

**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 knight on horseback, holding a shield and a sword. Above the knight is a crown. The seal is surrounded by Latin text: "UNIVERSITAS SAN CAROLINI CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CAETERAS" and "1690".

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in Vitro* DE EXTRACTOS DE SEIS
ESPECIES DE PLANTAS DE USO MEDICINAL FRENTE A CEPAS
BACTERIANAS CAUSANTES DE METRITIS EN VACAS LECHERAS**

MARIA ALEJANDRA MARTINEZ HARO

Guatemala, Julio, 2009.

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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in Vitro* DE EXTRACTOS DE SEIS
ESPECIES DE PLANTAS DE USO MEDICINAL FRENTE A CEPAS
BACTERIANAS CAUSANTES DE METRITIS EN VACAS LECHERAS**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or historical figure, surrounded by architectural elements like columns and a banner. The text 'UNIVERSITAS SAN CAROLIS GUATEMALAE' is inscribed around the perimeter, and 'ACADEMIA COACENSIS' is visible on the right side. The word 'TESIS' is printed in the center of the seal.

TESIS

**Presentada a la Honorable Junta Directiva
de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la Universidad de San Carlos de Guatemala**

POR

MARIA ALEJANDRA MARTINEZ HARO

Previo a optar al título profesional de

Médica Veterinaria

Guatemala, Julio, 2009.

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

DECANO: Med. Vet. Leonidas Ávila Palma
SECRETARIO: Med. Vet. Marco Vinicio García Urbina
VOCAL I: Med. Vet. Yeri Edgardo Véliz Porras
VOCAL II: Mag. Sc. M.V. Fredy R. González Guerrero
VOCAL III: Med. Vet. Y Zoot. Mario Antonio Motta González
VOCAL IV: Br. David Granados Dieseldorff
VOCAL V: Br. Luis Guillermo Guerra Bone

ASESORES

Med. Vet. Jorge David Morán Villatoro
Med. Vet. Blanca Josefina Zelaya Pineda de Romillo
Q.B. Armando Cáceres Estrada

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de tesis titulado:

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE EXTRACTOS DE SEIS ESPECIES DE PLANTAS DE USO MEDICINAL FRENTE A CEPAS BACTERIANAS CAUSANTES DE METRITIS EN VACAS LECHERAS

Que me fuera aprobado por la Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Previo a optar al título profesional de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO

A mi Señor Jesucristo,

Porque sin su gran amor y misericordia, este hermoso sueño no hubiese podido ser una realidad para mi.

A mi Mamá,

Por su inmenso esfuerzo, lucha constante, amor y dedicación para que pudiera alcanzar mis metas con alegría y satisfacción.

A mi Papá,

Por su amor, gran apoyo y consejos, brindándome su mano en los momentos que lo he necesitado.

A mi Tío Lauro (†) y Tía Dorita,

Por recibirme con los brazos abiertos, darme tanto amor y dedicación, forjando en mi corazón un espíritu luchador, emprendedor y vencedor pero siempre con rectitud y respeto al prójimo.

AGRADECIMIENTOS

A Dios,

Por las Grandes bendiciones que me has otorgado, por tu amor infinito y consentirme tanto. Porque no has podido darme mejor vida y mayor felicidad, que la que he recibido y compartido con mis seres queridos.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS,
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA,
Por abrirme las puertas hacia la sabiduría.

A mi Tío Lauro (†),

Por ser como un padre para mí, por quererme tanto y guiarme con firmeza pero bajo el amor de Dios por el camino de la vida.

A mi Padres,

Porque gracias a ustedes y al milagro de la vida puedo estar presente, aquí, gozosa disfrutando de las maravillas de este mundo.

A mi tía Dorita,

Por todo, todo tu amor, dulzura y dedicación que me has dado, siendo como una segunda madre para mí, gran bendición que me ha sido otorgada y en la cual me regozigo.

A Juan de Dios Ríos,

Por tu gran amor, amistad, constante apoyo, y risas de felicidad que has plasmado en mi corazón. Porque gracias a su insistencia conocí al hombre maravilloso, que me ha brindado un amor sincero y enriquecido mi espíritu.

A mis Padrinos, Edgar y Lidia,

Por la manera incondicional en que me han ofrecido su cariño y ser un soporte para mi vida.

A mi familia,

Por su cariño y apoyo que me han brindado.

A mis amigos,

Daniela, Manuel, Luis Emilio (manín), Héctor (Gato), Juan José, Samuel, Eduardo y Leonidas (kiki) por los momentos de alegría y de tristeza en los que nos hemos apoyado, por las risas, los desvelos, los enojos, las muchas horas, días y noches que pasamos juntos, llegando a formar una hermosa y sincera amistad. Los quiero mucho amigos, y sin ustedes mi vida no sería la misma, porque le faltaría color.

A mis compañeros de promoción,

Fue un placer haber recorrido este camino junto a ustedes.

Al CIETA,

Por su gran apoyo e incentivar me para poder llevar a cabo ésta investigación tan importante para mí.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,

En especial al Laboratorio de Citohistología, por abrirme las puertas y ayudarme a llevar a cabo éste proyecto.

A mis maestros,

Gracias por sus conocimientos, dedicación y amistad que me brindaron.

A mis asesores,

Por dedicarme su tiempo y apoyo de manera incondicional.

A mis padrinos de graduación,

Por abrirme un camino de conocimientos y ocupar un lugar muy especial no sólo en mis pensamientos, sino en el corazón.

ÍNDICE

I. Introducción.....	1
II. Hipótesis.....	2
III. Objetivos.....	3
IV. Marco Teórico	
4.1 Plantas en Estudio.....	4
4.1.1 Cordoncillo <i>Piper jacquemontianum</i>	4
4.1.2 Guayaba <i>Psidium guajava</i>	5
4.1.3 Hierba del cáncer <i>Acalypha guatemalensis</i>	6
4.1.4 Orégano <i>Lippia graveolens</i>	7
4.1.5 Quilete <i>Solanum americanum</i>	8
4.1.6 Zarparrilla <i>Smilax domingensis</i>	9
V. Materiales y Métodos	
5.1. Materiales.....	11
5.1.2 Equipo.....	11
5.1.3 Recursos biológicos.....	12
5.1.4 Recursos humanos.....	12
5.2. Métodos	
5.2.2 Área de estudio.....	13
5.2.3 Selección de cepas bacterianas.....	13
5.2.4 Criterios de inclusión.....	13
5.2.5 Criterio de selección de las plantas.....	14
5.2.6 Obtención de las plantas.....	14
5.2.7 Obtención de extractos.....	15
5.2.8 Validación del ensayo.....	15
5.2.9 Determinación de la actividad antibacteriana.....	15
5.2.10 Comparación de la actividad antimicrobiana.....	16
5.2.11 Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM).....	16
5.2.12 Análisis estadístico.....	16
VI. Resultados y Discusión.....	17
VII. Conclusiones.....	23
VIII. Recomendaciones.....	24
IX. Resumen.....	25
X. Bibliografía.....	27

I. INTRODUCCIÓN

La metritis es la inflamación del útero que se presenta con frecuencia como una infección secundaria a los abortos, un parto difícil, placenta retenida o después de una infección placentaria ocasionada por diversas causas. Aunque ocurre esporádicamente en todos los mamíferos, adquiere mayor importancia económica en ganado lechero. Es una de las enfermedades más importantes (después de la mastitis) con la cual debe enfrentarse la industria lechera.

En ganado lechero, la metritis se trata comúnmente utilizando antibióticos, pero su uso inapropiado ha producido resistencia de las bacterias hacia los mismos. Además, cuando se utilizan antibióticos, la leche debe ser descartada, por dos u ocho días dependiendo de éste, lo cual resulta en grandes pérdidas de dinero para los productores.

Por lo tanto se hace necesario buscar alternativas para el tratamiento de la metritis, que sean eficaces, económicas, seguras y que no tengan el impacto que tiene el uso de antibióticos. Una alternativa es el uso de extractos vegetales ya que, muchos preparados usados en la medicina convencional contienen las mismas moléculas activas que en la medicina natural, pero cuya fuente proviene de plantas.

En la presente investigación evalué el efecto de los extractos de Cordoncillo (*Piper jacquemontianum*), Guayaba (*Psidium guajava*), Hierba del cáncer (*Acalypha guatemalensis*), Orégano (*Lippia graveolens*), Quilete (*Solanum americanum*), y Zarzaparrilla (*Smilax domingensis*), contra diversas cepas *in vitro* (*Aerococcus viridans* 2, *Actinomyces pyogenes*, *Propionibacterium acnes*, y *Arthrobacter* spp) causantes de metritis en vacas lecheras, con el fin de determinar la actividad antibacteriana de las plantas contra las cepas bacterianas e identificar los extractos con mayor actividad antimicrobiana.

II. HIPÓTESIS

- Al menos uno de los seis extractos elaborados con plantas de uso medicinal, presenta actividad antibacteriana, <1 mg/ml, frente a cepas causantes de metritis en vacas lecheras.

III. OBJETIVOS

3.1 GENERAL:

Generar información acerca del uso de plantas medicinales que pueda ser utilizada para el tratamiento de metritis en vacas lecheras.

3.2 ESPECÍFICOS:

- Determinar la efectividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólicos de 6 especies de plantas de uso medicinal frente a las cepas causantes de metritis en vacas lecheras.
- Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos activos contra las bacterias estudiadas.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1 PLANTAS EN ESTUDIO

4.1.1 CORDONCILLO *Piper jacquemontianum* Kunth (Piperaceae).

4.1.1.2 Hábitat

Nativo de bosques húmedos tropicales, entre los 0-1000 msnm. Se distribuye desde México hasta Costa Rica y en el este de las Islas Indias de Puerto Rico y Haití. En Guatemala se le encuentra en Alta Verapaz, Escuintla, Izabal, Petén, Santa Rosa (Tebbs, 1993).

4.1.1.3 Etnobotánica

Se utiliza para aliviar la opresión en el pecho o el dolor de corazón, tos, fiebre y granos (Cleaves, 2000).

4.1.1.4 Espectro de Acción

El extracto etanólico es activo contra *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium smegmatis* y *Bacillus subtilis*, a una concentración de 0.5 mg/mL (Solís et al. 2003).

4.1.1.5 Fitoquímica

Contiene derivados de la fenilalanina, monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanos, lignanos, un derivado furfuránico, cinnamoilamidas, α -pironas, derivados de la aporfina, taninos, esteroides, proantocianidinas y flavononas (Tebbs, 1993; Cruz, 2005).

4.1.1.6 Principios activos

La actividad antibacteriana no se atribuye a algún compuesto específico presente en la planta; pero si se sabe que actúa a nivel de la pared celular, inhibiendo el crecimiento de bacterias Gram positivas pero no de las Gram negativas (Solís et al. 2003), ya que éstas últimas presentan dos membranas lipídicas entre las que se localiza una fina pared celular de peptidoglicano (Tebbs, 1993; Cruz, 2005).

4.1.2 GUAYABA *Psidium guajava* L. (Myrtaceae).

4.1.2.2 Hábitat

Se encuentra en bosques húmedos y secos, pastos y bosquecillos puros del árbol; en Guatemala se ha descrito en todo el país, particularmente en; Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa y Suchitepéquez (Standley & William, 1963).

4.1.2.3 Etnobotánica

Por su actividad antibacteriana, anticándida y tricomonocida, la decocción y tintura están indicadas para baños y lavados en el tratamiento de afecciones dermatomucosas (CEMAT-FARMAYA, 1990) como: fístulas, leucorrea, pioderma, úlceras. (Linares et al. 1988; Ayensu, 1981; Girón et al. 1991); los supositorios a base del extracto acuoso están indicados para tratar candidiasis y tricomoniasis vaginal (CEMAT-FARMAYA, 1990).

4.1.2.4 Espectro de Acción

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas es activa contra *Escherichia coli*, *Streptococcus dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Shigella flexneri* y *Pseudomonas aeruginosa*, es inactiva contra *Vibrio cholerae* y *Neisseria gonorrhoea*. La tintura inhibe 80% de cepas de *E. coli*, *S. typhi*, *S. dysenteriae* y *Streptococcus pyogenes*; el mejor disolvente es etanol y la CIM 5 mg/mL para *S. typhi* y *S. aureus* (Cáceres et al. 1995). El extracto acuoso de raíz, hojas y tallo es antibacteriano (Nickell, 1959).

4.1.2.5 Farmacognoscia

La materia médica son las hojas y corteza secas (Khan & Ahmed, 1985).

A las hojas se les atribuye propiedad antibacteriana, antiemética, antiinflamatoria, antihelmíntica, antiséptica, antitusiva, astringente, carminativa, espasmolítica y tónica (Ayensu, 1981).

4.1.2.6 Fitoquímica

La planta es rica en taninos (hojas 9-10%, corteza 12-30%), las hojas contienen grasas, ácido maslínico y elágico, aceites esenciales, triterpenoides, ácidos orgánicos, flavonoides derivados de quercitina como guayaverina (Morton, 1981).

Las hojas contienen proteínas, grasas, carbohidratos, fibra, ceniza, calcio, fósforo, vitamina A y ácido ascórbico (Morton, 1981).

4.1.2.7 Principios activos

La actividad antibacteriana se atribuye a los flavonoides avicularina, guayaverina y quercitina (Berdy et al. 1982).

4.1.3 HIERBA DEL CÁNCER *Acalypha guatemalensis* Pax & Hoffm. (Euphorbiaceae).

4.1.3.2 Hábitat

A. guatemalensis es nativa de Guatemala y Honduras, común en terrenos removidos, secos o húmedos, en campos de cultivo y vegetación de 750-2,500 msnm. En Guatemala se ha descrito en Baja Verapaz, Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, Quiché, Santa Rosa, Sacatepéquez y Sololá (Standley et al. 1949).

4.1.3.3 Etnobotánica

Por vía tópica la decocción se ha utilizado en compresa, lavados y emplasto para tratar afecciones de la piel y en lavados para vaginitis (Girón et al. 1991).

Se les atribuye propiedad antiemética, antiséptica, desinflamante, diurética y espasmolítica (Nelson, 1986).

4.1.3.4 Espectro de Acción

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas es activa contra *S. aureus*; *S. typhi* y *S. flexneri* (Cáceres et al. 1990; Girón et al. 1991). El espectro de

inhibición demostró que 60% de cepas de *S. typhi*, 50% de *S. aureus* y 15% de *P. aeruginosa* son inhibidas por el extracto de *A. guatemalensis* (Ramírez, 1988); se confirmó la actividad contra *S. flexneri* y *S. aureus*, no así contra *S. typhi*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*; el mejor disolvente es metanol, CIM 10 mg/mL para *S. aureus* (Cáceres et al. 1993).

4.1.3.5 Farmacognoscia

La materia médica son las hojas y brotes secos (Cáceres et al. 1990).

4.1.3.6 Fitoquímica

Contiene alcaloides no cuaternarios, taninos, antraquinonas, glicósidos cianógenos, ácidos diterpénicos, azúcares desoxigenados y polifenoles (Oliva, 1979).

4.1.4 ORÉGANO *Lippia graveolens* HBK (Verbenaceae).

4.1.4.2 Hábitat

Se encuentra en bosques secos, y montes espinosos subtropicales, en pendientes pedregosas muy secas, en matorrales húmedos secos y planicies hasta 350 msnm. En Guatemala se ha descrito en El Progreso, Peten y Zacapa (Standley & Williams, 1970).

4.1.4.3 Etnobotánica

Por sus propiedades antisépticas y cicatrizantes la infusión y esencia en linimento y pomadas están indicadas para tratar heridas (Arteche, 1992).

4.1.4.4 Espectro de Acción

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de hojas de *L. graveolens* es activa contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. flexneri*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*, pero inactiva contra *Haemophilus influenzae* (Mendoza, 1995).

La CIM del extracto etanólico contra bacterias es 1.75 mg/mL (Mendoza, 1995).

4.1.4.5 Farmacognoscia

La materia médica son las hojas y sumidades floridas secas (Cáceres et al. 1990).

4.1.4.6 Fitoquímica

Las hojas contienen: aceites esenciales (1.8%), glicósidos saponínicos, taninos y triterpenos, celulosa, pigmentos y elementos minerales (Ortiz & Brower; 1985).

4.1.5 QUILETE *Solanum americanum* Miller (Solanaceae).

4.1.5.2 Hábitat

S. americanum es nativa de América, crece en matorrales y sembradíos de 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 (Gentry & Standley, 1974).

4.1.5.3 Etnobotánica

La decocción de hojas se utiliza por vía tópica para el tratamiento de afecciones dermatomucosas (acné, abscesos, dermatitis, eczema, erisipela, exantema, heridas, leucorrea, llagas, tiña, úlceras y vaginitis) (House et al. 1995).

4.1.5.4 Espectro de Acción

La decocción de hojas de *S. americanum* tienen actividad antibiótica contra *S. aureus*; la de *Solanum nigrescens* contra *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *S. pyogenes*, pero no contra *V. cholerae* (Cáceres et al. 1991).

El mejor disolvente para la extracción de la actividad antibiótica es el etanol (Cáceres et al. 1990).

4.1.5.5 Farmacognoscia

La materia vegetal usada como medicina son las hojas sazonas secas y frutos secos (Lewis, 1989).

4.1.5.6 Fitoquímica

Contiene alcaloides (solasodina, solasonina, glucoalcaloides y alcalinas) (Linares et al. 1988).

4.1.5.7 Principios activos

La actividad antibiótica del género *Solanum* se atribuye a α -solanina, un alcaloide esferoidal básico, que presenta actividad antiinflamatoria (Lewis, 1989).

4.1.6 ZARZAPARRILLA *Smilax domingensis* Killip & Morton (Smilacaceae).

4.1.6.2 Hábitat

Nativa de bosques húmedos hasta 1,300 msnm. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Izabal, Peten, San Marcos y Santa Rosa (Standley, 1970).

4.1.6.3 Etnobotánica

La decocción del rizoma se aplica tópicamente para tratar diversas afecciones dermatomucosas (alergia, eccema, tinea, psoriasis) (CEMAT-FARMAYA, 1992).

4.6.4 Espectro de Acción

Estudios farmacológicos demuestran que las decocciones de rizoma de *S. lundelli* tienen actividad inmunomoduladora en ratones medida por un aumento en la población de linfocitos y en los títulos de anticuerpos séricos (Lara, 1991).

Estudios antibacterianos demuestran que la tintura de raíz de *S. lundelli* es activa contra *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. typhi*, *S. dysenteriae*, *S. flexeneri* y *S. pyogenes*, pero inactiva contra *V. cholerae* (Cáceres et al. 1993).

4.1.6.5 Farmacognoscia

La materia médica son raíces y rizomas secos (Lara, 1991).

Se le atribuye propiedad antiinflamatoria, antifúngica, antiprurítica, antiséptica, cicatrizante, desinflamatoria (CEMAT-FARMAYA, 1992).

4.1.6.6 Fitoquímica

El tamizaje fitoquímico de *S. domingensis* contiene alcaloides, aceites esenciales, esteroides insaturados, glicósidos esteroidales (saponinas, cardenólidos, bufadienólicos), flavonoides, leucoantocianinas, taninos, polifenoles, resinas, azúcares y grasas (Arriaza, 1983). Se han aislado agliconas esteroidales (parillina, sarsasapogenina, sminlagenina), β -sitosterol, stigmasterol, ácido sarsápico; otros constituyentes son polinastatina, ácido paraopárico, resinas, aceites, ácidos grasos (palmitito, esteárico, behénico, oleico, linoléico); contiene sales minerales que incluye óxido silícico (1.2%), aluminio (0.4%), calcio (0.4%), magnesio (0.3%), potasio (1.2%) y cloro (0.4%), magnesio (0.3%), potasio (1.2%) y cloro (0.4%) (Lewis, 1989).

4.1.6.7 Principios activos

La actividad antimicrobiana se atribuye a las saponinas, en particular a sarsapogenina y parillina. La parillina es una saponina soluble en alcohol, acetona y benceno; tiene actividad antiinflamatoria (Lewis, 1989).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materiales

- Agar Müeller Hinton
- Caldo tripticasa soya
- Agua desmineralizada
- Disolvente orgánico (hexano, pentano o xileno)
- Etanol al 95 %
- Solución salina
- Asa de nicromo
- Cajas de petri cuadriplate
- Cajas de petri simples
- Erlenmeyers
- Beakers
- Balón de 1000 ml
- Tubos con tapón de rosca de 15 ml
- Papel filtro
- Plantilla para siembra
- Algodón

5.1.2 Equipo

- Autoclave
- Balanza analítica
- Campana bacteriológica
- Campana bacteriológica con flujo laminar
- Incubadora a 37°C
- Mechero
- Percolador de vidrio o acero inoxidable
- Pipetas automáticas
- Puntas amarillas de 200 μ L

- Puntas azules de 1000 μ L
- Refrigeradora
- Rotavapor (balón de evaporación, condensador, bomba de vacío, refrigerante y balón de colecta)

5.1.3 Recursos biológicos

- Hoja deshidratada de *A. guatemalensis*
- Hoja deshidratada de *L. graveolens*
- Hoja deshidratada de *P. Jacquemontianum*
- Hoja deshidratada de *P. guajava*
- Hoja deshidratada de *S. americanum*
- Rizoma deshidratado de *S. domingensis*

Cepas bacterianas *in vitro*:

- 6 cepas de *Arcanobacterium pyogenes*
- 1 cepa de *Aerococcus viridans* 2
- 1 cepa de *Arthrobacter* sp
- 1 cepa de *Propionibacterium acnes*

5.1.4 Recursos humanos

- Asesores para el análisis del caso.
- Estudiante investigadora.
- Personal técnico del Laboratorio de Ornitopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

5.2 Métodos

5.2.2 Área de estudio

Realicé el estudio en el Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, donde preparé los extractos de las plantas, el tamizaje de la actividad antibacteriana *in vitro* y la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria.

5.2.3 Selección de cepas bacterianas

Utilicé las cepas bacterianas de *A. viridans* 2, *A. pyogenes* (6 cepas), *P. acnes*, y *A. sp* aisladas de los casos clínicos provenientes de diferentes individuos, referidos (de julio del 2007 a noviembre del 2007) al Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

La mayoría de cepas aisladas con excepción de *A. pyogenes* no son las bacterias de mayor incidencia en la metritis, ya que no se contaba en el Laboratorio con las cepas generalmente involucradas en los casos de metritis como *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides spp*, *Escherichia coli* y *Prevotella melaninogenicus*. Esto no quita relevancia a las cepas aisladas que utilicé en el bioensayo, puesto que también actúan como responsables de la infección e inflamación de útero, pero como microorganismos oportunistas (Silva et al. 2008). García (2003), Monge et al. (2006) y Silva (2008) reportan a la cepa de *A. pyogenes*, como la más comúnmente aislada en los casos de metritis bovina.

5.2.4 Criterios de inclusión

Utilicé las cepas bacterianas causantes de metritis aisladas en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

5.2.5 Criterio de selección de las plantas

Seleccioné las plantas naturales en base a los siguientes aspectos:

- Que sean nativas de Guatemala.
- Que posean propiedad antibacteriana de amplio espectro: Gram positivas y Gram negativas.
- Que no se hayan realizado estudios de estas plantas con microorganismos patógenos veterinarios causantes de metritis.
- De fácil adquisición.

5.2.6 Obtención de las plantas

- Su lugar de crecimiento silvestre (*S. domingensis*, *P. jacquemontianum*),
- En los campos de cultivo ubicados en el LIPRONAT (*S. americanum*),
- ICTA (*A. guatemalensis*) y
- FARMAYA (*L. graveolens*, *P. guajava*).

En la Tabla 1 presento las plantas de estudio incluyendo el nombre científico, nombre común, número de herbario y lugar de procedencia, las cuales fueron obtenidas de la colección de extractos del Departamento de Citohistología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Tabla 1. Plantas en estudio

Nombre científico	Nombre común	Herbario No.	Procedencia
<i>Acalypha guatemalensis</i> Pax & Hoffm.	Hierba del cáncer	228	Guatemala, Guatemala.
<i>Solanum americanum</i> Millar	Quilete	294	Quiché, Quiché.
<i>Psidium guajava</i> L.	Guayaba	210	San José Pinula, Guatemala.
<i>Lippia graveolens</i> HBK.	Orégano	604	San José Calderas, Chimaltenango.
<i>Smilax domingensis</i> Killip & Morton	Zarzaparrilla	662	Samayac, Suchitepéquez.
<i>Piper jacquemontianum</i> Kunth	Cordoncillo	959	Parque Nacional Lachuá, Alta Verapaz.

5.2.7 Obtención de extractos

Obtuve los extractos en el Departamento de Cito histología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Recibí previo a realizar esta parte de la metodología la orientación y capacitación sobre los procedimientos respectivos.

Sequé el material vegetal, molí, y coloqué el polvo en el percolador, para realizar extracciones etanólicas por percolación siguiendo los criterios descritos por Sharapin, 2000. Concentré los extractos en el rotavapor y luego en desecadora por el método descrito anteriormente.

5.2.8 Validación del ensayo

Para validar el bioensayo determiné la relación dosis-efecto a diferentes concentraciones, con trimetropim sulfa (250, 25, 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y otra con oxitetraciclina (300, 30, 3 y 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (la concentración media es la utilizada para los taxos comerciales, 25 y 30 respectivamente), frente a las bacterias del estudio. Esta relación dosis-efecto la utilicé como control positivo de inhibición y como control negativo etanol al 50% (disolvente utilizado para la dilución de los extractos), validando en esta forma el bioensayo propuesto.

5.2.9 Determinación de la actividad antibacteriana

Determiné la actividad antibacteriana por el método de dilución de Mitscher et al. 1972.

Consideré la lectura e interpretación de la siguiente manera:

- Negativa: cuando existió crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo.
- Positiva: cuando no hubo crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo;
- Contaminación: cuando existió presencia de microorganismos fuera de la inoculación (Mitscher et al. 1972).

5.2.10 Comparación de la actividad antimicrobiana

Realicé la comparación de la actividad antimicrobiana de los seis extractos de plantas de uso medicinal a través del método de difusión en agar Müller Hinton siguiendo la metodología descrita por Mitscher et al. 1972, realizando cuatro repeticiones.

5.2.11 Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM)

Determiné la CIM en los extractos positivos, utilizando cajas cuadrilate con 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.125 y 0.0625 mg/mL.

Inoculé las cajas y las incubé a 36°C durante 24 horas, leyendo e interpretando según la metodología descrita por Mitscher et al. 1972.

5.2.12 Análisis estadístico

Determiné si alguno de los seis extractos de plantas medicinales presentaron actividad antibacteriana, < 1 mg/mL, utilizando una prueba de hipótesis binomial.

Evalué la CIM de cada extracto, en forma descriptiva, con base al crecimiento o no en los ensayos frente a las cepas a las que se enfrentaron. Utilicé una prueba de ensayo y error, por medio de diluciones, deteniéndose en la dilución en la que el extracto ya no presentó efecto inhibitorio.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para validar el bioensayo determiné la relación dosis-efecto con trimetropim sulfametoxazole (250, 25, 2.5 µg/mL) y otra con oxitetraciclina (300, 30, 3 y 0.3 µg/mL), basándome en la concentración media utilizada para los taxos comerciales, frente a las bacterias del estudio (Tabla 3 y 4). Observé inhibición del crecimiento en las dos concentraciones mayores. Esta relación dosis-efecto la utilicé como control positivo de inhibición y como control negativo etanol al 50% (disolvente utilizado para la dilución de los extractos), validando en esta forma el bioensayo propuesto.

Tabla 3. Inhibición bacteriana por trimetropim sulfametoxazole

Antibiótico (µg/mL)	A	B	C	D	E	F	G	H	I
250	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A: *Aerococcus viridans* 2,

D: *Arcanobacterium pyogenes*,

G: *Arcanobacterium pyogenes*,

+: Hubo actividad antibacteriana.

-: No hubo actividad antibacteriana.

B: *Arcanobacterium pyogenes*,

E: *Arcanobacterium pyogenes*,

H: *Arthrobacter* spp,

C: *Propionibacterium acnes*,

F: *Arcanobacterium pyogenes*,

I: *Arcanobacterium pyogenes*.

Tabla 4. Inhibición bacteriana por oxitetraciclina

Antibiótico (µg/mL)	A	B	C	D	E	F	G	H	I
300	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	-	+	-	-	+	-	+	+	-
0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A: *Aerococcus viridans* 2,

D: *Arcanobacterium pyogenes*,

G: *Arcanobacterium pyogenes*,

+: Hubo actividad antibacteriana.

-: No hubo actividad antibacteriana.

B: *Arcanobacterium pyogenes*,

E: *Arcanobacterium pyogenes*,

H: *Arthrobacter* spp,

C: *Propionibacterium acnes*,

F: *Arcanobacterium pyogenes*,

I: *Arcanobacterium pyogenes*.

En el ensayo antibacteriano utilicé la metodología descrita por Mitcher et al. (1972), donde evalué la actividad antibacteriana de los extractos en estudio (*Acalypha guatemalensis*, *Solanum americanum*, *Psidium guajava*, *Lippia graveolens*, *Smilax domingensis*, *Piper jacquemontianum*) frente a las nueve cepas bacterianas aisladas a una concentración inicial de 1 mg/mL.

Los resultados del tamizaje de la actividad antibacteriana se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Actividad antibacteriana durante la fase de tamizaje (1 mg/mL)

Bacterias/ Extracto	Parte	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1. <i>L. graveolens</i> .	Hoja	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. <i>A. guatemalensis</i> .	Hoja	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. <i>P. guajava</i> .	Hoja	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4. <i>S. americanum</i> .	Hoja	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. <i>S. domingensis</i> .	Rizoma	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6. <i>P. jacquemontianum</i> .	Hoja	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A: *Aerococcus viridans* 2,
D: *Arcanobacterium pyogenes*,
G: *Arcanobacterium pyogenes*,
+: Hubo actividad antibacteriana.
-: No hubo actividad antibacteriana.

B: *Arcanobacterium pyogenes*,
E: *Arcanobacterium pyogenes*,
H: *Arthrobacter* spp,

C: *Propionibacterium acnes*,
F: *Arcanobacterium pyogenes*,
I: *Arcanobacterium pyogenes*.

Todos los extractos de las plantas presentaron actividad contra todas las bacterias en el ensayo antibacteriano, por lo que determiné la CIM, siendo las mejores las obtenidas con los extractos de *A. guatemalensis*, *L. graveolens* y *P. guajava* frente a *Aerococcus viridans* 2; y *S. domingensis* para *Arcanobacterium pyogenes* (cepa I) (concentración de 62.5 µg/mL).

En la Tabla 6 presento las CIM de los extractos para cada una de las cepas aisladas.

Tabla 6. Concentración mínima inhibitoria de los extractos ($\mu\text{g/mL}$)

Bacterias/ Extracto	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1. <i>L. graveolens</i> .	62.5	125	250	250	250	500	500	500	250
2. <i>A. guatemalensis</i> .	62.5	500	125	500	250	250	500	500	250
3. <i>P. guajava</i> .	62.5	250	250	250	250	500	500	250	250
4. <i>S. americanum</i> .	125	500	250	250	125	500	500	250	500
5. <i>S. domingensis</i>	500	1000	125	250	125	500	500	125	62.5
6. <i>P. jacquemontianum</i> .	1000	500	125	1000	125	500	500	125	250

A: *Aerococcus viridans* 2,
D: *Arcanobacterium pyogenes*,
G: *Arcanobacterium pyogenes*,
B: *Arcanobacterium pyogenes*,
E: *Arcanobacterium pyogenes*,
H: *Arthrobacter* spp,
C: *Propionibacterium acnes*,
F: *Arcanobacterium pyogenes*,
I: *Arcanobacterium pyogenes*

En la Tabla 6, el criterio que se utilizó para determinar qué extracto presentó mejor efecto antibacteriano, se realizó en base a las CIM's más bajas obtenidas con los extractos, comparándolas entre sí; de tal manera que el extracto que obtuvo menores CIM's en relación a los demás, es el que se ubica en la posición número 1. Mientras que los extractos que presentaron las CIM's más altas, se ubican en las últimas posiciones.

El mejor efecto antibacteriano lo observé en el del extracto etanólico de *L. graveolens*, siendo la bacteria más sensible *A. viridans* 2 con una CIM de 62.5 $\mu\text{g/mL}$. La propiedad antibacteriana de este extracto se atribuye al carvacrol y al timol, componentes con actividad antibacteriana presentes en el aceite esencial, el cual es ligeramente más activo frente a bacterias Gram positivas, que Gram negativas. Esto puede deberse a la influencia de la estructura de la pared celular y a la composición de la membrana externa de la bacterias y su interacción con los aceites esenciales, de naturaleza lipofílica. El carvacrol y el timol actúan introduciéndose a través de los lípidos de las membranas celular y mitocondrial, alterando su estructura y haciéndola más permeable, y en el caso de las bacterias Gram negativas, puede llegar a desintegrar su membrana externa. Como consecuencia tiene lugar una fuga de iones y de otros contenidos celulares, que conlleva a la muerte celular (Zekaria et al. 2006).

El extracto con la segunda mejor actividad fue el de *A. guatemalensis*, que mostró mejor efecto frente a *A. viridans* 2, a una CIM de 62.5 µg/mL. No fue posible determinar a que compuesto se le atribuye la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *A. guatemalensis*. Pese a que existen estudios previos que reportan actividad similar a la que observé, aún no se ha descrito que compuesto de la planta confiere este efecto (Cáceres et al. 1995). Según Cáceres et al. (1995) no se tiene referencia sobre la relación entre la actividad farmacológica atribuida y la composición química (alcaloides no cuaternarios, taninos, antraquinonas, glicósidos cianogénicos, ácidos diterpénicos, azúcares desoxigenados, y polifenoles).

El extracto etanólico de *P. guajava* mostró una actividad intermedia, presentando mejor efecto frente a *A. viridans* 2, a una CIM de 62.5 µg/mL. La actividad antibacteriana del extracto se atribuye a los flavonoides avicularina, guayaverina y quercitina (Berdy et al. 1982). Estos compuestos presentan en su estructura hidroxilos fenólicos, penetrando fácilmente la membrana celular bacteriana, combinándose, precipitando y desnaturalizando las proteínas protoplasmáticas (Fuertes et al. 1998). Además el extracto es rico en otras sustancias como los taninos, los cuales se encuentran en las hojas (9-10%) (Morton, 1981), incrementando la actividad antibacteriana, a través de un sinergismo entre los constituyentes (Fuertes et al. 1998).

El extracto etanólico de *S. americanum*, mostró mejores resultados frente a *A. viridans* 2 y *A. pyogenes* (cepa E) a una CIM de 125 µg/mL. En el género *Solanum* la actividad antibacteriana se atribuye al alcaloide esférico α -solanina (Lewis 1989), el cual altera el potencial de membrana y el transporte activo de sodio y canales iónicos, favoreciendo la pérdida de componentes celulares (iones, Ca^{2+} y proteínas) y desestabilizando la membrana celular (Segura y López, 2008).

El extracto etanólico de *S. domingensis* mostró mejores resultados frente a *A. pyogenes* (cepa I) a una CIM de 62.5 µg/mL. Este extracto posee propiedades antibacterianas (Lewis, 1989) y antifúngicas (He et al. 1994). Lewis (1989) atribuye la

actividad antibacteriana a las saponinas, en particular a la sarsapogenina y la parillina, las cuales actúan a través de la anti-ATPasa modificando el sistema de la membrana celular, formando en ella orificios que perturban el transporte de sodio, produciendo una descompensación iónica (Aguilar, 2005).

El extracto que mostró menor actividad fue el de *P. jacquemontianum*, que presentó las CIM más altas frente a *A. viridans* 2 y *A. pyogenes* (cepa D) a 1000 µg/mL. La propiedad antibacteriana del extracto puede atribuirse a compuestos polares y no polares presentes en éste y según Solís et al. (2003), a su capacidad para actuar a nivel de la pared celular, inhibiendo el crecimiento de las bacterias Gram positivas, pero no de las Gram negativas. Hecho observado en investigaciones anteriores, en las que se ha considerado que las características de la pared celular de las bacterias Gram negativas son las que le confieren resistencia a factores ambientales y a la acción de algunos antibióticos (Varea et al. 1997).

En este estudio observé que algunas cepas presentaron mayor (cepa A y C) o menor sensibilidad (cepa F y G) frente a los extractos, lo que puede atribuirse a varios factores como:

- a) El lugar de procedencia de las cepas bacterianas;
- b) Las drogas fármaco-químicas, la dosis y la duración del tratamiento a las que fue expuesto el ganado, de manera que las cepas crearon resistencia contra éstos y afectaron los mecanismos de acción de los extractos. Un mecanismo de resistencia adquirida por las cepas puede ser la reducción de entrada a las mismas, a través de la pared celular, causada por la disminución en la cantidad de proteínas específicas llamadas porinas. Esto produce un amplio espectro de resistencia frente a diferentes tipos de antibióticos (cloranfenicol, trimetoprim, quinolonas y tetraciclinas así como los compuestos β-lactámicos) (Muñoz & Weinstein, 2008), pero también podría afectar el mecanismo de acción de los extractos, ya que algunos actúan a nivel de la pared celular y otros deben de atravesarla para llevar a cabo su actividad antibacteriana;

c) La edad del hato; ya que vacas adultas podrían poseer cepas con más resistencia a los antibióticos y a las partes activas de cada extracto, que las jóvenes.

Los extractos que presentaron mayor efectividad antibacteriana, en base a los resultados de la CIM, fueron *A. guatemalensis* y *L. graveolens*, por lo que serían los recomendados para la aplicación in vivo, realizando previamente un estudio de toxicidad de las mismas.

VII. CONCLUSIONES

- Los extractos de *Acalypha guatemalensis*, *Lippia graveolens*, *Psidium guajava*, *Solanum americanum*, *Smilax domingensis* y *Piper jacquemontianum* tienen efecto antibacteriano (<1mg/mL) frente a las cepas bacterianas de *Arcanobacterium pyogenes*, *Aerococcus viridans 2*, *Propionibacterium acnes*, y *Arthrobacter* spp.
- Los extractos de *A. guatemalensis* y *L. graveolens*, son los más efectivos como antibacterianos *in vitro* frente a cepas de *A. viridans 2*, *A. pyogenes*, *P. acnes*, y *A. spp.*
- *A. viridans 2* fue el microorganismo más susceptible en el estudio, frente a los extractos etanólicos de *A. guatemalensis*, *P. guajava*, *L. graveolens* y *S. domingensis* a 62.5 µg/mL.
- Las cepas F y G de *A. pyogenes* fueron los microorganismos menos sensibles en el estudio a concentraciones de 250 y 500 µg/mL.
- Con este estudio comprobé la hipótesis y alcancé los objetivos propuestos en la investigación, ya que demostré el efecto antibacteriano de todos los extractos del ensayo biológico.

VIII. RECOMENDACIONES

- Probar la efectividad antibacteriana de los extractos frente a otras cepas bacterianas causantes de metritis en vacas.
- Realizar estudios de farmacología y toxicología preclínicas de las plantas con actividad antibacteriana, relacionadas con las propiedades demostradas en la presente investigación.
- Hacer ensayos clínicos con los extractos para determinar si pueden ser utilizados como alternativa terapéutica.
- Realizar estudios fitoquímicos y de fraccionamiento bioguiado para determinar las moléculas responsables de la actividad antibacteriana del extracto de *A. guatemalensis*.
- Promover en los médicos veterinarios el uso del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria, para facilitar el aislamiento de los microorganismos responsables de los casos de metritis bovina, así como de otras patologías de importancia veterinaria en diferentes especies; y poder crear un cepario en el Departamento de Microbiología para facilitar futuras investigaciones.
- Hacer otras investigaciones fitofármaceúticas utilizando otras plantas con potencial antimicrobiano para validar el uso de la diversidad que posee la flora guatemalteca y demostrar su actividad farmacológica, frente a microorganismos de importancia en medicina veterinaria.

IX. RESUMEN

La importancia de la presente investigación consiste en la validación de alternativas naturales que sean eficaces, económicas y seguras, que mantengan la inocuidad de los alimentos sin el impacto que tiene el uso de antibióticos, contra las bacterias causantes de metritis en ganado bovino, ya que ésta es una enfermedad muy frecuente en el hato lechero. Por esta condición es necesario contar con alternativas viables, en este caso la fitoterapia, aplicadas a la medicina veterinaria.

Las plantas utilizadas se seleccionaron en base a estudios efectuados con bacterias patógenas al hombre, donde se demostró la actividad antibacteriana, siendo nativas de Guatemala y sobre las cuales no se han realizado estudios con microorganismos patógenos veterinarios causantes de metritis.

Durante un período de seis meses se realizó la colección de cepas provenientes de casos de metritis bovina. La cepa aislada con más frecuencia fue *Arcanobacterium pyogenes*, concordando con García (2003), Monge et al. (2006) y Silva (2008) quienes reportan a esta bacteria como la más comúnmente aislada en los casos de metritis bovina.

Para evaluar la actividad antibacteriana utilicé el método de dilución de Mitscher et al. (1972), utilizado para bacterias de origen humano y el cual fue eficaz para evaluar la actividad, indicando que éste método es aplicable para la realización de bioensayos sobre bacterias de importancia veterinaria.

Para validar el bioensayo determiné la relación dosis-efecto a diferentes concentraciones, con trimetropim sulfa (250, 25, 2.5 µg/mL) y otra con oxitetraciclina (300, 30, 3 y 0.3 µg/mL) (la concentración media es la utilizada para los taxos comerciales, 25 y 30 respectivamente), frente a las bacterias del estudio. Esta relación dosis-efecto la utilicé como control positivo de inhibición y como control negativo etanol al 50% (disolvente utilizado para la dilución de los extractos), validando en esta forma el bioensayo propuesto.

En el tamizaje del ensayo a 1 mg/mL se demostró la actividad antibacteriana de los seis extractos, *Acalypha guatemalensis*, *Solanum americanum*, *Psidium guajava*, *Lippia graveolens*, *Smilax domingensis* y *Piper jacquemontianum*, contra las cepas de *Aerococcus viridans* 2, *Arcanobacterium pyogenes*, *Propionibacterium acnes* y *Arthrobacter* sp.

Determiné la Concentración Inhibitoria Mínima en los extractos positivos, utilizando cajas cuadrilate con 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.125 y 0.0625 mg/mL. y los extractos que presentaron mayor efectividad antibacteriana, en base a los resultados de la CIM, fueron *A. guatemalensis* y *L. graveolens*, por lo que serían los recomendados para la aplicación in vivo, realizando previamente un estudio de toxicidad de las mismas.

Con el presente estudio generé nuevas alternativas, para ser utilizadas como tratamientos naturales para la metritis en vacas, con la ventaja de que no crean resistencia bacteriana, ni dejan residuos en los productos que puedan afectar al hombre.

X. BIBLIOGRAFÍA

Arteche, A. 1992. Fitoterapia. Vademecum de Prescripción. Bilbao, CITA, 835 p.

Aguilar, F. 2005. Plantas tóxicas de la comarca de "els ports". (en línea). Consultado 21 dic. 2008. Disponible en www.uch.ceu.es/principal/noticias_toxicologia/gacetaToxica/suplemento5.pdf

Ayensu, ES. 1981. Medicinal Plants of the best indies. Algonac, Reference Publications, 282 p.

Bérdy, J. et al. 1982. Handbook of antibiotic compounds. Boca Ratón, CRC Press, part 1, 410 p, part 2, 429 p.

Cáceres, A; Alvarez, Av; Ovando, AE; Samayoa B. 1991. Plants used in Guatemala for the Treatment of Respiratory Diseases. 1. Screening of 68 plants against Gram-positive bacteria. J ethnopharmacol 31:193-208.

_____; Alvarez, Av; Samayoa B; Fletes L. 1990. Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones. Cuadernos DIGI. 4:90:56.

_____; López, B; Juárez, X; del Aguila J; García S. 1993. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophitic infections. 2. Evaluation of antifungal activity of seven American plants. J Ethnopharmacol 19:233.

_____; Menéndez, H; Méndez, E; Cohobón, E; Samayoa, BE, et al. 1995. Antigonorrhoeal activity of plants used in Guatemala for the treatment of sexually transmitted diseases. J Ethnopharmacol 48:85-88.



Centro De Ensayo de Materiales y Asistencia Técnica (CEMAT) – Laboratorio de Productos Naturales FARMAYA. GT. 1990. Fichas Populares sobre plantas medicinales (Serie 1). Guatemala, 174 p.

_____;1992. Fichas populares sobre plantas medicinales. (Serie 2). Guatemala, 180 p.

Cleaves, C. 2000. Etnobotánica médica de cinco comunidades de la zona de influencia del Parque Nacional Laguna Lachuá (PNLL), Alta Verapaz, Guatemala. Tesis Lic. Biol. Proyecto Lachuá - Escuela de Biología, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC) / Instituto Nacional de Bosques (INAB) / UICN. 117 p.

Cruz, SM. 2005. Caracterización de aceites esenciales y evaluación de la actividad biocida de 5 especies nativas de Piperáceas. Tesis Mag. Sc. Quim. Farm. Guatemala, GT, CCQQ y Farmacia / FAUSAC. 55 p.

Fluck, H. 1988. Medicinal Plants. London, W. Foulsham, 187 p.

Fuertes, C; Roque, M; Tristan, M. 1998. Flavonoides y Alcaloides de *Lupinus ballianus* C.P. Smith con actividad antibacteriana y antifúngica. (en línea). Consultado 5 dic. 2008. Disponible en sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/ciencia/v01_n2/flavonoides.htm - 48k -

García, M. 2003. Tesis doctoral: La metritis en la vaca, etiología, tratamiento e implicaciones en la reproducción. (en línea). Consultado 12 mayo, 2008. Disponible en www.cibernetia.com/tesis_es/CIENCIAS_AGRARIAS/PRODUCCION_ANIMAL/REPRODUCCION.../1 - 88k -

Gentry, JL; Standley PC. 1974. Flora of Guatemala. Fieldiana 24(10). 151 p.

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



He, X. et al. 1994. An antifungal compound from *Solanum nigrescens*. J Ethnopharmacol 43: 173-177.

House PR et al. 1995. Plantas Medicinales Comunes de Honduras. Tegucigalpa, UNAH/CIMN-H/CID/CIIR/GTZ. 555 p.

Khan, MI; Ahmed, J. 1985. A Pharmacognosic of *Psidium guajava* L. Int J Crude Drug Res 23:95.

Lara, R. et al. 1991. Determinación de la actividad inmunomoduladora de los extractos de zarzaparrilla, quilete y pericón. Memorias VI Cong. Nac. Microbiol., Guatemala, 88 p.

Lewis, DA. 1989. Anti-Inflammatory Drugs from plants and Marine Sources. Basel, Birkhäuser Verlag, 373 p.

Linares, E; Flores, B; Bye, R. 1988. Selección de plantas medicinales de México. México, Limusa, 125 p.

Martínez, M. 1992. Las Plantas Medicinales de México. México, Botas. 656 p.

Mendoza, JC. 1995. Confirmación de la actividad antimicrobiana de tres especies del género *Lippia*. (Tesis). Guatemala, GT, CCQQ y Farmacia / FAUSAC. 46 p.

Mitscher, LA et al. 1972. Antimicrobial agents from higher plants. 1. Introduction, rationale and methodology. Lloydia 35:157-66.

Monge, A. et al. 2006. Bovine herpesvirus 4-associated postpartum metritis in a Spanish dairy herd. (en línea) Consultado 6 jul. 2008. Disponible en www.find-health-articles.com/rec_pub_15946713-bovine-herpesvirus-4-associated-postpartum



metritis-spanish-... - 25k - J. Reserch in veterinary science (Res Vet Sci). England, Vol. 80 (issue 1): pp 120-5.

Morton, JF. 1987. Fruits of Warm Climates. Greensboro, Media Inc. p. 115-121.

Nelson, CH.1986. Plantas Comunes de Honduras. Tegucigalpa, E. Universitaria, 922 p.

Muñoz, Ponce LS; Weinstein, RA.2008. Acinetobacter infection: Rev Chil Infect 2008; 25 (5): 397-399. (en línea). Consultado el 24 de mar. 2009. Disponible en www.scielo.cl/scieloOrg/php/articleXML.php?pid=S071610182008000500016&lang=es - 17k -

Nickell, LG. 1959. Antimicrobial activity of vascular plants. Econ Bot 13:281

Oliva, AM. 1979. Recopilación botánica y análisis químico cuantitativo de algunas especies de plantas medicinales de Guatemala. (Tesis). Guatemala, Fac. CCQQ y Farmacia, USAC. 63 p.

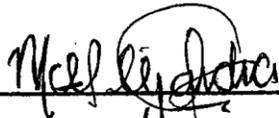
Ortíz, BR; Brower, CH. 1985. Chemical bases for medicinal plant use in Oaxaca. J. Ethnopharmacol 13: 57-58.

Ramírez, O. 1988. Espectro de inhibición de bacterias patógenas por extractos vegetales. (Tesis). Guatemala, Fac. CCQQ y Farmacia, USAC. 49 p.

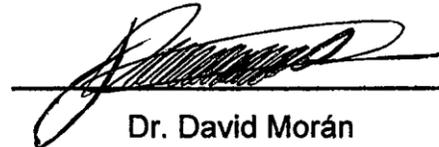
Ronquillo, FA et al. 1988. Especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y medicina de las zonas semiáridas del nororiente de Guatemala. Cuadernos DIGI 5-88, 249 p.

Segura, C; López, M. 2008. Nuevas vías de permeabilidad y regulación del pH intracelular como posibles blancos terapéuticos en *Plasmodium falciparum*. (en línea). Consultado 5 dic. 2008. Disponible en www.scielo.org/scielo.php?pid=S0120-548X2008000200001&script=sci_arttext - 71k

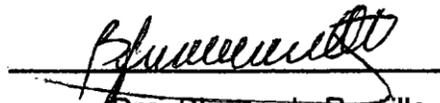




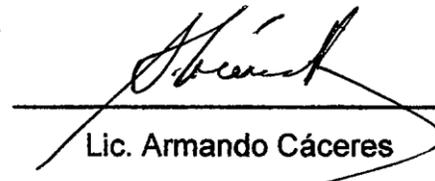
Maria Alejandra Martínez Haro
Estudiante



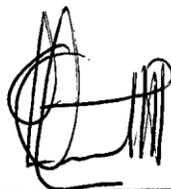
Dr. David Morán
Asesor



Dra. Blanca de Romillo
Asesor



Lic. Armando Cáceres
Asesor


Imprímase: _____
Decano: Med. Vet. Leonidas Ávila Palma

