio de color negro (32).

3.6.7.5 USOS EN MEDICINA TRADICIONAL: Como antiséptico, antimicótico, cicatrizante, hemostático, para dolores musculares (3).

Se lavan los tallos, se raspa la corteza, se maceran hasta hacer una pasta y se usa en superficies dérmicas para la limpieza y cicatrización de heridas (3,39).

Como remedio para mazamoras se extiende la savia de la planta sobre la mazamorra (33)

4. JUSTIFICACIONES

El departamento de Alta Verapaz representa una zona subtropical húmeda, en la cual el período lluvioso es de larga duración, dando lugar a una gran variedad en su producción vegetal, que permite tener una flora autóctona muy variada. Como consecuencia de estas condiciones ecológicas, la población K'ekchí ha experimentado con un sinnúmero de plantas para el tratamiento de las enfermedades.

La medicina tradicional es una práctica común de los miembros de una cultura dada, los conocimientos que han sido heredados de generación en generación, como lo es la terapia del curandero en la cual involucra rituales, actos esotéricos y plantas, se han dado en esta región; existen datos que sugieren utilidad terapéutica en las plantas utilizadas, pero estas evidencias son insuficientes para poder probar científicamente su eficacia, por lo que se requiere de investigaciones más profundas y sistemáticas. La utilización de métodos de difusión y de dilución que sirven para poner de manifiesto la actividad antimicrobiana *in vitro*, podrían ser empleadas para poner a prueba las bondades terapéuticas de las diferentes plantas y tomando en cuenta que en la actualidad las infecciones gastrointestinales y respiratorias constituyen las primeras causas de morbi-mortalidad en Guatemala, lo que da la oportunidad de indagar en este campo.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Validar las plantas medicinales de uso popular en Guatemala.

5.2 Específicos

5.2.1 Investigar en la literatura las características etnobotánicas de siete plantas usadas en el departamento de Alta Verapaz para el tratamiento de infecciones.

5.2.2 Demostrar la actividad antibacteriana de los extractos etanólicos de siete plantas originarias de Alta Verapaz.

5.2.3 Determinar la concentración mínima inhibitoria de los extractos etanólicos de las siete plantas contra las principales bacterias patógenas.

6. HIPÓTESIS

Por lo menos los extractos de tres de las plantas en estudio poseen actividad antibacteriana *in vitro* contra *E. coli*, *S. tiphy*, *S. flexnerii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. pyogenes*.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Universo de trabajo

7.1.1 Principales bacterias patógenas al hombre, de las que las cepas de mayor importancia en la detección de la actividad antibacteriana fueron proporcionadas por el laboratorio de FARRMAYA e INCAP.

7.1.2 Plantas nativas del departamento de Alta Verapaz a las que se les atribuye propiedades medicinales.

7.2 Muestra

7.2.1 Dos especies de bacterias Gram positivo responsables de la mayoría de infecciones respiratorias bacterianas en Guatemala: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Streptococcus pyogenes* (INCAP 90809).

7.2.2 Cuatro especies de bacterias Gram negativo; una responsable de afecciones en piel: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442); y tres responsables de infecciones gastrointestinales: *Shigella flexneri* (CDC 6-101), *Salmonella typhi* (INCAP ST-001) y *Escherichia coli* enteropatógena Poli BO:119.

7.2.3 En base a una encuesta realizada por CONAPLAMED (3) del departamento de Alta Verapaz, se escogieron siete plantas a las que se les atribuyen propiedades antibacterianas: *Arthrostemma ciliatum*, *Catopheria chiapensis*, *Euphorbia lancifolia*, *Eupatorium semialatum*, *Neurolaena lobata*, *Renealmia alpinia* y *Polymnia maculata*.

7.3 Medios

7.3.1 RECURSOS HUMANOS

Investigadora: Br. María Isabel Deleon Rojas.

Asesor: Lic. Armando Cáceres Estrada.

7.3.2 RECURSOS FISICOS

7.3.2.1 Institucionales

- Centro de Estudios Folklóricos (CEFOL)
- Centro de Estudios Mesoamericano sobre Tecnología

Apropiada (CEMAT)

- Laboratorio y Droguería de Productos

Fitofarmacéuticos FARMAYA

- Departamento de Cito histología, de la Escuela de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.-USAC-

7.3.2.2 Equipo

- Incubadora (36^o C, marca Precisión)
- Campana microbiológica
- Refrigerador (4^o C marca Admiral Dual)
- Molino de cuchillas (de 2" de largo por 1.5" de ancho)
- Autoclave (25 litros, marca All American Electric Pressure)
- Estufa (Eléctrica marca General Electric)
- Balanza (Marca Dial - O - Gram Balance, de 0.1 g de precisión).

7.3.2.3 Materiales

- Jeringas de 60 cc.
- Venoset
- Frascos ámbar de 250 ml con tapadera de rosca
- Gradilla
- Cajas de Petri descartables
- Agar Mueller - Hinton
- Tubos con caldo Tripticasa soya
- Agar GC
- Pipetas estériles
- Bolsas plásticas
- Erlenmeyer de 125 ml
- Agua destilada
- Etanol al 50 %

- Hisopos de uso clínico
- Papel filtro Whatman No 1
- Papel filtro Whatman No 2
- Beakers de 250 ml
- Tapones de goma
- Asas de 0.01 ml
- Embudos
- Eritrocitos de carnero

7.3 Procedimiento

7.3.1 MATERIA SECA VEGETAL

Las plantas se recolectaron en los municipios de San Cristobal Verapaz y Cobán del departamento de Alta Verapaz. De las muestras recolectadas se guardó una muestra para herborización y determinación taxonómica. Con el resto se lavaron las partes a utilizar con agua y se secaron a la sombra. Inmediatamente antes de ser usadas, se molieron en un molino de cuchillas hasta obtener un pulverizado y se almacenaron en bolsas plásticas selladas.

7.3.2 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS

Para la preparación de extractos, se procedió de la siguiente manera: agregar 10 g de la planta molida al dispositivo de extracción el cual está constituido por una jeringa de 60 cc en posición vertical con papel filtro Whatman No. 1 en el fondo y una llave de paso en la saliente de ésta; agregar 50 ml de etanol al 50 por ciento, macerar durante 24 horas, extraer el fluido obtenido, luego agregar 50 ml de etanol, macerar y volver a extraer. Filtrar

con papel filtro Whatman No 2 y almacenar en frascos estériles color ámbar en refrigeración.

7.3.3 TAMIZAJE ANTIBACTERIANO *in vitro*.

Para el tamizaje se utilizó el método de dilución de Mitscher consistente en: Preparar agar Mueller - Hinton según las instrucciones del fabricante, esterilizar, colocar 9 ml en cajas de Petri estériles agregar 1 ml del extracto a estudiar (en el caso del estudio de estreptococos agregar 1 ml de sangre de carnero), agitar, dejar solidificar e incubar durante una noche a 35° C durante 24 horas. De un cultivo puro tomar 5 colonias y colocarlas en 5 ml de caldo tripticasa soya e incubar durante 24 horas. Luego tomar con una pipeta estéril 0.1 ml de agua destilada estéril y comparar con el estándar # 0.5 de MacFarland, con el fin de obtener una dilución 1:100 lo que equivale aproximadamente a 90 por ciento de transmitancia a 530 nm.

El inóculo se preparó de la siguiente manera: Elaborar una plantilla dividida en ocho partes iguales y colocar sobre ella la caja de agar con el extracto a estudiar, verificar que las cajas estén libres de contaminantes, luego tomar una asada de la suspensión de bacterias e inocular una bacteria diferente en cada espacio haciendo una estría, dejando un círculo vacío en el centro e incubar a 35° C durante 24 horas (Figura 1).

Observar el crecimiento, si éste es positivo indica que el extracto no tiene actividad antibacteriana y si éste es negativo indica que el extracto tiene actividad antibacteriana.

de igual forma se trabajó un ensayo control de crecimiento sólo con el solvente y un ensayo control de crecimiento en el que no se incorporó el extracto.

7.4.1.1 Distribución de los grupos

Un grupo control de crecimiento el cual sólo se inoculó el microorganismo, en cuatro repeticiones.

Un grupo control de crecimiento en el cual se incorporó el solvente al medio de cultivo y se inoculó el microorganismo en cuatro repeticiones.

Un grupo de tratamiento en el cual se incorporó el extracto al medio de cultivo y se inocula el microorganismo, en cuatro repeticiones.

7.4.2 UNIDADES DE MEDIDA

En este ensayo se determinó como unidad de medición el crecimiento del microorganismo (resultado negativo del ensayo) o no crecimiento (resultado positivo).

7.4.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se trató de un diseño al azar en el que cada ensayo (extracto y control) formando bloques, distribuyéndose aleatoriamente las cuatro inoculaciones del microorganismo.

7.4.4 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se trabajó con una prueba de hipótesis binomial en el que si $p < \alpha$ ($\alpha = 0.1$), se puede rechazar la hipótesis que el resultado de los ensayos es negativo, es decir que existió suficiente evidencia para

concluir que el extracto tiene efecto inhibitorio sobre el crecimiento del microorganismo.

Las hipótesis planteadas fueron:

Ho : La probabilidad de éxito = 0.5 ($p=0.5$).

Ha : La probabilidad de éxito > 0.5 ($p>0.5$).

Si los cuatro resultados son positivos (éxitos) $p=0.064$, por lo que Ho se podría rechazar.

Si el crecimiento es negativo quiere decir que la actividad antibacteriana es positiva, por lo tanto se hicieron dos diluciones más que correspondan a 5 mg/ml y 2.5 mg/ml, siguiendo las mismas indicaciones que en el tamizaje a fin de determinar el CIM.

8. RESULTADOS

En el presente estudio se seleccionaron siete plantas de uso popular en el departamento de Alta Verapaz para el tratamiento de infecciones.

El propósito fue determinar la acción antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos obtenidos por maceración con una concentración de 10 mg/ml contra las principales bacterias patógenas causantes de infecciones en piel, gastrointestinales y respiratorias por medio del método de Mitscher que consiste en un método de dilución en agar inoculado por estrías, se realizó primero un tamizaje de la actividad con los extractos y luego se determinó la CIM de los extractos que presentaron inhibición con la bacteria más activa utilizando cantidades decrecientes del extracto vegetal (10 mg/ml, 5 mg/ml, 2.5 mg/ml).

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: *A. ciliatum* no inhibió a ninguna bacteria del estudio; *R. alpinia* inhibió únicamente a *S. pyogenes*; *N. lobata* inhibió a *S. pyogenes* y a *S. typhi*; *P. maculata* inhibió a *S. pyogenes* y a *S. aureus*; *C. chiapensis* y *E. lancifolia* inhibieron a *S. aureus*, *S. typhi*, *S. flexnerii*, *P. aeruginosa* y *E. coli*; y *E. semialatum* inhibió a todas las bacterias del estudio (Tabla 1).

Tabla No. 1 TAMIZAJE DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE SIETE PLANTAS ORIGINARIAS DE ALTA VERAPAZ CONTRA SEIS BACTERIAS PATOGENAS (10 mg/ml)

ESPECIE	MICROORGANISMOS					
	A	B	C	D	E	F
<i>Arthrostemma ciliatum</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Cathoperia chiapensis</i>	+	-	+	+	+	+
<i>Euphorbia lancifolia</i>	+	-	+	+	+	+
<i>Eupatorium semialatum</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Neurolaena lobata</i>	-	+	+	-	-	-
<i>Renealmia alpinia</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Polymnia maculata</i>	+	+	-	-	-	-

* A: *S. aureus*, B: *S. pyogenes*, C: *S. typhi*, D: *S. flexnerii*, E: *P. aeruginosa*, F: *E. coli*

NOTA: + = No crecimiento ($p < 0.1$)
- = Crecimiento

Las bacterias mayormente inhibidas por los siete extractos etanólicos fueron *S. aureus*, *S. pyogenes*, y *S. typhi*. (Tabla 1).

De los extractos etanólicos con actividad positiva, se determinó la CIM, realizando diluciones de 5 y 2.5 mg/ml. Observándose que *R. alpinia* y *P. maculata* no mostraron actividad antibacteriana positiva a estas concentraciones, mientras que *N. lobata* únicamente mostró actividad inhibitoria *in vitro* contra *S. pyogenes* a una concentración de 5 mg/ml, a igual concentración *C. chiapensis* mostró actividad antibacteriana contra *S. aureus*. El extracto etanólico de *Euphorbia lancifolia* mostró actividad inhibitoria *in vitro* a una concentración de 5 mg/ml contra *P. aeruginosa* y a una concentración de 2.5 mg/ml contra *S. typhi* (Tabla 2).

Tabla No. 2 CIM DE LAS PLANTAS QUE MOSTRARON ACIVIDAD ANTIBACTERIANA CONTRA LAS BACTERIAS MAS ACTIVAS.

(10 mg/ml, 5mg/ml y 2.5 mg/ml).

ESPECIE	MICROORGANISMO *											
	A			B			C			D		
	CONCENTRACION (mg/ml)											
	10	5	2.5	10	5	2.5	10	5	2.5	10	5	2.5
<i>C. chiapensis</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>E. lancifolia</i>	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>E. semialatum</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>N. lobata</i>											-	-
<i>R. alpinia</i>											-	-
<i>P. maculata</i>	+	-	-								-	-

* A: *S. aureus*, B: *S. Typhi*, C: *P. aeruginosa* D: *S. pyogenes*

NOTA: + = No Crecimiento (p=0.1)

- = No Cresimiento

Todos los microorganismos del estudio exceptuando a *P. aeruginosa* fueron inhibidos a concentraciones menores de 2.5 mg/ml por el extracto etanólico de *E. semialatum*, *S. aureus* y *S. typhi* fueron inhibidas hasta la concentración de 1 mg/ml (Tabla 3).

Tabla No. 3 CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA DEL EXTRTACTO DE *E. semialtum* CONTRA LAS BACTERIAS MAS ACTIVAS. (1 mg/ml, 0.5 mg/ml y 0.25 mg/ml).

ESPECIE	CONCENTRACION		
	1 mg/ml	0.5 mg/ml	0.25 mg/ml
<i>S. aureus</i>	+	-	-
<i>S. typhi</i>	+	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Las siete plantas originarias de Alta Verapaz estudiadas, se utilizaron en forma similar a la usada popularmente, de todas ellas las hojas exceptuando a *A. ciliatum* de la cual se utilizó el tallo. De estas plantas se prepararon extractos etanólicos obtenidos por maceración con una concentración de 10 mg/ml, inicialmente se llevó a cabo un tamizaje utilizando el método de Mitscher el cual es un método de inoculación por estrías, rápido, simple y que presenta la ventaja de poder estudiar varios microorganismos diferentes en una sola caja.

No todas las plantas mostraron actividad antibacteriana, pero es posible que estas puedan ser utilizadas popularmente como antiinflamatorios, antisépticos, analgésicos, cicatrizantes o bien como remedios locales y ser eficaces como bacteriostáticos pero no como bactericidas.

Los resultados demostraron que únicamente una planta, *A. ciliatum* no presentó actividad antibacteriana contra ninguno de los microorganismos del estudio, lo anterior no significa que la planta no presente actividad antibacteriana, pues podría deberse a una

baja concentración del extracto, a alguna inactivación química causada por el etanol sobre el principio activo, o bien que éste no se encuentre en la parte de la planta estudiada o que su actividad no es antimicrobiana sino que favorece la resolución de procesos infecciosos.

Del resto de plantas del estudio mostraron actividad antibacteriana contra por lo menos una bacteria. *R. alpinia* mostró tan solo un 16.6% pues inhibió sólo un microorganismo, *N. lobata* y *P. maculta* mostraron un 33.3 % de efectividad y *C. chiapensis* y *E. lancifolia* mostraron un 83.3 % de efectividad. La planta que mostró mejor efectividad antibacteriana con un 100 % fue *E. semialtum* pues inhibió a todas las bacterias del estudio. A una concentración de 2.5 mg/ml y fue capaz de inhibir *S. aureus* y *S. typhi* a un concentración de 1.0 mg/ml. Lo anterior demuestra que el amplio uso y confianza en las plantas medicinales manifestado por los pobladores de Alta Verapaz, tiene fundamento.

Las bacterias mayormente inhibidas fueron *S. aureus*, *S. pyogenes* y *S. typhi*, bacterias que frecuentemente se aislan en pacientes y que pueden mostrar cierto grado de resistencia contra antimicrobianos como en el caso de *S. aureus*.

No existen estudios previos sobre la actividad antibacteriana de las plantas estudiadas por lo cual se considera que los resultados obtenidos son una primicia difícil de comparar por no tener punto de comparación. Los resultados esperados se obtuvieron totalmente, pues de las plantas estudiadas solamente una no presentó actividad inhibitoria *in vitro*.

10. CONCLUSIONES

10.1 Seis de las plantas estudiadas (*Cathopheria chiapensis*, *Euphrobia lancifolia*, *Eupatorium semialatum*, *Neurolaena lobata*, *Renealmia alpinia* y *Polymnia maculata*) inhibieron al menos una de las bacterias del estudio.

10.2 Solamente *Athrostemma ciliatum* no presentó actividad inhibitoria *in vitro* contra ninguna bacteria.

10.3 Las bacterias mayormente inhibidas por los extractos etanólicos de las plantas estudiadas fueron: *S. aureus*, *S. typhi*, *S. pyogenes* que fueron inhibidas por cuatro plantas, mientras que *S. flexnerii*, *P. aeruginosa* y *E. coli* fueron inhibidas únicamente por tres plantas.

10.4 La concentración inhibitoria mínima para *N. lobata*, *E. lancifolia* y *C. chiapensis* fue de 5 mg/ml contra *S. pyogenes*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* respectivamente.

10.5 La concentración inhibitoria mínima para *E. lancifolia* contra *S. typhi* fue de 2.5 mg/ml.

10.6 La concentracion inhibitoria mínima para *E. semialatum* es menor de 2.5 mg/ml.

11. RECOMENDACIONES

11.1 Efectuar un estudio con diferentes solventes y partes de las plantas estudiadas que presentaron actividad antibacteriana con el fin de hallar los principios activos responsables de ésta actividad.

11.2 Realizar estudios que permitan conocer efectos adversos y tóxicos de las plantas medicinales estudiadas.

11.3 Investigar otras acciones que posean las plantas medicinales estudiadas que puedan contribuir a aliviar procesos infecciosos.

11.4 Informar a la población sobre los beneficios que representan las plantas medicinales en el tratamiento de infecciones.

11.5 Ampliar la gama de bacterias en estudio con aquellas provenientes de ceparios internacionales así como aisladas de pacientes guatemaltecos.

12. REFERENCIAS

- 12.1 Dieseldorff EP. Las Plantas Medicinales del Departamento de Alta Verapaz. Guatemala: Tipografía Nacional, 1977. 52p. (p. 7-8).
- 12.2 Mitscher A, *et al.* A modern look at folkloric use of anti - infective agents. *J Nat Prod* 1987;50: 1025-1040.
- 12.3 CONAPLAMED (1989) Agrotecnología Relacionada con la Farmacopea Tradicional de Guatemala. Guatemala: CONAPLAMED, 57p. (p. 20-31).
- 12.4 Arriaza RP. Estudios Sociales. 11 ed. Guatemala: Impresos Industriales, 1988. 366p. (p. 10-11).
- 12.5 Dávila A, Castro R. Monografía Ambiental de la Región de las Verapaces. Seminario Regional Políticas Ambientales de la Región de las Verapaces, Doc Tec 1990 93p. (p. 19-20).
- 12.6 Villatoro EM. Etnomedicina en Guatemala; Guatemala: USAC, 1984. 316p. (p. 40-51, 283-286).
- 12.7 Mejía JV. Geografía de la República de Guatemala. 2 da ed. Guatemala: Tipografía Nacional 1927. 399p. (p. 141).

12.8 Standley PC, Steyermark J. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24:(1), 1949. 311p.

12.9 Aguilar Girón JI. Relación de unos Aspectos de la Flora útil de Guatemala. Guatemala: Ministerio de Agricultura 1966 (pp. 348-375)

12.10 Cáceres A, Girón L. Sistemas para la Revalidación, Investigación de las Plantas Medicinales en Guatemala. p 283-316. (En Villatoro EM. Etnomedicina en Guatemala; Guatemala: USAC, 1984. 316p.)

12.11 Girón LM, et al. Ethnobotanical Survey of the Medicinal Flora used by the Caribs of Guatemala. J Ethnopharmacol 1991;34: 173-187.

12.12 Barahona EF. Sensibilidad de *Trichomonas vaginalis in vitro* ante extractos de plantas medicinales. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Medicina) 1986. 45p.

12.13 Cáceres A, et al. Diuretic Activity of Plants used for the treatment of Urinary Aliments in Guatemala. J Ethnopharmacol 1987; 19: 233-245.

12.14 Cáceres A, *et al.* Screening of Antimicrobial activity of Plants Populary used in Guatemala for the Dermat mucosal Diseases. J Ethnopharmacol 1987;20: 223-237.

12.15 Cáceres A, *et al.* Plants used in Guatemala for the Treatment Gastrointestinal Disorders. 1. Screening of 84 plants against Enterobacteria. J Ethnopharmacol 1990;30: 55-73.

12.16 Cáceres A, *et al.* Plants used in Guatemala for the Treatment of Respiratory diseases. 1. Screening of 68 Plants against Gram Positiv Bacteria. J Ethnopharmacol 1991;31: 193-208.

12.17 Vaden Berghe RA, Vlietnick J. Methods in Plant Biochemistry. Bélgica: Academic Press limited, Vol 6, 1991. (pp. 47-69)

12.18 Bauer AW, *et al.* Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. Amer J Clin Path 1991;36: 493-496.

12.19 Ríos JL, Recio MC, Villar A. Screening Methods for National Products with Antimicrobial Activity: A Review of Literature. J Ethnopharmacol 1988;23: 127-151.

12.20 Finegold SM, Barón EJ. Baily and Scott's Microbiology. 7 ed. USA: The C.V. Mosby Company, 1986. XVII + 914p.

12.21 Davis BD, *et al.* Tratado de Microbiología. 2 ed. España: Salvat, 1983. 1491p.

12.22 Zinsser R, *et al.* Microbiología. 18 ed. Argentina: Panamericana, 1986. 1454p.

12.23 Lenette E, *et al.* Manual of Clinical Microbiology. 4 ed. Washington: American Society for Microbiology, 1985. 1149p.

12.24 Janetz E, *et al.* Review of Medical Microbiology. 16 ed. USA: Lange Medical Publications, 1986. XI+1110p.

12.25 Petersdorf RG, *et al.* Harrison: Principios de Medicina Interna. 10 ed. USA: McGraw Hill, 1986. XXXI+1792p.

12.26 Cámpbell MD, *et al.* Manual of Medical Therapeutics. 26 ed. Missouri: Little Brown & Company, 1988. VII+469p.

12.27 Evans AS, Feldman HA. Bacterial Infections of Human "Epidemiology & Control". 2 ed. USA: Plenum Medical Book Co., 1984. XLI+702p.

12.28 Zimet I. Practical Pulmonary Disease. 2 ed. Canada: Joint Willey & Sons, 1987. X+910p. (pp. 7-9).

12.29 Penengton JE. Respiratory Infections: Diagnosis and Management. 2nd ed. New York: Raven Press, 1989. XXI + 672p. (p. 298-310, 364-378).

12.30 Nash DL, Dieterle JVA. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24:(12), 1976. 431p.

12.31 Williams LO. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24:(12), 1976. 281p.

12.32 Standley PC, Steyermark J. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24:(6), 1949. 501p.

12.33 Instituto Indigenista Nacional. Aspectos de la Medicina Popular en el Área Rural de Guatemala. Guatemala Indígena. vol XII, 1978. 616p. (p.124-125).

12.34 Martínez M. Plantas Útiles de la Flora Mexicana. México DF: Botas, 1959. 621p. (p. 313-315).

12.35 Zamora M. Medicinal Plants Used in some Rural Populations of Oaxaca Puebla and Veracruz México. J Ethnopharmacol 1992;35: 229-257.

12.36 Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales. Usos de las Plantas Medicinales de México. México: Díaz, 1976. 311p. (p. 176).

12.37 Martínez MR, Saravia A. Efecto del extracto Acuoso de Hojas de *Eupatorium semialatum* (Bacché) sobre la Concentración Sanguínea de Ratas Normales y Ratas con Diabetes inducidas con Aloxano. Memorias. Guatemala: V seminario Nacional de Plantas Medicinales, (p. 51-58).

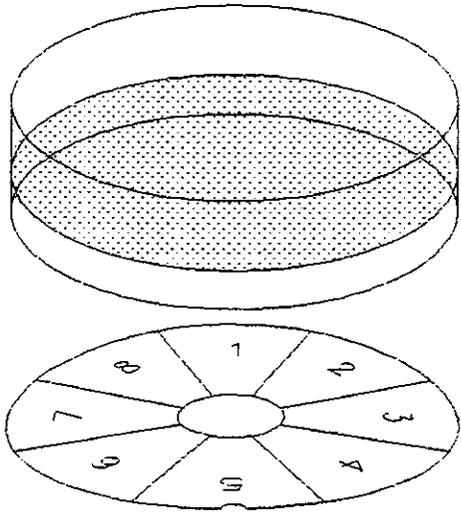
12.38 Ocampo SRA, Maffioli A. El Uso de Algunas Plantas Medicinales en Costa Rica. San José, Costa Rica: Trejo Hnos., Vol 1, 1985. 98p. (p. 38-45).

12.39 Claventi IB, Velázquez TM, Tercero D. Aspectos Químicos y Usos Nativos de Plantas en Medicina Folclórica Dominicana. Rep. Dominicana: CEMAPEC 1985. 64p. (p. 35).

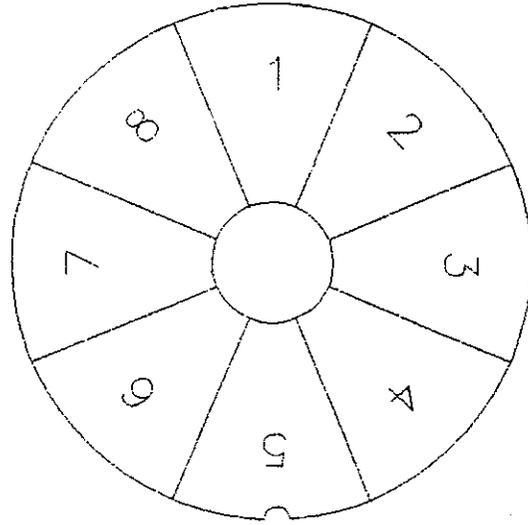
13. ANEXOS

INOCULACION DEL AGAR CON EL EXTRACTO ETANOLICO

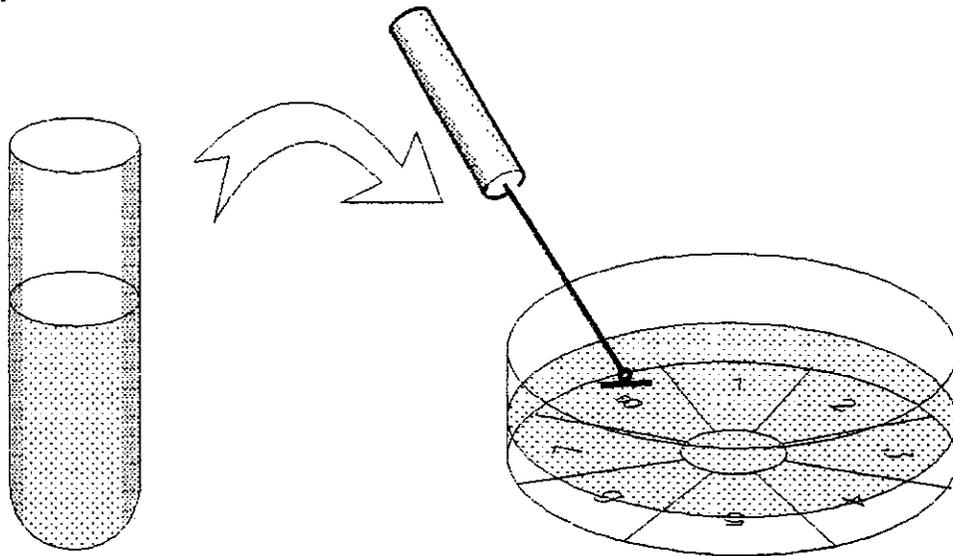
FIGURA No. 1



Caja de Agar con el extracto a estudiar y plantilla



Plantilla dividida en ocho partes iguales y numeradas.



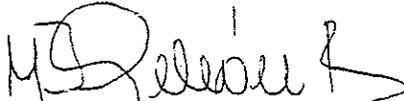
Suspension de bacterias (dilucion: 1:100).

Inoculacion haciendo una estria de cada bacteria diferente en cada espacio, dejando un circulo vacio en el centro.

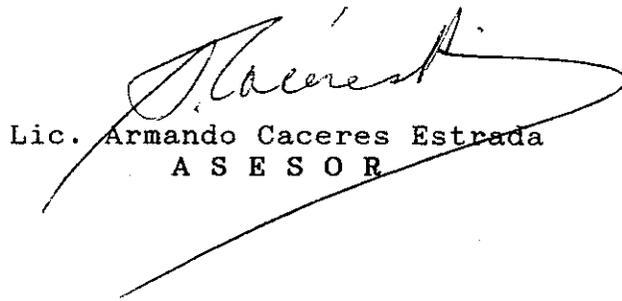
CUADRO No. 1

CLASIFICACION DE LAS PLANTAS EN ESTUDIO

No	NOMBRE	GENERO Y ESPECIE	FAMILIA	PARTE UTILIZADA
1.	CAÑA DE CRISTO	<i>Arthrostemma ciliatum</i>	Melastomaceae	Tallo
2.	LINIMENTO	<i>Cathopheria chiapensis</i>	Lamiaceae	Hoja
3.	IXBUT	<i>Euphorbia lancifolia</i>	Euporbiaceae	Hoja
4.	BACCHE	<i>Eupatorium semialatum</i>	Asteraceae	Hoja
5.	TRES PUNTAS	<i>Neurolaena lobata</i>	Asteraceae	Hoja
6.	CHUCHO TZI	<i>Renalmia alpinia</i>	Zingiberanaaceae	Hoja
7.	AX	<i>Polymnia maculata</i>	Asteraceae	Hoja



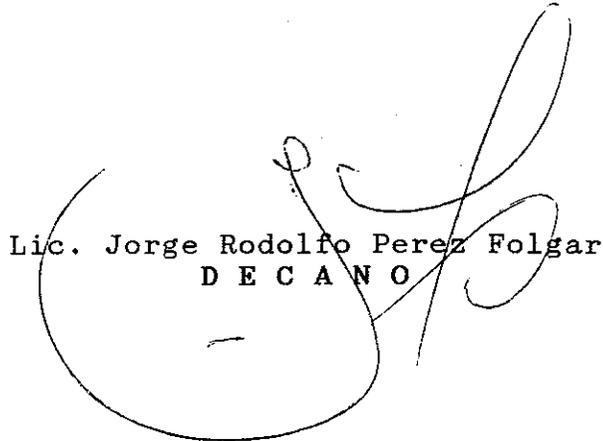
Maria Isabel Deleón Rojas
T E S T I S T A



Lic. Armando Caceres Estrada
A S E S O R



Lic. Gerardo Arroyo
D I R E C T O R



Lic. Jorge Rodolfo Perez Folgar
D E C A N O

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central