


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a woman in a red dress and white headscarf, holding a book. Surrounding her are various symbols: a golden dome with a cross, a lion rampant, a castle, and two columns. The background is a landscape with green hills and a blue sky. The Latin text "UNIVERSITAS CAROLINA ACADÉMICA COACTEMALENSIS INTER CÆTERAS ORBIS CONSPICUA" is inscribed around the perimeter of the seal.

“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DE SEIS ESPECIES DE PLANTAS DE USO MEDICINAL SOBRE BACTERIAS CAUSANTES DE MASTITIS EN VACAS LECHERAS”

VIVIAN MARIELA LÓPEZ MARTÍNEZ

Guatemala, julio de 2009.

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DE SEIS ESPECIES DE
PLANTAS DE USO MEDICINAL SOBRE BACTERIAS CAUSANTES DE MASTITIS
EN VACAS LECHERAS”**

TESIS

**PRESENTADA A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

POR

VIVIAN MARIELA LÓPEZ MARTÍNEZ

AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE

MÉDICA VETERINARIA

Guatemala, julio de 2009

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO:	Med. Vet. Leonidas Ávila Palma
SECRETARIO:	Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL PRIMERO:	Med. Vet. Yeri Edgardo Veliz Porras
VOCAL SEGUNDO:	Mag. Sc. M.V. Fredy Rolando González Guerrero
VOCAL TERCERO:	Med. Vet. y Zoot. Mario Antonio Motta González
VOCAL CUARTO:	Br. David Granados Dieseldorff
VOCAL QUINTO:	Br. Luis Guillermo Guerra Bone

ASESORES

Lic. Armando Cáceres Estrada
Med. Vet. Julia Virginia Bolaños de Corzo
Mag. Sc. M.V. Dennis Sigfried Guerra Centeno

**HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR
EN CUMPLIMIENTO CON LO ESTABLECIDO POR LOS ESTUDIOS
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
PRESENTO A CONSIDERACIÓN DE USTEDES EL TRABAJO DE
TESIS TITULADO**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIBACTERIANO *in vitro* DE SEIS ESPECIES DE
PLANTAS DE USO MEDICINAL SOBRE BACTERIAS CAUSANTES DE MASTITIS
EN VACAS LECHERAS”**

QUE FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR
AL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO

A DIOS:

Por haberme dado la vida y ser la luz que siempre ha guiado mi camino, ayudándome a superar las dificultades.

A LA VIRGEN MARÍA:

Modelo de mujer y madre, por escuchar y dar respuesta a mis plegarias en los momentos más difíciles de mi vida.

A MI MAMÁ, Marta Estela:

Por darme la vida, cuidarme y protegerme cada día de mi vida, por apoyarme y comprenderme siempre, por estar presente y compartir mis desvelos a lo largo de mi formación académica. Mamita Te Amo.

A MI PAPÁ, David Roberto:

Por darme la vida, por su cariño y apoyo.

A MIS ABUELITAS, María Teresa y Gregoria:

En especial a MIMA, por su amor, apoyo y cuidados durante todos estos años, por enseñarme la alegría de la vida a pesar de las dificultades y forjar en mí la fe hacia Dios y la Virgen María.

A MI TÍA, Sheny (Mamita):

Por ser una gran influencia en mi vida, por educarme y cuidarme desde mi niñez y apoyarme siempre durante mi carrera (nunca olvidaré tu ayuda con nuestros perritos y gatitos de la calle).

A TODA MI FAMILIA, en especial:

A mis tíos: José Luis, Antonio, Silvia y Héctor Jacobo; por su apoyo, cariño, consejos y comprensión.

A mis primos: Angelita, Clau, Wale, Jorge Luis, Francoise, Wellington y Raymond.

A mis sobrinitos lindos: Sebastián, Sophya, Stephany y Fátima.

A MIS AMIGOS:

Laura Peralta, Taylor González, Edilzarth Hernández, Christian Orellana, Alvaro Paniagua, Diego Berrios, Jeannette Mena, Irene Castillo, Cristina Flores, Daniel Polo, Fernando Mijangos, David Sierra, Marisol González, Perla Colindres †, Augusto Gaitán, Lorena Pérez, Vinicio Ríos. Por su amistad, cariño, apoyo y consejos. Los quiero mucho.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Ser Supremo, por permitirme concluir esta etapa tan importante de mi vida.

A VETERINARIOS SIN FRONTERAS (ESPAÑA), CENTRO DE INVESTIGACIÓN DE ETNOVETERINARIA Y TERAPIAS ALTERNATIVAS:

Por su apoyo en el desarrollo del presente trabajo, al haber colaborado en el financiamiento de la investigación.

A MIS ASESORES Y A QUIENES COLABORARON EN EL DESARROLLO DEL PRESENTE TRABAJO:

Lic. Armando Cáceres, Dr. Dennis Guerra, Dra. Virginia de Corzo, Isabel Gaitán, Vinicio García, Edilzarth Hernández y personal del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Laboratorio de Bioensayos, Departamento de Citohistología y Laboratorio de Investigación de Productos Naturales – LIPRONAT-, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala. Por sus conocimientos, colaboración, apoyo y tiempo dedicado, ya que sin ellos no hubiera sido posible concluir este trabajo de tesis.

A TODOS LOS DOCENTES Y AMIGOS QUE INFLUYERON EN MI FORMACIÓN PROFESIONAL, en especial:

Dr. Julio Chajón, Dra. Andrea Portillo, Dr. Heber Armira, Juan José Meléndez. Muchas gracias por su apoyo, conocimientos y experiencias.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	2
III.	OBJETIVOS	3
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1	Mastitis	4
4.2	Estreptococos	5
4.2.1	Morfología y características principales	5
4.2.2	Clasificación	5
4.2.3	Epidemiología y patogenia	5
4.2.4	Sensibilidad a los antibióticos	6
4.2.5	Mastitis bovina	6
4.2.5.1	<i>Streptococcus agalactiae</i>	6
4.2.5.2	<i>Streptococcus dysgalactiae equisimilis</i>	7
4.3	Estafilococos	7
4.3.1	Morfología	7
4.3.2	Caracteres diferenciales	7
4.3.3	Factores de virulencia	7
4.3.4	Sensibilidad a los antibióticos	8
4.3.5	Epidemiología	8
4.3.6	Mastitis estafilocócica	8
4.4	<i>Acalypha guatemalensis</i> (Pax & Hoffm.)	9
4.4.1	Nombre común	9
4.4.2.	Familia	9
4.4.3	Descripción botánica	9
4.4.4	Hábitat	9
4.4.5	Farmacología experimental y clínica	9
4.5	<i>Lippia graveolens</i> (HBK)	10
4.5.1	Nombre común	10
4.5.2	Familia	10

4.5.3	Descripción botánica	10
4.5.4	Hábitat	10
4.5.5	Propiedades medicinales	10
4.5.6	Farmacología experimental y clínica	11
4.6	<i>Piper jacquemontianum</i> (Kunth.)	11
4.6.1	Nombre común	11
4.6.2	Familia	11
4.6.3	Descripción botánica	11
4.6.4	Hábitat	12
4.6.5	Farmacología experimental y clínica	12
4.7	<i>Psidium guajava</i> (L.)	12
4.7.1	Nombre común	12
4.7.2	Familia	12
4.7.3	Descripción botánica	12
4.7.4	Hábitat	13
4.7.5	Propiedades medicinales	13
4.7.6	Farmacología experimental y clínica	13
4.8	<i>Smilax domingensis</i> (Willd.)	13
4.8.1	Nombre común	13
4.8.2	Familia	13
4.8.3	Descripción botánica	14
4.8.4	Hábitat	14
4.8.5	Propiedades medicinales	14
4.8.6	Farmacología experimental y clínica	14
4.9	<i>Solanum americanum</i> (Miller)	15
4.9.1	Nombre común	15
4.9.2	Familia	15
4.9.3	Descripción botánica	15
4.9.4	Hábitat	15
4.9.5	Farmacología experimental y clínica	15

V.	MATERIALES Y MÉTODOS	16
5.1	Recursos humanos	16
5.1.1	Tesista	16
5.1.2	Asesores	16
5.2	Área de trabajo	16
5.2.1	Laboratorio de Microbiología	16
5.2.2	Laboratorio de Bioensayos	16
5.2.3	Laboratorio de Investigación de Productos Naturales	16
5.3	Recursos biológicos	16
5.3.1	Bacterias	16
5.3.2	Material vegetal	16
5.4	Materiales y equipo	17
5.4.1	Materiales	17
5.4.2	Equipo	18
5.5	Métodos	18
5.5.1	Obtención y selección de las bacterias	18
5.5.2	Selección de Plantas	18
5.5.3	Obtención de material vegetal	19
5.5.4	Obtención de extractos	19
5.5.5	Tamizaje de la actividad antibacteriana <i>in vitro</i>	19
5.5.6	Determinación de la actividad antibacteriana	20
5.5.7	CIM	20
5.5.8	Método estadístico	20
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
VII.	CONCLUSIONES	26
VIII.	RECOMENDACIONES	27
IX.	RESUMEN	28
X.	BIBLIOGRAFÍA	30

I. INTRODUCCIÓN

En Guatemala, la mastitis es un problema frecuente que afrontan las explotaciones lecheras tanto tecnificadas como no tecnificadas, siendo la forma subclínica la más frecuente. Si bien existen numerosos factores que influyen en su presentación, la causa principal es bacteriana. Especies como *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Corynebacterium* spp y en algunos casos *Escherichia coli* juegan un rol particularmente importante. Considerando este último aspecto, el tratamiento de la mastitis se enfoca fundamentalmente en la eliminación del agente etiológico, utilizando como primera herramienta terapéutica los antimicrobianos.

Actualmente el uso indiscriminado de antibióticos, ha producido una resistencia a la mayor parte de antimicrobianos empleados con mayor frecuencia para el tratamiento de la mastitis, lo que resulta en la recurrencia y cronicidad de la enfermedad. Es necesario mencionar que la mastitis produce grandes pérdidas económicas como consecuencia de la disminución de producción láctea, gastos en tratamientos, pérdidas por el desecho de leche contaminada con antimicrobianos y pérdida de vientres jóvenes, entre otras. Todos estos factores muestran la necesidad de iniciar la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas que muestren ser eficaces para el tratamiento de la mastitis.

En la presente investigación se evaluó la actividad antimicrobiana de extractos de diferentes plantas de uso medicinal con actividad antibacteriana ya reconocida en medicina humana. Se considera que el uso de plantas medicinales es una alternativa en el tratamiento de mastitis, ya que ofrece beneficios tanto desde el punto de vista económico como social. Las plantas medicinales al ser recursos naturales propios de nuestro país muestran una alta accesibilidad y bajo costo para pequeños productores, así como ausencia de resistencia por parte de las distintas bacterias causantes de mastitis.

II. HIPÓTESIS

Los extractos de las especies *Acalypha guatemalensis*, *Lippia graveolens*, *Piper jacquemontianum*, *Psidium guajava*, *Smilax domingensis* y *Solanum americanum* presentan actividad contra las bacterias *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae equisimilis*, causantes de mastitis en vacas lecheras.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Generar información sobre el uso de extractos de plantas para el tratamiento de mastitis bacterianas en vacas lecheras.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de seis especies de plantas de uso medicinal sobre las bacterias: *Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae equisimilis*, causantes de mastitis en vacas lecheras.
- Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos con resultados de tamizaje positivo.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Mastitis

La mastitis bovina es el principal problema de la ganadería lechera a nivel mundial y se considera el mayor problema del sector lácteo. A pesar del avance científico alcanzado en este campo, esta enfermedad permanece en la totalidad de los hatos lecheros (Bray y Broaddus 2006).

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria en respuesta a un daño local que puede ser de origen infeccioso, traumático o tóxico (Soca et al. 2005). Se estima que un tercio de las vacas lecheras están afectadas por cualquier forma de mastitis en uno o más cuartos. Comúnmente es una enfermedad infecciosa causada por más de 137 especies bacterianas siendo las especies de *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Corynebacterium* spp, y *Escherichia coli* los principales responsables de la misma (Bray y Broaddus 2006).

Se considera como una enfermedad compleja y es producto de la interacción de varios factores resumidos en el animal, el medio ambiente y los microorganismos, jugando el hombre un papel decisivo (Soca et al. 2005).

La mastitis subclínica es la forma de presentación más importante y es aún más común que la clínica; normalmente precede a la forma clínica, es de larga duración, difícil de tratar con antibióticos y de diagnosticar; reduce drásticamente la producción de leche, afecta adversamente la producción de la misma y puede servir como un foco para infectar otros animales del rebaño (Soca et al. 2005).

4.2 Estreptococos

4.2.1 Morfología y características principales

Son cocos gram positivos, entre esféricos y ovoides, que miden menos de dos micras, son inmóviles, se presentan solos, en pares o en cadenas. La mayoría son anaerobios facultativos y algunos anaerobios estrictos. Son catalasa y oxidasa negativos y con metabolismo fermentativo. Los estreptococos son muy exigentes desde el punto de vista de su cultivo, y la mayoría solo crecen en medios ricos. El más adecuado es el agar sangre de oveja, que permite determinar la actividad hemolítica (Carter y Chenga 1994, Nicolet 1995).

4.2.2 Clasificación

En este género hay numerosas especies de interés para la industria lechera. Pueden dividirse basándose en características de crecimiento, tipo de hemólisis y actividades bioquímicas. También pueden clasificarse en los grupos de Lancefield, clasificación basada en las diferencias serológicas respecto a un carbohidrato de su pared celular, llamado componente C. Las cepas también se clasifican de acuerdo al tipo de hemólisis: hemólisis alfa, beta y gamma (Carter y Chenga 1994, Nicolet 1995).

4.2.3 Epidemiología y patogenia

Se distribuyen extensamente en la naturaleza y como comensales en animales. Algunas especies forman parte de la flora bacteriana normal de la orofaringe, tracto genital, conducto del pezón, flora intestinal y piel; las especies patógenas pueden proceder de la flora permanente o presentarse como microorganismos transitorios, especialmente en la nasofaringe, tracto genital (vagina) y ocasionalmente en la piel (Carter y Chenga 1994, Nicolet 1995).

Los estreptococos son sensibles a la desecación. La forma de transmisión puede ser aerógena, a través de la leche, durante el parto, a través de la ordeñadora mecánica (Nicolet 1995).

La proteína M de superficie y en menor grado el ácido hialurónico se consideran los factores principales de virulencia en estreptococos. La capacidad que tiene para propagarse dentro del tejido y causar daño se debe de manera parcial a DNasa, hialuronidasa, estreptolisina O y S, NADasa, proteína M, leucotoxinas y el complejo mucopeptídico de la pared celular (Carter y Chenga 1994).

4.2.4 Sensibilidad a los antibióticos

Los estreptococos son en general bastante sensibles a los antibióticos betalactámicos y macrólidos, así como al cloranfenicol y las tetraciclinas. Tienen resistencia natural a los aminoglucósidos (Nicolet 1995).

4.2.5 Mastitis bovina

Entre los estreptococos que se relacionan como agente causal de la mastitis bovina se pueden mencionar: *Streptococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, *Streptococcus equi* subespecie *equi*, *S. dysgalactiae*, *S. equi* subespecie *zooepidemicus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus pneumoniae* y otros grupos de estreptococos como el Grupo G (Nicolet 1995).

4.2.5.1 *Streptococcus agalactiae*

Es uno de los principales agentes causales de la mastitis estreptococócica bovina. Esta mastitis puede ser de curso agudo o subagudo, aunque su forma típica es la crónica con el cuadro de una galactoforitis. El proceso es muy contagioso, tratándose de una infección galactógena (Nicolet 1995).

Su transmisión tiene lugar casi siempre durante el ordeño, en donde la infección se propaga por las manos del ordeñador o a través de las pezoneras de ordeñadoras mecánicas. Los factores del medio y la predisposición del animal favorecen el desarrollo de la mastitis e influyen sobre todo en el curso clínico (Carter y Chenga 1994, Nicolet 1995).

4.2.5.2 *Streptococcus dysgalactiae equisimilis*

Anteriormente llamado *S. equisimilis*. Se relaciona con paperas, infecciones en heridas, genitales, y mastitis equina; causando también infecciones en ganado. Este estreptococo se observa esporádicamente presente en casos de mastitis bovina (Carter y Chenga 1994, Nicolet 1995).

4.3 Estafilococos

4.3.1 Morfología

Son cocos gram positivos que se presentan en pares, cadenas cortas e irregularmente en racimos. Son aerobios y anaerobios facultativos, catalasa positivo, oxidasa negativos, no móviles, no esporuladores y fermentadores (Carter y Chenga 1994).

4.3.2 Caracteres diferenciales

El género *Staphylococcus* se divide en varias especies según una clasificación basada en la estructura de la pared celular (composición de peptidoglucano, ácido teicoico, presencia de proteína A) y en las propiedades bioquímicas y fisiológicas. La mayoría de especies patógenas de estafilococos son coagulasa positivos, y ciertas especies coagulasa negativas son también patógenas, así como sucede en mastitis bovina (Nicolet 1995).

4.3.3 Factores de virulencia

Los estafilococos patógenos producen numerosas enzimas y toxinas. La variedad de factores pueden variar de una cepa a otra, por lo que también difiere la virulencia entre ellas. Entre los diferentes factores de virulencia se pueden mencionar a los que interfieren con la fagocitosis, como la cápsula, proteína A, el factor de agregación, la coagulasa y la leucocidina; las exotoxinas como la hemolisina, enterotoxinas y exotoxina tipo C y las enzimas como estafilocinasa, hialuronidasa, nucleasa y otras (Nicolet 1995).

4.3.4 Sensibilidad a los antibióticos

Entre los antibióticos activos contra estafilococos se citan a los siguientes: los betalactámicos, macrólidos y algunos aminoglucósidos como la neomicina y la gentamicina. A pesar de que los antibióticos betalactámicos se recomiendan contra estafilococos, estos poseen alta resistencia a la penicilina. El problema de la resistencia bacteriana determinada por plásmidos existe tanto en los estafilococos patógenos así como en los no patógenos (Nicolet 1995).

4.3.5 Epidemiología

Los estafilococos (*Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *S. epidermidis*) tienen su hábitat natural en la piel y la mucosa nasal. Se distinguen cepas transitorias procedentes del medio ambiente y cepas resistentes que en pequeña cantidad pertenecen a la flora normal. *S. aureus* se encuentra en la glándula mamaria de la vaca y ocasionalmente en la mucosa nasal (Nicolet 1995).

4.3.6 Mastitis estafilocócica

La forma mas frecuente es la manifestación crónica, casi siempre subclínica. La penetración de las bacterias a la glándula mamaria se facilita en el ordeño, sobre todo, si se realiza con máquinas que funcionen deficientemente (cuando producen reflujos). La infección del parénquima se favorece por lesiones traumáticas producidas durante el ordeño. La gravedad del cuadro clínico se ve afectado por la virulencia del agente causal y el alcance de los factores favorables; así, puede consistir en mastitis subclínica o un proceso crónico en donde la secreción láctea esta claramente alterada (Nicolet 1995).

Patógenos animales importantes son *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus*, en donde el principal patógeno causante de mastitis es *S. aureus*. *S. epidermidis* es comensal común de piel y mucosa de los animales, comúnmente no es patógeno, pero puede causar mastitis (Carter y Chenga 1994).

4.4 *Acalypha guatemalensis* (Pax & Hoffm.)

4.4.1 Nombre común

Hierba del cáncer. Otros nombres populares son corrimiento o gusanillo

4.4.2. Familia

Euphorbiaceae

4.4.3 Descripción botánica

A. guatemalensis es una hierba perenne, recta; que puede medir hasta 1 m de alto, es simple o ramificada, vellosa cuando es joven. Sus hojas son ovaladas, alargadas con bordes festoneados de 4-7 cm de largo. Flores numerosas en racimos rojo oscuro, densas y espigas axilares y terminales de 4-5 cm de largo, semillas ovoides y suaves (Standley y Williams 1975).

4.4.4 Hábitat

Es nativa de Guatemala y Honduras, se encuentra en terrenos removidos, secos o húmedos en campos de cultivo y vegetación de 750-2500 msnm. En Guatemala se ha descrito en los departamentos de Baja Verapaz, Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, Quiché, Santa Rosa, Sacatepéquez y Sololá (Standley y Williams 1975).

4.4.5 Farmacología experimental y clínica

Los estudios antibacterianos realizados, han demostrado que la tintura de *A. guatemalensis* es activa contra *S. aureus*, *Salmonella typhi* y *Shigella flexneri* (Cáceres *et al.* 1987, Girón *et al.* 1991).

Experimentalmente se demostró evaluando el espectro de inhibición, que el extracto de *A. guatemalensis* inhibió en un 60% cepas de *S. typhi*, 50% de *S. aureus* y 15% de *Pseudomonas aeruginosa*. De estas bacterias, únicamente se confirmó la

actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *S. flexneri*. Para *S. aureus* la CIM es de 10 mg/mL. El mejor disolvente es el etanol (Cáceres *et al.* 1993).

4.5 *Lippia graveolens* (HBK)

4.5.1 Nombre común

Orégano. Otros nombres populares son mejorana, orégano de monte.

4.5.2 Familia

Verbenaceae.

4.5.3 Descripción botánica

L. graveolens es un arbusto delgado de hasta 2 m de longitud, sus ramas poseen pubescencia cortamente pilosa, hojas en peciolo (5-10 mm de largo) oblongas y elípticas, 2-4 cm de largo, obtusas o redondas en el ápice, subcordadas a la base, son densamente pilosas, suaves al tacto, densamente tomentosas. Sus flores van de subglobosas a oblongas, de 4-12 mm de largo, brácteas ovado – lanceoladas, agudas; cáliz de 1-2 mm de largo, glandular; y corola de 3-6 mm de largo (Standley y Williams 1970).

4.5.4 Hábitat

L. graveolens, es nativa desde el sur de Texas a Nicaragua, se encuentra en bosques secos y montes espinosos subtropicales, en pendientes pedregosas muy secas, en matorrales húmedos o secos y planicies hasta 350 msnm. En Guatemala se ha descrito en departamentos como El Progreso, Petén y Zacapa (Standley 1970, Ronquillo *et al.* 1988).

4.5.5 Propiedades medicinales

Se le atribuye propiedad antioxidante, antiséptica, aromática, calmante, carminativa, cicatrizante, desinflamante, diaforética, digestiva, diurética, emenagoga,

espasmolítica, estimulante, estomáquica, expectorante, pectoral, sudorífica y tónica (Zin y Weiss 1980, Nuñez 1986, Muñoz 1987, Ronquillo *et al.* 1988, Martínez 1992).

4.5.6 Farmacología experimental y clínica

Estudios probados han demostrado que el aceite de *L. graveolens* posee actividad significativa contra bacterias gram positivas y gram negativas (Salgueiro *et al.* 2003). Experimentalmente, se han descrito estudios que demuestran que la tintura y la infusión de hojas de *L. graveolens* son activas contra bacterias como *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes* (Mendoza 1995).

La concentración inhibitoria mínima (CIM) del extracto diclorometánico contra bacterias es 10 mg/mL, y del etanol de 1.75 mg/mL (Mendoza 1995).

4.6 *Piper jacquemontianum* (Kunth.)

4.6.1 Nombre común

Cordoncillo.

4.6.2 Familia

Piperaceae

4.6.3 Descripción botánica

Arbusto de aproximadamente 2 m de alto, hojas densamente hirsústulas o hispíduladas, aunque algunas veces sin vellosidades, pecíolos de hasta un centímetro de longitud y algunas veces más largos en las hojas más bajas. Las hojas son ovals-oblongas o elípticas-ovaladas, de 12 a 20 cm de longitud y 4.5 a 9 cm de ancho, terminando abruptamente en forma acuminada o largamente acuminada, bastante desigual en la base y más o menos oblicua, usualmente redondeada o más o menos obtusa en uno de sus lados. Es de superficie lustrosa cubierta de finas vellosidades, color verde oscuro o negruzco (Solís 2003).

4.6.4 Hábitat

Geográficamente se distribuye a lo largo de toda Mesoamérica. En Guatemala ha sido descrita en los departamentos de Guatemala, Petén, Alta Verapaz e Izabal (Cruz *et al.* 2005).

4.6.5 Farmacología experimental y clínica

En estudios efectuados se ha demostrado que el aceite esencial de las hojas de *P. jacquemontianum* presentan actividad contra *Mycobacterium smegmatis* y *Bacillus subtilis* a una concentración menor de 0.1 mg/mL. El extracto etanólico a concentración de 1 mg/mL presenta actividad contra *S. aureus*, *B. subtilis* y *M. smegmatis*, siendo la CIM de 0.5 mg/mL (Solís 2003, Cruz *et al.* 2005).

4.7 *Psidium guajava* (L.)

4.7.1 Nombre común

Guayaba. Otros nombres populares son guayabo, guayaba dulce, guayaba blanca (Robles *et al.* s.f.).

4.7.2 Familia

Myrtaceae.

4.7.3 Descripción botánica

P. guajava es un árbol de hasta 10 m de altura, con un tronco de 20-25 cm de diámetro; posee una corteza suave, pubescente, delgada, color rojo-café, que producen escamas que se desprenden. Sus hojas son verdes, opuestas, con pecíolo corto, elípticas u oblongas de 5-15 cm de largo, redondeadas en el ápice y en la base, y múltiples venas horizontales provistas de glándulas. Las flores son solitarias, color blanco, de 3-4 cm de ancho. Sus frutos son aromáticos, ovales o piriformes de 2-10 cm de largo con cáscara amarilla y carnaza rosada o amarilla, externamente granular y firme, al centro lleno de pulpa suave y jugosa y muchas semillas café claro (APROCSAL 1999).

4.7.4 Hábitat

Es nativa de América tropical y se puede encontrar en bosques húmedos y secos. En Guatemala ha sido descrita en todo el territorio, especialmente en Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa y Suchitepéquez (Standley y Williams 1975).

4.7.5 Propiedades medicinales

Tanto a las hojas, como a la corteza de *P. guajava* le son atribuidas propiedades antibacterianas, antieméticas, antiinflamatorias, antihelmínticas, antisépticas, antitusivas, astringentes, carminativas, espasmolíticas y tónicas. El fruto también posee propiedades desinflamantes (Mendieta y del Amo 1981, Planter 1989).

4.7.6 Farmacología experimental y clínica

En los diferentes estudios efectuados, se ha demostrado que la tintura de hojas es activa contra *E. coli*, *Shigella dysenteriae*, *S. typhi*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* y *P. aeruginosa* (Cáceres 1996). Se describe que la tintura inhibe en un 80% las cepas de *E. coli*, *S. thypi*, *S. dysenteriae* y *S. pyogenes*; y que el mejor disolvente es el etanol, siendo la CIM: 5 mg/mL para *S. typhi* y *S. aereus* (Cáceres *et al.* 1993).

Además, el extracto acuoso de la raíz y hojas actúan como antibacterianos. La actividad antibacteriana es atribuida a los flavonoides como la avicularina, guayaverina y quercetina (Cáceres 1996).

4.8 *Smilax domingensis* (Willd.)

4.8.1 Nombre común

Zarzaparrilla. Conocida popularmente como bejuco de la vida, diente de chucho, palo de la vida, cuculmeca roja o cuculmeca morada, bejuco de canasta, China root.

4.8.2 Familia

Smilacaceae

4.8.3 Descripción botánica

Es un bejuco leñoso o herbáceo, ramas cilíndricas, firmes, robustas, estriadas, con espinas glabras o pilosas en la parte basal y ausentes hacia el ápice, caracterizados por su intenso color rojo o morado. Sus hojas son simples, alternas, 1-6 veces más largas que anchas, ovadas, ovado-lanceoladas o lanceoladas, con ápice acuminado a levemente cuspidado, base aguda o redondeada, color verde-café. Sus frutos son bayas de 7-10 mm, rojas, moradas o negras cuando maduran. Rizoma leñoso (Cáceres 1996, Cáceres 2006).

4.8.4 Hábitat

S. domingensis es nativa de bosques húmedos hasta 2,100 msnm. Se encuentra distribuída desde Veracruz, México hasta Panamá y las Antillas. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Izabal, Petén, San Marcos y Santa Rosa (Arriaza 1993, Cáceres 2006).

4.8.5 Propiedades medicinales

Se le atribuye propiedad antiinflamatoria, antifúngica, antiprurítica, antirreumática, antiséptica, cicatrizante, desinflamante, estimulante, diurética, diaforética, depurativa, sudorífica y tónica (Cáceres 1996).

4.8.6 Farmacología experimental y clínica

La tintura del rizoma de *S. domingensis* es activa contra bacterias gram positivas y gram negativas. Estudios antibacterianos realizados, describen que dicha tintura es activa contra *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri* y *S. pyogenes* (Cáceres *et al.* 1993). La actividad antimicrobiana se debe a su composición con saponinas, en especial a la sarsasapogenina y parrillina (Lewis, 1989).

4.9 *Solanum americanum* (Miller)

4.9.1 Nombre común

Quilete. Popularmente también es llamada macuy o hierba mora.

4.9.2 Familia

Solanaceae

4.9.3 Descripción botánica

S. americanum es una hierba de 1 m de altura, con tallo pubescente, hojas pareadas o individuales de 3-14 cm de largo, lanceoladas con ápice agudo. Su inflorescencia es internodal, racemiforme, pedunculada, con pocas flores en cálices de 1-2 mm, con lóbulos ovalados, agudos, corola blanca y de 5-8 mm de ancho; su fruto es globoso y negro cuando está maduro, de 4-8 mm de diámetro y semillas pequeñas (Cáceres 1996).

4.9.4 Hábitat

S. americanum es nativa de América y crece en matorrales y sembradíos, a 350-1500 msnm; en Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Huehuetenango, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, Sacatepéquez, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (Cáceres 1996).

4.9.5 Farmacología experimental y clínica

En algunos estudios antibacterianos realizados, se demostró que la decocción de hojas de *S. americanum* tiene actividad antibiótica contra *S. aureus* (Cáceres *et al.* 1991). El mejor disolvente para la extracción de la actividad antibiótica es el etanol. (Cáceres *et al.* 1990). La actividad antibiótica del género *Solanum* se atribuye a α -solanina, el cual es un alcaloide esferoidal básico (Budavari 1989).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Recursos Humanos

5.1.1 Tesista

Vivian Mariela López Martínez

5.1.2 Asesores

Lic. Armando Cáceres Estrada

Med. Vet. Virginia Bolaños de Corzo

Mag. Sc. M.V. Dennis Guerra Centeno

5.2 Área de Trabajo

5.2.1 Laboratorio de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de San Carlos de Guatemala

5.2.2 Laboratorio de Bioensayos, Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala

5.2.3 Laboratorio de Investigación de Productos Naturales – LIPRONAT-, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.

5.3 Recursos Biológicos

5.3.1 Bacterias obtenidas de Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia:

Streptococcus agalactiae (Bacterias A, B y C)

Streptococcus dysgalactiae equisimilis (Bacteria D)

Staphylococcus intermedius (Bacteria E)

5.3.2 Material vegetal

Se adquirió material vegetal o extractos obtenidos de material vegetal proveniente del Laboratorio de Productos Naturales Farmaya, S.A., en donde se encuentra la muestra de referencia del herbario institucional.

Extracto	Parte	Disolvente	Herbario	Procedencia	Rendimiento (%)
<i>Acalypha guatemalensis</i>	Hoja y flor	Etanol al 95%	228	Chimaltenango	12.48
<i>Lippia graveolens</i>	Hoja	Etanol al 95%	604	Sierra de las Minas	9.20
<i>Piper jacquemontianum</i>	Hoja	Diclorometano	959	Cerro San Gil, Livingston, Izabal	8.13
<i>Piper jacquemontianum</i>	Hoja	Metanol	959	Cerro San Gil, Livingston Izabal	11.01
<i>Psidium guajava</i>	Hoja	Etanol al 70 %	210	San José Pinula, Guatemala	20.15
<i>Smilax domingensis</i>	Rizoma	Etanol al 95%	662	Samayac, Suchitepéquez	21.50
<i>Solanum americanum</i>	Hoja	Etanol al 95%	294	Samayac, Suchitepéquez	6.72

* Herbario Laboratorio de Productos Naturales Farmaya, S.A. (CFEH)

5.4 Materiales y equipo

5.4.1 Materiales

- Cajas de Petri descartables: simples y cuadrilates
- Cristalería (erlenmeyers, probetas, pipetas, vasos de precipitación, tubos de ensayo con tapón de rosca, balón para rotaevaporador)
- Medios de cultivo: agar Muller Hinton, agar Tripticasa soya, caldo Tripticasa soya
- Puntas amarillas de 200 µL
- Puntas azules de 1000 µL
- Plantilla para siembra
- Solución salina 0.85%
- Disolventes: agua desmineralizada, etanol al 50%, etanol al 70%, metanol absoluto y diclorometano.

5.4.2 Equipo

- Equipo de percolación
- Equipo de rotavapor
- Autoclave
- Incubadora a 36 °C
- Campana bacteriológica con flujo laminar
- Balanza analítica
- Pipetas automáticas

5.5 Métodos

5.5.1 Obtención y selección de las bacterias

Las bacterias se obtuvieron del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y provenían de muestras de leche remitidas por personas particulares durante el año 2007.

La selección de bacterias a utilizar se realizó en base a dos criterios:

- Incidencia alta en casos de mastitis
- Resistencia antimicrobiana (cepas resistentes a antibióticos usados en antibiogramas)

En el caso de *Streptococcus agalactiae*, se utilizaron tres bacterias (Bacterias A, B y C) aisladas de diferentes muestras de leche. Esta bacteria fue la de mayor incidencia en el cepario. De las bacterias *Streptococcus dysgalactiae equisimilis* (Bacteria D) y *Staphylococcus intermedius* (Bacteria E), se trabajó solamente una bacteria.

5.5.2 Selección de Plantas

Las plantas evaluadas fueron seleccionadas utilizando tres criterios:

- Nativas de Guatemala.
- Con actividad antimicrobiana comprobada en medicina humana.
- Con amplio espectro contra bacterias gram positivas y/o gram negativas.

5.5.3 Obtención de material vegetal

En el caso de *Psidium guajava* se obtuvo el material seco en Farmaya, S.A.

5.5.4 Obtención de extractos

Los extractos de *Piper jacquemontianum*, *Acalypha guatemalensis*, *Smilax domingensis*, *Solanum americanum* y *Lippia graveolens* se obtuvieron de la colección de extractos del Laboratorio de Bioensayos y de LIPRONAT, elaborados con material proveniente de Farmaya, S.A.

El extracto de *Psidium guajava* se obtuvo por percolación y concentración en rotavapor en el LIPRONAT con el fin de obtener los principios activos de la planta. El material vegetal se secó en horno y tamizó para reducir el tamaño de la partícula. Posteriormente se colocó en el percolador para efectuar la extracción continua. El extracto fue concentrado en rotavapor y luego colocado en desecadora, utilizando el método descrito por Cáceres *et al.* (1998).

5.5.5 Tamizaje de la actividad antibacteriana *in vitro*

La actividad antibacteriana se determinó utilizando el método de dilución descrito por Mitscher *et al.* (1972).

Para elaborar el agar-planta, se prepararon tubos con 9 mL de agar Mueller Hinton (se esterilizaron y enfriaron a 50°C) y se agregó 1 mL de la solución del extracto disuelto a una concentración de 10 mg/mL, obteniendo una concentración final de 1 mg/mL. Esta dilución fue agitada y vertida en cajas de Petri estériles. Posteriormente se dejó solidificar e incubar a 36°C durante 24 horas para comprobar esterilidad.

En la preparación del inóculo, se purificó la cepa bacteriana a ensayar, inoculándola en una caja con agar tripticasa soya, el cual fue incubado a 36°C durante 24 horas. Se inoculó una asada del cultivo puro bacteriano en un tubo con 5 mL de caldo tripticasa soya, y se incubó a 36°C durante 24 horas. Luego se diluyó 0.05 mL de la suspensión anterior en 4.95 mL de solución salina estéril (dilución 1:100).

Para la demostración de la actividad antibacteriana se inoculó una asada de cada una de las bacterias en las cajas con agar-planta en posiciones asignadas al azar en una disposición radial. Se realizaron cinco repeticiones por cada una de las bacterias. Se dejó reposar durante 5 a 10 minutos y se incubó a 36°C durante 24 horas.

Se utilizó como control negativo 9 mL de agar Muller Hinton mezclados con 1 mL de etanol al 50%, y como control positivo ciprofloxacina a concentraciones de 0.5, 5 y 50 µg/mL, mezclando 9 mL de agar Muller Hinton con 1 mL del antibiótico en las diferentes concentraciones respectivamente.

5.5.6 Determinación de la actividad antibacteriana

Para la interpretación de resultados se consideró como actividad negativa del extracto cuando se presentó crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo, actividad positiva cuando no se presentó crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo, o contaminación, cuando se presenció crecimiento bacteriano fuera de la inoculación.

5.5.7 CIM

Se determinó la CIM en los extractos con actividad positiva utilizando cajas cuadruplicate con diluciones seriadas, iniciando desde 1 mg/mL. Se inocularon tres estrías en cada uno de los cuadrantes de la caja, se dejó reposar por 5 a 10 minutos y se incubó a 36°C durante 24 horas. Los resultados se interpretaron de la forma descrita en el inciso anterior.

5.5.8 Método estadístico

Para determinar si las plantas poseían actividad antibacteriana se utilizó el modelo de hipótesis binomial (Milton 2001).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los extractos de *L. graveolens*, *P. guajava*, *S. domingensis* y *P. jacquemontianum* mostraron actividad inhibitoria contra las bacterias gram positivas: *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* y *S. intermedius*. El extracto de *A. guatemalensis* presentó actividad positiva sobre *S. agalactiae* y *S. intermedius*; mientras que el extracto de *S. americanum* inhibió únicamente a *S. agalactiae*.

En la Tabla 1 se presentan los resultados del tamizaje antibacteriano de los extractos etanólicos (*L. graveolens*, *P. guajava*, *A. guatemalensis*, *S. domingensis*, *S. americanum*), extracto metanólico (*P. jacquemontianum*) y extracto diclorometano (*P. jacquemontianum*), contra las bacterias gram positivas (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* y *S. intermedius*) aisladas de muestras de leche de vacas con mastitis; en donde se demuestra que 31 de 35 ensayos (88%) poseen actividad inhibitoria a 1000 µg/mL.

Tabla 1. Tamizaje de actividad antibacteriana de los extractos en estudio a una concentración de 1000 µg/mL

Extractos	Disolvente	Bacterias gram positivas				
		A	B	C	D	E
<i>Acalypha guatemalensis</i>	Etanol	-	+	+	-	+
<i>Lippia graveolens</i>	Etanol	+	+	+	+	+
<i>Piper jacquemontianum</i>	Diclorometano	+	+	+	+	+
<i>Piper jacquemontianum</i>	Metanol	+	+	+	+	+
<i>Psidium guajava</i>	Etanol	+	+	+	+	+
<i>Smilax domingensis</i>	Etanol	+	+	+	+	+
<i>Solanum americanum</i>	Etanol	+	+	+	-	-

A: *Streptococcus agalactiae*, B: *Streptococcus agalactiae*, C: *Streptococcus agalactiae*, D: *Streptococcus dysgalactiae*, E: *Staphylococcus intermedius*

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Se determinó la CIM de los extractos que mostraron actividad durante la fase de tamizaje contra las cinco cepas del estudio, haciendo un total de 31 ensayos que se clasificaron en los siguientes grupos:

Ensayos con actividad relevante (CIM < 60 µg/mL): 7

Ensayos con actividad moderada (CIM 61 – 250 µg/mL): 13

Ensayos con actividad leve (CIM 251 – 1000 µg/mL): 11

El extracto de *P. jacquemontianum* diclorometano fue el que demostró una actividad relevante, ya que presentó CIM menores a 60 µg/mL contra todas las bacterias, sobresaliendo el hecho, que contra *S. intermedius* y *S. dysgalactiae* mostró actividad a una CIM menor de 10 µg/mL. En el extracto de *P. guajava* se observó actividad intermedia; mientras que los demás extractos poseen actividad leve.

Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Concentración inhibitoria mínima de la actividad antibacteriana de los extractos en estudio en µg/mL

Extractos	Disolvente	Bacterias gram positivas				
		A	B	C	D	E
<i>Acalypha guatemalensis</i>	Etanol	>1000	1000	1000	>1000	1000
<i>Lippia graveolens</i>	Etanol	250	62.5	250	250	500
<i>Piper jacquemontianum</i>	Diclorometano	15.625	31.25	15.625	7.8125	3.9062
<i>Piper jacquemontianum</i>	Metanol	250	31.25	62.5	125	250
<i>Psidium guajava</i>	Etanol	125	31.25	125	62.5	250
<i>Smilax domingensis</i>	Etanol	1000	500	1000	1000	500
<i>Solanum americanum</i>	Etanol	500	125	1000	>1000	>1000

A: *Streptococcus agalactiae*, B: *Streptococcus agalactiae*, C: *Streptococcus agalactiae*, D: *Streptococcus dysgalactiae*, E: *Staphylococcus intermedius*

Sobre el extracto de *Piper jacquemontianum* se han realizado diferentes estudios; demostrándose en uno de ellos que el aceite esencial de sus hojas presenta actividad contra algunas bacterias gram positivas, y que el extracto etanólico posee actividad positiva contra *S. aureus* con una CIM de 500 µg/mL (Solís 2003, Cruz *et al.* 2005). En vista que estos estudios preliminares han demostrado que *P. jacquemontianum* posee la actividad biocida en sus aceites esenciales, en la presente investigación se estudiaron dos particiones: diclorometano y metanólico para evaluar en cuál de estas se concentraba el compuesto responsable de dicha actividad. Ambas particiones presentaron actividad positiva sobre las bacterias, inhibiéndolas a todas y presentando las menores CIM en comparación con los otros extractos. La mejor actividad se presentó en la partición de diclorometano; lo cual demuestra, que la mayor parte de moléculas activas se concentran en los aceites apolares; sin embargo en la partición metanólica también se concentran moléculas activas reflejadas en los resultados obtenidos.

El extracto de *P. jacquemontianum* diclorometano, presentó la menor CIM para *Staphylococcus intermedius* con 3.9062 µg/mL, siendo esta también la menor CIM en todo el estudio.

El segundo extracto que presentó mejor actividad fue el de *Psidium guajava*, inhibiendo todas las bacterias, pero con mayores CIM que las observadas con el extracto de *P. jacquemontianum*. La CIM menor que se obtuvo con *P. guajava* fue contra una de las tres bacterias aisladas de *Streptococcus agalactiae* (bacteria B), con 31.25 µg/mL. Al comparar estos resultados con otros obtenidos en estudios anteriores, se observó que las CIM obtenidas en el presente son menores, ya que se reportan CIM de 5000 µg/mL del extracto contra *S. aureus* (Cáceres *et al.* 1993). Esta diferencia podría estar influenciada por la susceptibilidad de las bacterias incluidas en el estudio, o bien, a la mayor concentración de los flavonoides en el extracto utilizado.

Otro de los extractos que inhibió todas las bacterias en el estudio fue *Lippia graveolens*, que a pesar de presentar mayores CIM que los extractos anteriores, se obtuvo una de 62.5 µg/mL contra *S. agalactiae* (bacteria B); CIM menor a las obtenidas en anteriores investigaciones, las cuales reportan 1750 µg/mL (Mendoza 1995).

En el caso de *Smilax domingensis*, que en la fase de tamizaje inhibió a las cinco bacterias, presentó menor actividad contra las bacterias utilizadas en el estudio al comparar las CIM obtenidas con los extractos descritos anteriormente. La menor CIM fue de 500 µg/mL, obtenida al enfrentar el extracto con la bacteria B de *S. agalactiae* y contra *S. intermedius*. Las bacterias podrían ser menos sensibles a los componentes activos de este extracto (saponinas), y por esto mostrar CIM más elevadas.

El extracto de *Acalypha guatemalensis* demostró actividad inhibitoria contra las bacterias B y C de *S. agalactiae* y contra *S. intermedius* a la mayor concentración (1000 µg/mL), sin embargo, esta CIM es menor a la observada en estudios previos del extracto contra la bacteria gram positiva *S. aureus*, en donde se presentó una CIM de 10,000 µg/mL. Lo anterior puede surgir por la sensibilidad de las bacterias utilizadas en el presente trabajo de investigación, en comparación con las cepas ATCC (American Type Culture Collection) aisladas de humanos, utilizadas en estudios previos, las cuales podrían poseer alguna resistencia a las moléculas activas del extracto.

Solanum americanum presentó actividad inhibitoria únicamente contra las tres bacterias aisladas de *S. agalactiae*, de las cuales con la bacteria B se presentó la menor CIM con 125 µg/mL. *S. americanum* fue el extracto que presentó menor actividad antibacteriana de los evaluados en este estudio, debido a que la principal actividad de su compuesto activo, la α -solanina, es antifúngica.

Este estudio demostró la efectividad antibacteriana de los extractos (*P. jacquemontianum*, *P. guajava*, *L. graveolens*, *A. guatemalensis*, *S. domingensis* y *S. americanum*) a concentraciones menores, comparadas a las obtenidas en estudios previos. Lo anterior pudo deberse a la susceptibilidad de las cepas bacterianas causantes de mastitis, a los compuestos presentes en los extractos evaluados; ya que muchos de ellos contiene combinaciones variables de metabolitos secundarios que son los responsables de la actividad antibacteriana; sin embargo en el presente estudio no es posible determinar cuál es el metabolito bioactivo.

Los extractos de *P. jacquemontianum* diclorometano, *P. guajava* y *L. graveolens* presentaron actividad relevante y moderada contra las bacterias utilizadas en el estudio (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* y *S. intermedius*), evidenciando que son alternativas potenciales para realizar estudios farmacológicos y así poder utilizarlos industrialmente.

VII. CONCLUSIONES

1. Los extractos de *L. graveolens*, *P. guajava*, *S. domingensis* y *P. jacquemontianum* presentaron actividad inhibitoria a una dosis inicial de 1000 $\mu\text{g/mL}$ contra las bacterias gram positivas *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* y *S. intermedius*, mientras que el extracto de *A. guatemalensis* presentó actividad positiva sobre *S. agalactiae* y *S. intermedius*; y el extracto de *S. americanum* inhibió únicamente a *S. agalactiae*.
2. El extracto de *P. jacquemontianum* diclorometano fue el que presentó mayor actividad antibacteriana, obteniendo la menor CIM del estudio frente a *S. intermedius* con 3.91 $\mu\text{g/mL}$, demostrándose así que su actividad se encuentra en la fase apolar, posiblemente en el aceite esencial.
3. *P. guajava* y *L. graveolens* demostraron en el presente estudio poseer actividad antibacteriana moderada, obteniéndose una CIM de 31.25 $\mu\text{g/mL}$ y 62.5 $\mu\text{g/mL}$ contra *S. agalactiae* (bacteria B) respectivamente.
4. Los extractos de *S. domingensis*, *A. guatemalensis*, y *S. americanum* fueron los que presentaron menor actividad antibacteriana, obteniéndose las CIM más elevadas del estudio entre 125 $\mu\text{g/mL}$ y 1000 $\mu\text{g/mL}$.
5. Las bacterias más sensibles fueron los *S. agalactiae*, específicamente *S. agalactiae* B, que fue inhibido por todos los extractos, presentando como menor CIM 31.25 $\mu\text{g/mL}$.
6. Con la presente investigación se demuestra que los extractos de plantas de uso medicinal que han mostrado actividad antibacteriana con patógenos humanos, lo son también activos contra patógenos importantes en medicina veterinaria.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Fraccionar el extracto de *P. jacquemontianum* diclorometano para poder aislar la o las moléculas activas responsables de la actividad antibacteriana.
2. Realizar particiones en diclorometano, cloroformo, acetato de etilo y agua de los extractos de *P. guajava* y *L. graveolens* para determinar en cuál de estas se presenta mejor actividad antibacteriana.
3. Incrementar el número de cepas de los principales microorganismos responsables de mastitis en vacas para ampliar el espectro de inhibición con los extractos que presentaron mejores resultados.
4. Continuar con ensayos de la actividad antimicrobiana *in vitro* de microorganismos causantes de mastitis con otros productos naturales de uso medicinal.
5. Realizar pruebas de toxicidad de los extractos con mejor actividad positiva obtenida, con ensayos *in vitro* e *in vivo*.
6. Formular un producto farmacéutico que permita efectuar estudios *in vivo* para determinar la efectividad de los extractos que presentaron mejor actividad antibacteriana en el estudio.

IX. RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de determinar científicamente la actividad antibacteriana *in vitro* de seis especies de plantas de uso medicinal (*Acalypha guatemalensis*, *Lippia graveolens*, *Piper jacquemontianum*, *Psidium guajava*, *Smilax domingensis* y *Solanum americanum*) sobre bacterias gram positivas (*Staphylococcus intermedius*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae equisimilis*), causantes de mastitis en vacas lecheras.

Teniendo en cuenta que no existían estudios científicos previos de fitoterapia aplicado al tratamiento de mastitis en vacas lecheras en el campo de Medicina Veterinaria, estos resultados son parte de la línea base para estudios clínicos que permitan elaborar medicamentos naturales como una alternativa en el tratamiento de mastitis.

Las bacterias se obtuvieron del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Los extractos de *A. guatemalensis*, *L. graveolens*, *P. jacquemontianum*, *S. domingensis* y *S. americanum* se obtuvieron de la colección de extractos del Laboratorio de Bioensayos y de LIPRONAT; el extracto de *P. guajava*, se obtuvo por percolación y concentración en rotavapor en el LIPRONAT, utilizando el método descrito por Cáceres *et al.* (1998). El material vegetal de todos los extractos provenía del Laboratorio de Productos Naturales Farmaya, S.A. La actividad antibacteriana se determinó utilizando el método de dilución descrito por Mitscher *et al.* (1972); y para determinar estadísticamente si las plantas poseían actividad antibacteriana se utilizó el modelo de hipótesis binomial (Milton, 2001).

Los extractos de *L. graveolens*, *P. guajava*, *S. domingensis* y *P. jacquemontianum* presentaron actividad inhibitoria a una dosis inicial de 1000 µg/mL contra las bacterias gram positivas *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* y *S. intermedius*, mientras que el extracto de *A. guatemalensis* presentó actividad positiva sobre *S. agalactiae* y *S.*

intermedius; y el extracto de *S. americanum* inhibió únicamente a *S. agalactiae*. A estos ensayos *in vitro* que mostraron actividad inhibitoria en el tamizaje inicial se les determinó la concentración mínima inhibitoria (CIM). El extracto de *P. jacquemontianum* diclorometano fue el que presentó mayor actividad antibacteriana, obteniendo la menor CIM del estudio frente a *S. intermedius* con 3.91 µg/mL. *P. guajava* y *L. graveolens* demostraron poseer actividad antibacteriana moderada, obteniéndose una CIM de 31.25 µg/mL y 62.5 µg/mL contra *S. agalactiae* (bacteria B) respectivamente. Los extractos de *S. domingensis*, *A. guatemalensis*, y *S. americanum* fueron los que presentaron menor actividad antibacteriana, obteniéndose las CIM más elevadas del estudio entre 125 µg/mL y 1000 µg/mL.

X. BIBLIOGRAFÍA

APROCSAL (Asociación de Promotores Comunales Salvadoreños, SV). 1999. Plantas Medicinales. Guayaba no.1. San Salvador, El Salvador. 8 p.

Arriaza, DA. 1983. Acción diurética y antimicrobiana de algunos vegetales del género *Smilax*. Tesis Lic. Quím. Biol. Guatemala, GT, Fac CC. QQ / USAC. 50 p

Bray, J, Broaddus, W. 2006. Prevención de la mastitis bovina: La desinfección de los pezones post-ordeño (en línea). Consultado 15 oct. 2007. Disponible en <http://www.monografias.com/trabajos36/prevencion-mastitis/prevencion-mastitis.shtml>

Budavari, S. 1989. The Merck Index. s.l, Rahway, Merck & Co. 1606 p.

Cáceres, A. 1990. Organización del programa nacional de plantas medicinales de Guatemala. V Seminario Nacional de Plantas Medicinales. p 1-8

_____. 1996. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala, GT, Editorial Universitaria. 401 p.

_____. 2006. Vademécum Nacional de Plantas Medicinales. Guatemala, GT, MSPAS y USAC. 250 p

_____; Girón, ML; Alvarado, SR; Torres, MF. 1987. Screening of antimicrobial activity of plants popularly used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal diseases. J Ethnopharmacol. 20: p 223-237

_____; Cano, O; Samayoa, B; Aguilar, L. 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. J Ethnopharmacol. 30: p 55-73

_____; Samayoa, B; Fletes, L. 1990. Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones. Guatemala, GT. Cuadernos DIGI 4-90: 98 p.

_____; Figueroa, L; Taracena, AM; Samayoa, B. 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases: Evaluation of activity of 16 plants against Gram-positive bacteria. J Ethnopharmacol. 39: p 77-82

Carter, GR; Chenga, MM. 1994. Bacteriología y Micología Veterinarias, aspectos esenciales. 2 ed. El Manual Moderno. p 185-205

Cruz, SM; Samayoa, M; Cáceres, A; Gaitán, I; Molina, R; Álvarez, L. 2005. Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de cinco especies nativas de *Piperaceae*. Tikalia 23 (2): 51-67

Girón, LM; Freire, AV; Alonzo, A; Cáceres, A. 1991. Ethnobotanical survey of medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. J Ethnopharmacol. 34: p 173-187

Lewis, DA. 1989. Anti-inflammatory drugs from plant and marine sources. Basel, Birkhauser Verlag. 373 p.

Martínez, M. 1992. Las plantas medicinales de México. México, Botas. 656 p.

Mendieta, RM; del Amo, S. 1981. Plantas medicinales del estado de Yucatán, Xalapa. México, INIREB. 428 p.

Mendoza, JC. 1995. Confirmación de la actividad antimicrobiana de tres especies del género *Lippia*. Tesis Lic. Quím. Biol. Guatemala, GT, Fac. CC. QQ. / USAC. 46p.

Milton, JS. 2001. Estadística para biología y ciencias de la salud. 3 ed. Madrid, ES. Mc Graw Hill. p 503-505.

Muñoz, F. 1987. Plantas medicinales y Aromáticas. Estudio, cultivo y procesado. Madrid, ES, Mundi Prensa. 365 p.

Nicolet, J. 1985. Compendio de bacteriología médica veterinaria. Zaragoza, ES. Acribia. p 115-136

Núñez, E. 1986. Plantas medicinales de Costa Rica y su folklore. San José, CR, Universidad de Costa Rica. 318 p.

Planter. 1989. Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la flora salvadoreña. San Salvador, SV, Universidad de El Salvador. 619 p.

Ronquillo, FA; Melgar, MF; Carrillo, JE; Martínez, AB. 1988. Especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y medicina en las zonas semiáridas del nororiente de Guatemala. Guatemala, GT, Cuadernos DIGI. 249 p.

Salgueiro, LR; Cavaleiro, C; Gonçalves, MJ; Proença da Cunha, A. 2003. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Medicinal*. 69: 80-83

Soca, M; Suárez, Y; Pestano, M; Puro, C. 2005. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET, Vol VI. Evaluación epizootiológica de la mastitis bovina en dos unidades ganaderas de la Empresa Pecuaria "El Cangre" (en línea). Consultado 15 oct 2007. Disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080505.html>

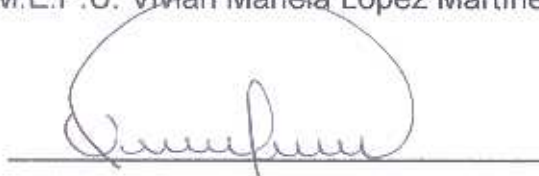
Solís, G. 2003. Actividad biocida de cuatro plantas de uso medicinal en el Parque nacional Laguna de Lachuá. Tesis Lic. Quim. Biol. Guatemala, GT, Fac. CC. QQ. / USAC. 40 p.

Standley, PC; Williams, LO. 1970. Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*. 24(9): 126.

_____. 1975. Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*. 24(11): 93.

Zin, J; Weiss, C. 1980. La salud por medio de las plantas medicinales. Santiago, CL, Editorial Salesiana. 387 p.

M.E.P.U. Vivian Mariela López Martínez



Asesor Lic. Armando Cáceres Estrada



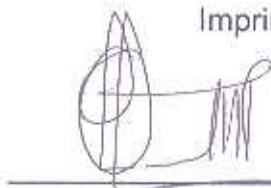
Asesora Dra. Julia Virginia Bolaños de Corzo



Asesor M. Sc. Dennis Sigfried Guerra Centeno



Imprimase:



Dr. Leonidas Ávila Palma
DECANO

