

**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 man on a horse, holding a staff and a banner. Above the figure is a golden crown. The seal is surrounded by a Latin inscription: "ACADEMIA CAROLINA CONSPICUA INTER CETERAS AMERICANAIS" at the top and "GUATEMALENSIS" at the bottom.

**“ACTIVIDAD *in vitro* DE SEIS PLANTAS MEDICINALES NATIVAS
CONTRA LOS PRINCIPALES HONGOS DERMATOFITOS Y
LEVADURIFORMES QUE AFECTAN PIEL Y ANEXOS EN PERROS”**

ROBINSON SMYLIE MONROY HERNÁNDEZ

GUATEMALA, MAYO DE 2011

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

**“ACTIVIDAD *in vitro* DE SEIS PLANTAS MEDICINALES NATIVAS
CONTRA LOS PRINCIPALES HONGOS DERMATOFITOS Y
LEVADURIFORMES QUE AFECTAN PIEL Y ANEXOS EN PERROS”**

TESIS

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

ROBINSON SMYLIE MONROY HERNÁNDEZ

Previo a Conferírsele el Grado Académico de

MÉDICO VETERINARIO

GUATEMALA, MAYO DE 2011

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: Lic. Zoot. Sergio Amilcar Davila Hidalgo
VOCAL II: MSc. Med. Vet. Dennis Guerra Centeno
VOCAL III: Med. Vet. y Zoot. Mario Antonio Motta González
VOCAL IV: P.A. Set Levi Samayoa López
VOCAL V: Br. Luis Alberto Villeda Lanuza

ASESORES:

MED. VET. Julia Virginia Bolaños de Corzo
MED. VET. Jaime Méndez
LIC. Armando Cáceres

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 graduación titulado:**

**“ACTIVIDAD *in vitro* DE SEIS PLANTAS MEDICINALES NATIVAS
CONTRA LOS PRINCIPALES HONGOS DERMATOFITOS Y
LEVADURIFORMES QUE AFECTAN PIEL Y ANEXOS EN PERROS”**

**Que aprobado por la junta directiva de la Facultad De Medicina
Veterinaria y Zootecnia**

Como requisito previo a optar al título profesional de

MÉDICO VETERINARIO

TESIS QUE DEDICO

- A DIOS:** Por darme la vida y su amor. Gracias por las bendiciones y por la oportunidad de alcanzar este meta en mi vida.
- A MIS PADRES:** Marta Lilian Hernández de Monroy, la mejor madre que Dios nuestro señor pudo darme, gracias por tu ejemplo y tu sacrificio, y Robinson Monroy Chávez (Q.E.P.D) por guiarme en mi camino, los amo.
- A MIS HERMANOS:** Waleska Monroy Hernández y Rubén Monroy Hernández, gracias por su apoyo incondicional.
- A MIS ABUELITOS:** María Marta Regalado de Hernández (Q.E.P.D) y José Rubén Hernández (Q.E.P.D).
- A MIS TIOS:** Julio Hernández, Gladys Hernández, Maritza Hernández (Q.E.P.D), Jorge Penados, Verónica Hernández de Ivic, Patricia Hernández y Byron Monroy, gracias por estar a mi lada apoyándome y motivándome con su cariño y amor incondicional.
- A MIS AMIGOS:** Luis Rodrigo Villagrán, Oscar Barillas, Luis Fernando Guerra, Marcelo Melini, María Renee La Guardia y Angel Estrada gracias por ser mis mejores amigos y apoyarme a lo largo de la carrera.
- A MIS PADRINOS:** Julio Hernández, Jorge Penados, Mario Ivic, Juan José Gracias y Arturo Pichardo, por ser un ejemplo en mi vida personal y profesional.

AGRADECIMIENTOS.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala por haberme permitido realizar en ella mis estudios.

A mis asesores M.V. Virginia Corzo. M.V. Jaime Méndez y Lic. Armando Cáceres por su tiempo, dedicación y amabilidad invertido en este estudio.

Al Centro de Investigación de Etnoveterinaria y Terapias Alternativas (CIETA), por brindarme las herramientas y facilidades para la elaboración de esta investigación.

Al personal del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, en especial a la Lic. Isabel Gaitán, por su apoyo, paciencia y disposición a ayudarme cada vez que lo necesité.

Al personal del Departamento de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, en especial a Martin, por su colaboración y amabilidad.

A la familia Villagrán Martínez, por brindarme su cariño y apoyarme a lo largo de la carrera, especialmente durante el periodo de EPS.

A todas aquellas personas que de una u otra forma me apoyaron a lo largo de la carrera e hicieron posible alcanzar esta meta.

A TODOS GRACIAS.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCION	1
II.	HIPOTESIS	2
III.	OBJETIVOS	3
3.1	General	3
3.2	Específicos	3
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	4
4.1	Hongos Levaduriformes	4
4.1.1	<i>Candida albicans</i>	4
4.1.1.1	Hallazgos citológicos	5
4.1.1.2	Hallazgos histopatológicos	5
4.1.1.3	Tratamiento	5
4.1.2	<i>Malassezia pachydermatis</i>	5
4.1.2.1	Hallazgos citológicos	6
4.1.2.2	Hallazgos histológicos	6
4.1.2.3	Tratamiento	6
4.2	Dermatofitosis	7
4.2.1	<i>Microsporum Canis</i>	7
4.2.1.1	Diagnóstico	8
4.2.1.2	Tratamiento	8
4.2.2	<i>Microsporun gypseum</i>	9
4.2.2.1	Diagnóstico	9
4.2.2.2	Tratamiento	10
4.2.3	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	10
4.2.3.1	Diagnóstico	10
4.2.3.2	Tratamiento	11
4.3	Plantas Medicinales	11
4.3.1	Barajo (<i>Cassia reticulata</i>)	11
4.3.1.1	Hábitat	11
4.3.1.2	Usos y propiedades medicinales	11

4.3.1.3	Farmacología experimental y clínica	12
4.3.2	Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	12
4.3.2.1	Hábitat	12
4.3.2.2	Usos y propiedades medicinales	13
4.3.2.3	Farmacología experimental y clínica	13
4.3.3	Laurel (<i>Litsea glaucescens</i>)	13
4.3.3.1	Hábitat	13
4.3.3.2	Usos y propiedades medicinales	14
4.3.3.3	Farmacología experimental y clínica	14
4.3.4	Madrecacao (<i>Gliricidia sepium</i>)	14
4.3.4.1	Hábitat	14
4.3.4.2	Usos y propiedades medicinales	14
4.3.4.3	Farmacología experimental y clínica	15
4.3.5	Nance (<i>Byrsonima crassifolia</i>)	15
4.3.5.1	Hábitat	15
4.3.5.2	Usos y propiedades medicinales	16
4.3.5.3	Farmacología experimental y clínica	16
4.3.6	Orégano Mexicano (<i>Lippia graveolens</i>)	17
4.3.6.1	Hábitat	17
4.3.6.2	Usos y propiedades medicinales	17
4.3.6.3	Farmacología experimental y clínica	17
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	18
5.1	Descripción del Área	18
5.2	Recursos Humanos	18
5.3	Material Biológico	18
5.4	Material y Equipo de Laboratorio	19
5.5	Centros de Referencia	20
5.6	Metodología	21
5.6.1	Diseño del estudio	21
5.6.2	Obtención de las plantas medicinales	21
5.6.3	Realización de los extractos	21

5.6.4	Evaluación de la actividad antimicótica	21
5.6.5	Evaluación de la actividad antilevaduriforme	22
5.6.6	Evaluación de la concentración inhibitoria mínima	23
5.7	Análisis Estadístico	23
VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
6.1	Determinación de la actividad antilevadura	24
6.1.1	Determinación de la relación dosis-efecto de antimicótico utilizado en el control positivo	24
6.1.2	Fase de tamizaje	26
6.1.3	Determinación de la CIM	27
6.2	Determinación de la actividad antimicótica	28
6.2.1	Determinación de la relación dosis-efecto de antimicótico utilizado en el control positivo	28
6.2.2	Fase de tamizaje	29
6.2.3	Determinación de la CIM	30
7.	Discusión	31
VII.	CONCLUSIONES	34
VIII.	RECOMENDACIONES	35
IX.	RESUMEN	36
X.	BIBLIOGRAFÍA	37
XI.	ANEXOS	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No. 1	41
Tabla No. 2	41
Tabla No. 3	42
Tabla No. 4	42
Tabla No. 5	43
Tabla No. 6	43
Tabla No. 7	44
Tabla No. 8	44

I. INTRODUCCION.

Los tratamientos utilizados contra hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan piel y anexos de perros son limitados y de tiempo prolongado. Estos microorganismos pueden adquirir cierta resistencia contra los tratamientos si son utilizados de manera inadecuada; además pueden tener diversos efectos adversos como: nausea, vómitos, diarrea y en ocasiones daño hepático, afectando así el funcionamiento fisiológico del animal.

En el presente trabajo de investigación, se evaluó la actividad antimicótica y antilevaduriforme de seis plantas medicinales nativas contra los principales hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan piel y anexos en perros; con el fin de implementar tratamientos alternativos naturales, que sean inocuos y tengan propiedades antimicóticas y antilevaduriformes, que sean eficaces y que no pongan en riesgo la salud del animal; tratamientos alternativos a los cuales tengan acceso las mayoría de personas de escasos recursos económicos. Es por ello que se propone el uso de extractos de ciertas plantas medicinales nativas como opción terapéutica contra los principales hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan piel y anexos en perros.

II. HIPOTESIS.

Por lo menos uno de los seis extractos de plantas medicinales nativas tiene efectos antimicóticos y antilevadura contra los hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan piel y anexos en perro.

III. OBJETIVOS.

3.1 General:

Generar información acerca de la actividad de seis plantas nativas de uso medicinal contra los principales hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan piel y anexos en perro.

3.2 Específicos:

Demostrar cual de las seis plantas nativas tiene mejor efecto inhibitorio contra los principales hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan piel y anexos en perro.

Determinar la concentración mínima inhibitoria de la o las plantas medicinales nativas que tengan actividad antimicótica y/o antilevaduriforme.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Hongos Levaduriformes

Eucariontes portadores de esporas, heterótrofos obligados, uni o multinucleados, sin clorofila, de reproducción sexual o asexual, de nutrición absorptiva, cuyas estructuras somáticas, ramificadas y filamentosas, están rodeadas con paredes celulares que contienen quitina, celulosa o ambas sustancias, junto con otras moléculas orgánicas complejas.

Hongos microscópicos unicelulares, con capacidad de fermentar hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias. Algunas levaduras están formadas únicamente por células individuales y a veces cadenas cortas.

4.1.1 *Candida albicans*.

Levadura que se caracteriza por formar blastoconidios, pseudohifas y a veces en cultivos de tejido, hifas verdaderas. Son parte de la microflora normal de las mucosas y se le considera oportunista. Su presencia se relaciona con inmunodepresión, ocasionada la mayoría de veces por terapias prolongadas con antibióticos y corticosteroides. Tienen especial afinidad por las zonas húmedas, bordes mucocutáneos, canal auditivo, espacios interdigitales y lechos ungueales. (Helton R. 2006)

Las lesiones en las uniones mucocutáneas tienen aspecto de úlceras que no se curan, recubiertas por tejido blanquecino, y en la piel se observan pápulas y pústulas que pueden ulcerarse. En los casos crónicos hay formación de hiperqueratosis diagnósticas. (Guaguere y Besignor 2004, Helton 2006)

Los métodos diagnósticos de elección son la citología y la histopatología.

4.1.1.1 Hallazgos citológicos

- Levaduras
- Seudohifas, blastoconidios
- Células epiteliales reactivas
- Detritos celulares. (Helton 2006)

4.1.1.2 Hallazgos histopatológicos

- Dermatitis Perivascular pustulosa intraepidérmica
- Foliculitis supurativa. (Helton 2006)

4.1.1.3 Tratamiento:

Se debe evitar la humedad excesiva y utilizar antimicóticos tópicos como:

- Clotrimazol al 1 % bid.
- Miconazol al 2% bid.
- Nistatina 100.00 u/g tid. (Helton 2006)

En lesiones generalizadas se deben aplicar antimicóticos junto con los tópicos, como:

- Ketoconazol 10 mg/kg sid
- Itraconazol 5-10 mg/kg sid. (Helton 2006)

4.1.2 *Malassezia pachydermatis*:

Es una levadura saprofítica, comúnmente encontrada en la piel normal y anormal, a menudo es difícil establecer si la levadura es un contribuyente primario (hipersensibilidad) a las lesiones clínicas presentes, o como invasor secundario (etiología subyacente; dermatitis alérgica, etc.) de la piel afectada. (Guaguere y Besignor 2004; Helton 2006)

Las lesiones clínicas comúnmente asociadas con las levaduras comprenden: eritema, dermatitis descamativa (gris-amarilla), la piel afectada puede liquenificarse, se observa pigmentación, hiperqueratosis y olor desagradable. El animal experimenta el prurito extremo y esta incomodo. Muchos de estos pacientes apenas responden a las medidas habituales utilizadas para el control de la picazón. (Guaguere y Besignor 2004, Helton 2006)

El diagnostico específico y preciso de esta dermatitis a menudo es difícil y depende sobre todo de la evaluación de las lesiones cutáneas. (Guaguere y Besignor 2004, Helton 2006)

4.1.2.1 Hallazgos citológicos:

- Células ovaladas o alargadas de 3 a 5 μm de diámetro, con un solo brote polar típico (forma de huellas o cacahuetes). Las levaduras pueden estar adheridas a las escamas. (Helton 2006)

4.1.2.2 Hallazgos histológicos:

- Eritema.
- Alopecia.
- Descamación.
- Exudación fétida grasienta. (Helton 2006)

4.1.2.3 Tratamiento:

- Consiste en una combinación de medicaciones antifúngicas orales (Ketoconazol o Itraconazol) y tópicas (champú de Ketoconazol, sulfuro de selenio), muchos de estos casos requieren terapia de champú de

mantenimiento crónico, para que, la población de levaduras sea controlada en niveles no clínicos y aceptables. (Helton 2006)

4.2 Dermatofitosis

Esta enfermedad es también comúnmente conocida como Tiña, implica una infección cutánea con una serie de hongos queratinofílicos. La dermatofitosis no invaden tejido subcutáneo o tejidos más profundos, ya que tienen una gran afinidad por estructuras corporales que poseen proteína, siendo la queratina su principal fuente de alimentación. La queratina se encuentra en el pelo, las uñas y la capa más superficial de la piel (estrato córneo). (Rejas 2005)

La transmisión es mediante contacto directo o contacto con pelos y escamas infectadas en el ambiente. Los pelos infectados en el ambiente pueden mantenerse viables durante meses a años y provocar infección. Las dermatofitosis son más frecuentes en animales muy jóvenes o de edad avanzada, animales inmunodeprimidos y en explotaciones intensivas. (Rejas 2005)

Los microorganismos aislados con mayor frecuencia son:

- *Microsporun canis*.
- *Microsporun gypseum*.
- *Trichophyton mentagrophytes*. (Rejas 2005)

4.2.1 *Microsporun Canis*

Crece como colonias blancas lanosas con un pigmento amarillento (que puede ser difícil de notar si el hongo crece en medios para exámenes de dermatofitos). Se observan abundantes macroconidias con forma ahusada con nudos en los extremos y típicamente más grandes que seis compartimientos internos. Unas pocas microconidias con pared suave y forma de garrote pueden también estar presentes, así como algunas macroconidias de forma redonda. Su crecimiento va de siete a 14

días. Un pigmento amarillo profundo característico puede observarse en el lado contrario de una colonia en Agar Sabouraud dextrosa o en Medio para examen de dermatofitos (DTM). En DTM, el medio debe cambiar de ámbar a rojo, concurrentemente con el crecimiento.

Este dermatofito causa lesiones en un 40% a 90% en perros. Es de importancia ya que este causa transmisión zoonótica. (Martínez y Bosque 2004)

Existe un tipo de lesión de forma redondeada que se considera típica: la lesión primordial es una o varias alopecias, ya que los pelos infectados se rompen. A veces existe inflamación de la piel, siendo usual la presencia de escamas. La presencia de prurito en las zonas lesionadas es variable. (Martínez y Bosque 2004)

Ocasionalmente la enfermedad se manifiesta como un querión, nódulo con una inflamación muy intensa. En perros de pelo largo puede cursar como una alopecia irregular extensa; otras veces muestran dermatitis miliar, proceso en el cual el canino presenta pequeñas pápulas o granos recubiertos por costras; finalmente algunos animales también pueden mostrar granulomas. (Martínez y Bosque 2004)

4.2.1.1 Diagnóstico

- Examen microscópico del pelo o escamas provenientes de raspados superficiales de piel (100X ó 400X): Hidróxido de potasio, detecta hifas y conidias.
- Lámpara de Wood (solo detecta algunos casos de infecciones por *Microsporun canis*; en conjunto, en pequeños animales solo detecta el 30-40% de los casos).
- Cultivo. (Martínez y Bosque 2004)

4.2.1.2 Tratamiento

- Griseofulvina vía oral. En ocasiones, Ketoconazol o Itraconazol.
- Baños medicados con Ketoconazol. (Martínez yBosque. 2004)

4.2.2 *Microsporun gypseum*:

Microscópicamente forma macroconidias en grandes números, son elipsoides con paredes delgadas, no tienen nudo terminal y contienen seis o menos células. Los cultivos son granulares beige con pigmento amarillo en la parte posterior y macroconidias con pared delgada, con menos de seis compartimientos internos. Colonias planas de color canela a marrón claro con una superficie polvorosa; esta crece de siete a 14 días en agar dextrosa Sabouraud o DTM. En DTM, el medio debe cambiar de ambar a rojo concurrentemente con el crecimiento.

La infección por *Microsporun gypseum* es mas frecuente en perros que pasan mucho tiempo en la calle, ya que este hongo es geofílico por lo que se encuentra en el suelo por donde pasan animales, produce lesiones en las áreas corporales que se encuentran en contacto con el suelo. Los pelos infectados en el ambiente pueden mantenerse viables durante meses a años. Después de la infección se origina una respuesta celular y humoral. La reacción inflamatoria conduce a una hiperqueratosis. (Rejas 2005, Schaer 2002)

En los perros las lesiones pueden incluir pápulas, pústulas y conductos con drenaje; los gatos son portadores asintomáticos. (Rejas 2005; Schaer 2002)

4.2.2.1 Diagnóstico:

- Examen microscópico del pelo o escamas provenientes de raspados superficiales de piel (100X ó 400X): Hidróxido de potasio, detecta hifas y conidias.
- Lámpara de Wood.
- Cultivo. (Rejas 2005, Schaer 2002)

4.2.2.2 Tratamiento:

- La griseofulvina es el tratamiento de elección, aunque Itraconazol y Ketoconazol también han dado buenos resultados. El tratamiento debe prolongarse como mínimo durante 6 semanas y hasta la obtención de dos o tres cultivos negativos. (Rejas 2005, Schaer 2002)

4.2.3 *Trichophyton mentagrophytes*:

Microscópicamente las macroconidias están formadas en pequeños números, pueden ser de desarrollo lento y tienen forma de cigarro con paredes delgadas y suaves. Las microconidias son redondas y están presentes en agregados sobre los conidióforos, también pueden estar presentes hifas en espiral. En agar Sabouraud o en DTM, crece una colonia con superficie algodonosa polvorosa que es usualmente más plana que la de *M. canis*, el lado reverso es usualmente marrón; se desarrolla dentro de siete a 14 días. En DTM, el medio debe cambiar de ambar a rojo concurrentemente con el crecimiento.

La infección causada por *Trichophyton mentagrophytes* frecuentemente está asociada al contacto con algún roedor, ya que estos son reservorios naturales de este hongo. Suele aparecer en cachorros jóvenes que viven en colectividad con otros perros, o en perros de avanzada edad que presentan inmunodepresión. Los yorshire terrier son predisponentes a padecer esta afección. (Rejas 2005, Schaer 2002).

4.2.3.1 Diagnóstico

Al igual que en las otras dermatofitosis

- Examen microscópico del pelo.

- Lámpara de Wood.
- Cultivo. (Rejas 2005, Schaer 2002)

4.2.3.2 Tratamiento:

Debe orientarse a la erradicación de la infección del huésped y limpieza del ambiente. Es la situación ideal, los afectados deben ser separados de otras mascotas en el hogar. Cada caso confirmado de dermatofitosis debe ser tratado en forma tópica. El rasurado corporal total puede ser de beneficio para reducir la contaminación ambiental por los pelos infectados y facilitar las aplicaciones tópicas. La terapia sistémica a menudo es necesaria para acelerar la recuperación. Las medicaciones de uso frecuente incluyen: griseofulvina, Itraconazol y Ketoconazol. (Rejas 2005, Schaer 2002)

4.3 Plantas Medicinales

4.3.1 Barajo (*Cassia reticulata*)

4.3.1.1 Hábitat:

Nativo de bosques húmedos de tierras bajas de Centro América, el Caribe Sur América; introducida en la India y África Occidental. En Guatemala se ha descrito en tierras costeras de ambos océanos. (Standley y Williams 1976)

4.3.1.2 Usos y propiedades medicinales:

En América y África tiene amplio uso tradicional para el tratamiento de diversas afecciones dérmicas e inflamaciones. La decocción y unguento de las hojas se usa por vía oral y tópica para el tratamiento de tinea, eczema, prurito, picazón y otras enfermedades *cutáneas*, reumatismo, enfermedades venéreas y mordeduras de culebra. (House *et al* 1995)

Por vía oral se le atribuye propiedad purgante, antiinflamatoria, antifúngica y antihelmíntica; por vía tópica se le atribuye propiedad antifúngica, insecticida y cicatrizante. (House *et al* 1995)

4.3.1.3 Farmacología experimental y clínica:

El modo de acción se asocia con la destrucción irreparable de la pared celular de la macroconidia. El extracto de hojas tiene actividad cicatrizante y desinfectante de lesiones inducidas experimentalmente por *Staphylococcus aureus*. (Ibrahim y Osman 1995)

El jugo de las hojas ha sido usado eficientemente en el tratamiento de pacientes con *Pityriasis versicolor*. El extracto etanólico de las flores y sus fracciones tienen actividad antifúngica. (Adedayo *et al* 1999)

El extracto hidroalcohólico ha demostrado en diversos modelos animales actividad antiinflamatoria, analgésica, diurética y espasmolítica, mientras que el extracto fluido ha demostrado actividad, antihistamínica y laxante. Una pomada conteniendo extracto de la hoja tiene actividad cicatrizante en conejos. (Ibrahim y Osman 1995)

4.3.2 Guayaba (*Psidium guajava*)

4.3.2.1 Hábitat:

Nativo de América tropical, en bosques húmedos y secos; sembrado comercialmente en zonas cálidas de África y Asia hasta 1800 msnm. Se han descrito variedades en todo el país, especialmente en Baja Verapaz, Chiquimula, Jutiapa y Santa Rosa. (Standley y Williams 1976)

4.3.2.2 Usos y propiedades medicinales:

La decocción de hojas y corteza se usa por vía oral en afecciones digestivas (amebiasis, diarrea, disentería, cólico); anemia, asma, diabetes, hemorragia, hinchazón, uretritis y resfrío. Por vía tópica se aplica en baños y lavados para enfermedades dermatomucosas y en enjuagues para lengua inflamada. (Germosén-Robineau 1996, Giron *et al* 1991)

Se les atribuye propiedad antibacteriana, antiemética, antiinflamatoria, antihelmíntica, antiséptica, antitusiva, astringente, carminativa, espasmolítica y tónica. (Cáceres 2006, Argueta *et al* 1994)

4.3.2.3 Farmacología experimental y clínica:

La tintura de las hojas es activa contra *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Pseudomona aeruginosa* y *Candida albicans*; la decocción contra *Epidermophyton floccosum*, *Trichomonas vaginalis* y rotavirus de simios; el extracto etanólico contra *Escherichia coli enterohemorrágica*. (Goncalvez *et al* 2005, Voravuthikunchai *et al* 2004)

El extracto etanólico de hojas disminuye el tránsito intestinal, la actividad motora en relación dosis-efecto y es antiinflamatorio en ratón. (Lozoya *et al* 1990).

4.3.3 Laurel (*Litsea glaucescens*)

4.3.3.1 Hábitat:

Es nativo de México y Centro América; se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Huehuetenango, Quetzaltenango, San Marcos y Zacapa. (Standley y Williams 1976).

4.3.3.2 Usos y propiedades medicinales:

El cocimiento o infusión de hojas por vía oral se usa para el tratamiento de afecciones respiratorias y gastrointestinales (cólico), carencia de leche en la madre e hinchazón. (Martínez-Vasquez *et al* 1999)

Tópicamente se usa en lavados y baños para cansancio, úlceras, piernas hinchadas y epilepsia; en sahumeros se usa para parálisis y gargarismos para la inflamación de la garganta. (Linares *et al* 1990, Argueta *et al* 1994)

4.3.3.3 Farmacología experimental y clínica:

La tintura de hojas tiene actividad contra entero bacterias, pero tiene moderada actividad contra *Candida albicans*, *Epidermophyton floccosum* y *Microsporun canis*. El extracto etanólico presenta actividad insecticida contra hormigas. (Grainge y Ahmed 1988)

4.3.4 Madrecacao (*Gliricidia sepium*)

4.3.4.1 Hábitat:

Nativo de América tropical, crece en laderas hasta 1600 msnm, se ha introducido y se cultiva en todo el mundo tropical. Se ha descrito en la mayoría de regiones cálidas del país. (Standley y Williams 1976)

4.3.4.2 Usos y propiedades medicinales:

El cocimiento de las hojas y corteza se usa por vía oral para tratar afecciones gastrointestinales, respiratorias y de la piel (erupciones, erisipela, impétigo, gangrena, granos, jiole, gonorrea, quemaduras, picaduras de insectos, úlceras), paludismo y paperas; la decocción de hojas se usa en el tratamiento de hipertensión.

El cocimiento de las raíces se toma para aliviar el dolor de garganta, afecciones del riñón, ictericia y edema. (Ronquillo *et al* 1988, Nelson 1986)

Tópicamente las hojas y la corteza, frescas o cocidas, se aplican como lavados, compresas, emplastados o sobados sobre empeines, erisipela, impétigo, intertrigo, jilote, granos, raspones, salpullido, sarna, ulcera y otras enfermedades de la piel; como baños se aplica para el tratamiento de alergias. (Cáceres 2006)

Se le atribuye propiedad antihistamínica, antimalárica, antiséptica, antifúngica, cicatrizante, diurética, expectorante, febrífuga e hipotensora. (Cáceres 2006)

4.3.4.3 Farmacología experimental y clínica:

La tintura de hojas es activa contra *Neisseria gonorrhoea*; la decocción contra *Microsporun canis*, y *Trichophyton mentagrophytes* con actividad fungicida y fungistática; los órganos mas activos son la corteza, flor y raíz; el mejor disolvente es el etanol; el extracto clorofórmico y metanólico son antifúngicos. Las semillas y las raíces tienen actividad insecticida, repelente y rodenticida. (Cáceres 2006, Rahalison *et al* 1993)

4.3.5 Nance (*Byrsonima crassifolia*)

4.3.5.1 Hábitat:

Nativo de México a Sur América y Caribe en bosques secos y tropicales hasta 1,800 msnm. Se ha descrito en la mayoría de zonas cálidas de Guatemala. (Standley y Williams 1976)

4.3.5.2 Usos y propiedades medicinales:

El polvo cura las úlceras, se aplica en lociones eficaces para disolver los tumores de las piernas. El cocimiento de corteza se usa por vía oral para tratar afecciones respiratorias y digestivas, dolor de muelas, hemorragias, picadura de culebra, parásitos y favorecer el parto y la expulsión de la placenta. (Bejar y Malone 1993, Ronquillo *et al* 1988)

Por vía tópica se usa para tratar afecciones dermatomucosas (estomatitis, leucorrea, pioderma, tinea, úlcera, vaginitis), tumores y apretar los dientes. (Duke 1985)

Se le atribuye propiedad acaricida, antifúngica, antineurálgica, antitusiva, astringente, cicatrizante, desinflamante, digestiva, emenagoga, febrífuga y tónica. (Cáceres 2006)

4.3.5.3 Farmacología experimental y clínica:

El extracto acuoso de hojas, corteza y raíz es activo contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; la tintura de corteza contra enterobacterias, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus capyogenes*, *Candida albicans*; la decocción contra *Epidermophyton floccosum*, *Microsporun canis*, *Mricosporun gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Trichophyton rubrum*. La corteza es el órgano mas activo contra bacterias y el etanol el mejor disolvente por bioactividad y rendimiento. El extracto con acetato de etilo de la raíz tiene potente actividad. (Cáceres 2006, Martínez-Vasquez *et al* 1999)

4.3.6 Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*)

4.3.6.1 Hábitat:

Se encuentra en bosques secos y montes espinosos subtropicales, en pendientes pedregosas muy secas, en matorrales húmedos o secos y planicies hasta 350 msnm. Se ha descrito en Chiquimula, El Progreso y Zacapa. (Standley y Williams 1976)

4.3.6.2 Usos y propiedades medicinales:

La infusión de hojas se usa para tratar anemia afecciones digestivas y respiratorias, hidropesía, ictericia, amenorrea, dismenorrea, reumatismo y vértigo. La decocción en leche se usa para tratar asma y bronquitis; un jarabe de las hojas se usa para tratar diabetes, disentería, catarro y resfríos. (Ocampo y Maffioli 1987, Ronquillo *et al* 1988, Martínez-Vásquez *et al* 1999)

Tópicamente la decocción se aplica para combatir la tinea y en la cicatrización de heridas, llagas e inflamación de la garganta; en baños se usa para fortalecer niños debilitados, combatir la gripe y para aliviar el prurito y la sarna. (Cáceres 2006)

4.3.6.3 Farmacología experimental y clínica:

La tintura e infusión de hojas son activas contra *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes*. Los extractos con diclorometanom etanos y el aceite esencial son activos contra bacterias grampositivo y hongos (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus flavus*, *E. floccosum*, *M. gypseum*, *Trichophyton rubrum*). (Cáceres 2006, Salgueiro *et al* 2003)

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Descripción del Área:

La elaboración de los extractos de las plantas nativas, las realicé en el laboratorio de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

5.2 Recursos Humanos:

- Estudiante que realizara el estudio.
- Profesionales asesores.
- Técnicos de laboratorio.

5.3 Material Biológico:

Utilicé 2 levaduras (*Malassezia pachydermatis*, *Candida albicans*) y 3 hongos dermatofitos (*M. canis*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*), del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, las cuales se colectaron de muestras de piel y anexos de perros.

Así también utilicé el extracto etanólico de 6 plantas nativas:

- Barajo (*Cassia reticulata*)
- Guayabo (*Psidium guajava*)
- Laurel (*Litsea glaucescens*)
- Madrecacao (*Gliricidia sepium*)
- Nance (*Byrsonima crassifolia*)
- Oregano mexicano (*Lippia graveolens*)

5.4 Material y Equipo de Laboratorio.

- Algodón
- Agar-agar
- Agar Muller- Hilton
- Agar Sabouraud
- Agitador
- Agua
- Agua desmineralizada
- Asa de nicromo en argolla
- Autoclave
- Balanza analítica
- Balón de 1000 ml
- Bandejas
- Bolsas plásticas
- Cajas de Petri simples y cuadriplate
- Caldo tripticasa soya
- Cámara de Neubauer
- Campanillas de Durham
- Cedazo
- Desecadora
- Dextrosa
- Erlenmeyers
- Etanol al 50%
- Fosfato diácido de potasio
- Frascos de vidrio color ambar
- Incubadora
- Ketoconazol
- Masking tape
- Papel filtro
- Papel parafilm

- Peptona
- Percolador
- Pinzas
- Pipetas automáticas
- Puntas amarillas de 200 μL
- Puntas azules de 1000 μL
- Refrigeradora
- Regla graduada en milímetros
- Rotavapor
- Seis recipientes de vidrio opaco
- Sistema de enfriamiento o circulación de agua
- Solución salina isotónica
- Soporte de metal
- Sulfato de sodio
- Tamiz
- Termómetro
- Tijeras
- Tubos con tapón de rosca
- Vaselina
- Vaso de precipitar
- Viales

5.5 Centros de Referencia

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
- Internet

5.6 Metodología

5.6.1 Diseño del estudio:

Evalué la actividad antimicótica y antilevaduriforme de 6 plantas medicinales contra 3 hongos y 2 levaduras que afectan piel y anexos en perros.

5.6.2 Obtención de las plantas medicinales:

Las plantas medicinales se obtuvieron del laboratorio de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

5.6.3 Realización de los extractos:

Realicé los extractos de las diferentes plantas por medio del método descrito según Gaitán, 2005. Coloqué en el horno de secado las plantas por 2 horas, almacené posteriormente. Sometí al proceso de tamizaje y en seguida realicé la extracción continua por percolación, agregué etanol al 50% y dejé reposar por 48 horas para llevar a cabo la extracción, luego llevé a cabo la concentración usando Rotavapor la cual representa la siguiente etapa al proceso de extracción. Los extractos se ajustaron en volumen en función a la concentración.

5.6.4 Evaluación de la actividad antimicótica:

- Evalué la actividad antimicótica *in vitro*; según el método descrito por Brancato & Golding, modificado por Mac Rae *et al.*
- Realicé las siembras de hongos dermatofitos en agar Sabouraud, incubaré a temperatura ambiente por 21 días.

- Posteriormente de estos cultivos realicé la siembra de dermatofitos en medio de cultivo Takashio, incubé a 27°C durante 21 días, hasta obtener un crecimiento homogéneo.
- Del cultivo anterior se desprendió el hongo con una varilla, se trasvasó a un vial con tapa de rosca con 2 ml de agua destilada estéril y se agitó por un minuto.
- Mediante la cámara de Neubauer se estandarizó la cantidad de esporas de dermatofitos a 100 esporas/μl (aproximadamente 10 esporas/cuadrante).
- Realicé el agar-planta, en este abrieron 4 agujeros con campanillas de Durham de 5 mm de diámetro; en forma equidistante, en el cual se sembró de forma individual los hongos dermatofitos por agar-planta.
- Tomé 30 μl de la suspensión de esporas y se depositó en los 4 agujeros, lo que equivale a 4 repeticiones. Se incubó a 27°C por 14 días.
- Realicé 4 repeticiones en la misma forma por cada hongo dermatofito.
- Para cada tipo de hongo dermatofito realicé un control positivo (ketoconazol) y un control negativo (etanol al 50%).

(Mac Rae WD, *et al.* 1988)

5.6.5 Evaluación de la actividad antilevaduriforme:

- Se evalué la actividad antilevadura *in vitro*; según el método descrito por Mitscher *et al.*
- Realicé siembras de hongos levaduriformes en agar Sabouraud, y se incubó a 37°C por 48 horas.
- Realicé el agar planta, donde inoculé con asa los hongos levaduriformes. Incubé a 37 °C por 48 horas. Luego evalué la inhibición de crecimiento de dichos hongos.
- Para cada tipo de hongo levaduriforme realicé un control positivo (ketoconazol) y un control negativo (etanol al 50%).

(Mitscher, LA *et al.* 1972)

5.6.6 Evaluación de la concentración inhibitoria mínima

- De las plantas con actividad antimicótica, determiné la concentración inhibitoria mínima (CIM); según el método descrito por Brancato & Golding, modificado por Mac Rae *et al.*

(Mac Rae WD, *et al.* 1988)

- De las plantas con propiedad antilevaduriforme, determiné la concentración inhibitoria mínima; según el método descrito por Cáceres *et al.*

5.7 Análisis Estadístico

Para determinar la existencia de actividad antimicótica y antilevaduriforme de los extractos de las seis plantas medicinales, utilicé estadística descriptiva; y la presentación de resultados la realicé por medio de cuadros.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Determinación de la actividad antilevadura.

6.1.1 Determinación de la relación dosis-efecto de antimicótico utilizado en el control positivo.

Preparé tres concentraciones del antimicótico ketoconazole a un Log10 de diferencia para determinar la relación dosis-efecto, determinar la concentración a la cual es efectivo contra los microorganismos en estudio y así validar el método. La concentración base utilizada fue de 10µg y prepare concentraciones a un Log10 mayor (100µg) u a uno menor (1µg) (Tabla No.1).

La concentración base fue determinada, según la concentración estándar utilizada en los discos de sensibilidad.

Tabla No.1 Determinación de la relación dosis-efecto de Ketoconazole (1,10 y 100 µg/ml).

Antimicótico y concentración	Microorganismos	
	<i>C. albicans</i>	<i>M. pachydermatis</i>
Ketoconazole 1 µg	-	-
Ketoconazole 10 µg	-	+
Ketoconazole 100 µg	-	+

(+)= No hay crecimiento o actividad positiva

(-)= Si hay crecimiento o actividad negativa

El ketoconazole a la concentración de 1 $\mu\text{g/ml}$ no posee actividad contra *Malassezia pachydermatis* y *Candida albicans*. A las concentraciones de 10 $\mu\text{g/ml}$ y 100 $\mu\text{g/ml}$ es activo contra *Malassezia pachydermatis*, pero no posee actividad contra *Candida albicans*.

Debido a que el antimicótico utilizado no tuvo actividad contra *Candida albicans* a la concentración base, utilicé fluconazole para realizar el control positivo correspondiente para poder validar el método.

Preparé tres concentraciones del antimicótico fluconazole a un Log10 de diferencia para determinar la relación dosis-efecto, determinar la concentración a la cual es efectivo contra los microorganismos en estudio y así validar el método. La concentración base utilizada fue de 100 μg y prepare concentraciones a un Log10 mayor (1000 μg) u a uno menor (10 μg) (Tabla No.2).

La concentración base fue determinada, según la concentración estándar utilizada en los discos de sensibilidad.

Tabla No.2 Determinación de la relación dosis-efecto de fluconazole (10,100 y 1000 $\mu\text{g/ml}$).

Antimicótico y concentración	Microorganismos
	<i>C. albicans</i>
Fluconazole 10 μg	+
Fluconazole 100 μg	+
Fluconazole 1000 μg	+

(+)= No hay crecimiento o actividad positiva

(-)= Si hay crecimiento o actividad negativa

El fluconazole a la concentración de 10 µg/ml posee actividad contra *Candida albicans* al igual que las concentraciones de 100 µg/ml y 1000 µg/ml.

6.1.2 Fase de tamizaje.

Determine la actividad de cada uno de los extractos obtenidos contra las levaduras *Malassezia pachydermatis* y *Candida albicans* aisladas de muestras de perro. (Tabla No.3).

Tabla No. 3 Actividad antilevadura de los extractos etanólicos de las plantas en estudio en el procedimiento de tamizaje (1 mg/ml).

Planta	Microorganismo	
	<i>M. pachydermatis</i>	<i>C. albicans</i>
<i>B. crassifolia</i>	+	-
<i>C. reticulata</i>	+	-
<i>G. sepium</i>	+	-
<i>L. glaucescens</i>	-	-
<i>L. graveolens</i>	+	+
<i>P. guajava</i>	+	-

(+)= No hay crecimiento o actividad positiva

(-)= Si hay crecimiento o actividad negativa

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* presentó actividad contra la cepa *Malassezia pachydermatis* y *Candida albicans*.

Los extractos etanólicos de *Byrsonima crassifolia*, *Cassia reticulata*, *Gliricidia sepium* y *Psidium guajava* y presentaron actividad contra la cepa de *Malassezia pachydermatis* a la que se enfrentó. Los extractos etanólicos de *Byrsonima*

crassifolia, *Cassia reticulata*, *Gliricidia sepium* y *Psidium guajava* no presentaron actividad contra *Candida albicans*.

El extracto etanólico de *Litsea glaucescens* no presentó actividad contra *Malassezia pachydermatis* y *Candida albicans*.

6.1.3 Determinación de la CIM.

Realicé esta determinación con todos los extractos que presentaron actividad para *Malassezia pachydermatis* y *Candida albicans*, a excepción del extracto de *Litsea glaucescens* que no presento actividad en la fase de tamizaje. (Tabla No.4).

Tabla No.4 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la actividad antilevadura de los extractos etanólicos de las plantas en estudio ($\mu\text{g/ml}$).

Planta	Microorganismo	
	<i>M. pachydermatis</i>	<i>C. albicans</i>
<i>B. crassifolia</i>	500	-
<i>C. reticulata</i>	1000	-
<i>G. sepium</i>	500	-
<i>L. graveolens</i>	125	62.5
<i>P. guajava</i>	250	-

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* presentó actividad contra *Malassezia pachydermatis* a la concentración de 125 $\mu\text{g/ml}$ y contra *Candida albicans* a la concentración de 62.5 $\mu\text{g/ml}$.

El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad contra *Malassezia pachydermatis* a la concentración de 250 $\mu\text{g/ml}$.

Los extractos etanólicos de *Byrsonima crassifolia* y *Gliricidia sepium* presentaron actividad contra *Malassezia pachydermatis* a la concentración de 500 µg/ml. El extracto etanólico de *Cassia reticulata* presento actividad contra *Malassezia pachydermatis* a la concentración de 1000 µg/ml.

6.2 Determinación de la actividad antimicótica.

6.2.1 Determinación de la relación dosis-efecto de antimicótico utilizado en el control positivo.

Preparé tres concentraciones del antimicótico ketoconazole a un Log 10 de diferencia para determinar la relación dosis-efecto, determinar la concentración a la cual es efectivo contra los microorganismos en estudio y así validar el método. La concentración base utilizada fue de 10µg y prepare concentraciones a un Log10 mayor (100µg) u a uno menor (1µg) (Tabla No.5).

La concentración base fue determinada, según la concentración estándar utilizada en los discos de sensibilidad.

Tabla No.5 Determinación de la relación dosis-efecto de Ketoconazole (1,10 y 100 µg/ml).

Antimicótico y concentración	Microorganismos		
	<i>Microsporum canis</i>	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>
Ketoconazole 1 µg	-	-	-
Ketoconazole 10 µg	+	+	+
Ketoconazole 100 µg	+	+	+

(+)= No hay crecimiento o actividad positiva

(-)= Si hay crecimiento o actividad negativa

El ketoconazole a la concentración de 1 µg/ml no posee actividad contra los hongos dermatofitos. A las concentraciones de 10 µg/ml y 100 µg/ml es activo contra todos los hongos dermatofitos utilizados en el estudio.

6.2.2 Fase de tamizaje

Determiné la actividad de cada uno de los extractos obtenidos contra los hongos dermatofitos *Microsporun canis*, *Microsporun gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes* aislados de piel de perro (Tabla No.6).

Tabla No.6 Actividad antimicótica de los extractos etanólicos de las plantas en estudio en el procedimiento de tamizaje (1mg/ml).

Planta	Microorganismo		
	<i>Microsporun canis</i>	<i>Microsporun gypseum</i>	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>
<i>B. crassifolia</i>	-	-	-
<i>C. reticulata</i>	-	-	-
<i>G. sepium</i>	-	-	-
<i>L. glaucescens</i>	-	-	-
<i>L. graveolens</i>	+	+	+
<i>P. guajava</i>	+	-	-

(+)= No hay crecimiento o actividad positiva

(-)= Si hay crecimiento o actividad negativa

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* presentó actividad contra *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes*. El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad únicamente contra *Microsporum canis*.

Los extractos etanólicos de *Byrsonima crassifolia*, *Cassia reticulata*, *Gliricidia sepium* y *Litsea glaucescens* no presentaron actividad contra *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes*.

6.2.3 Determinación de la CIM.

Realicé esta determinación con todos los extractos que presentaron actividad contra los hongos dermatofitos utilizados en este estudio (Tabla No.7).

Tabla No.7 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la actividad de los extractos etanólicos de las plantas en estudio (µg/ml).

Planta	Microorganismo		
	<i>Microsporum canis</i>	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>
<i>L. graveolens</i>	30	125	60
<i>P. guajava</i>	500	-	-

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* fue activo contra *Microsporum canis* a la concentración de 30 µg/ml, para *Microsporum gypseum* a la concentración de 125 µg/ml y para *Tricophyton mentagrophytes* a la concentración de 60 µg/ml.

El extracto etanólico de *Psidium guajava* fue activo contra *Microsporun canis* a la concentración de 500 µg/ml.

7. DISCUSIÓN

Los tratamientos utilizados contra hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan piel y anexos de perros son limitados y de tiempo prolongado. Estos microorganismos pueden adquirir cierta resistencia contra los tratamientos si son utilizados de manera inadecuada; además pueden tener diversos efectos adversos como: náusea, vómitos, diarrea y en ocasiones daño hepático, afectando así el funcionamiento fisiológico del animal. Es importante crear nuevos tratamientos contra los principales microorganismos que afectan piel y anexos de perros, por lo que la finalidad del presente estudio es validar los diferentes tratamientos naturales alternativos que sean eficaces, seguros, económicos y posean propiedades antimicóticas y antilevadura.

Para evaluar la actividad antilevadura utilicé el método de dilución (Mitscher *et al* 1972), y el método de Brancato & Golding (1983) modificado por MacRae *et al* (1988) para evaluar la actividad antimicótica. Ambos métodos fueron viables y reproducibles; siendo estos métodos aplicables para la realización de bioensayos contra patógenos veterinarios.

Determiné la relación dosis-efecto utilizando los fármacos antimicrobianos de uso clínico más común contra hongos; para validar el método y determinar la concentración ideal a utilizar como control positivo en el bioensayo. Los resultados demostraron que los controles positivos más adecuados fueron ketoconazole a la concentración de 10 µg/ml contra todos los hongos y levaduras en estudio a excepción de *Candida albicans*. El control positivo para *Candida albicans* fue fluconazole a la concentración de 10 µg/ml. La utilidad de estos datos radica en su uso para estudios posteriores sobre patógenos similares, y su utilidad como referencia para controles positivos de la actividad antilevadura y antimicótica.

En la fase de tamizaje, presentó actividad antilevadura el extracto etanólico de *Lippia graveolens* contra las cepas *Malassezia pachydermatis* y *Candida albicans*, lo

cual concuerda con el estudio ya que la literatura antes descrita el extracto etanólico de *Lippia graveolens* posee actividad contra hongos y levaduras realizado por Cáceres 2006, Salgueiro *et al.* 2003.

Los extractos etanólicos de *Byrsonima crassifolia*, *Cassia reticulata*, *Gliricidia sepium* y *Psidium guajava* presentaron actividad contra *Malassezia pachydermatis*, siendo esta la que tuvo mayor sensibilidad a los extractos utilizados a excepción de *Litsea glaucescens* con la que no hubo actividad.

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* presentó actividad contra *Candida albicans* a la concentración de 62.5 µg/ml y contra *Malassezia pachydermatis* a la concentración de 125 µg/ml, siendo este extracto la que obtuvo menor CIM; esta actividad se atribuye según Budavari (1989) al carvacrol, compuesto que actúa en parte alterando la permeabilidad de la membrana celular de los microorganismos susceptibles.

El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad contra *Malassezia pachydermatis* a la concentración de 250 µg/ml, siendo este el segundo extracto en obtener el segundo menor valor CIM.

En la CIM el extracto etanólico de *Byrsonima crassifolia* y *Gliricidia sepium* presentaron actividad contra *Malassezia pachydermatis* a la concentración de 500 µg/ml. El extracto etanólico de *Cassia reticulata* presentó actividad contra *Malassezia pachydermatis* a la concentración de 1000 µg/ml, siendo estos los extractos que obtuvieron mayores valores CIM.

Los extractos etanólicos de *Byrsonima crassifolia*, *Cassia reticulata*, *Gliricidia sepium* y *Psidium guajava* no presentaron actividad contra *Candida albicans* en la fase de tamizaje ya que esta no presentó sensibilidad a la mayoría de extractos etanólicos.

El extracto etanólico de *Litsea glaucescens* no presentó actividad contra *Malassezia pachydermatis* y *Candida albicans* en la fase de tamizaje; lo que pudo deberse a la baja concentración utilizada. (Cáceres 2006, Salgueiro *et al.* 2003).

En la fase de tamizaje presentaron actividad antimicótica el extracto etanólico de *Lippia graveolens* contra *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes*. El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad únicamente contra *Microsporum canis*, mientras que los extractos etanólicos de *Byrsonima crassifolia*, *Cassia reticulata*, *Gliricidia sepium* y *Litsea glaucescens*, no poseen actividad contra *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes*.

En la CIM el extracto etanólico de *Lippia graveolens* fue activo contra *Microsporum canis* a la concentración de 30 µg/ml, *Tricophyton mentagrophytes* a la concentración de 60 µg/ml y *Microsporum gypseum* a la concentración de 125 µg/ml, siendo estos los menores valores obtenidos en la concentración inhibitoria mínima, mientras que el extracto etanólico de *Psidium guajava* fue activo contra *Microsporum canis* a la concentración de 500 µg/ml siendo esta la mayor concentración obtenida del CIM.

Debido a que la infección por *Microsporum canis* es la causa más común de dermatofitosis en perros, es de utilidad saber que también es sensible al extracto etanólico de *Psidium guajava*, por lo que puede ser considerado como alternativa secundaria para el tratamiento.

La información generada en el presente estudio valida la actividad biológica de las seis plantas medicinales nativas estudiadas *in vitro* contra los principales hongos dermatofitos y levaduriformes que afectan piel y anexos en perros; además de la potencial aplicación en la práctica clínica veterinaria.

VII. CONCLUSIONES

1. Se demostró que los extractos etanólicos de *Byrsonima crassifolia*, *Cassia reticulata*, *Gliricidia sepium*, *Lippia graveolens* y *Psidium guajava* presentaron actividad antilevadura contra *Malassezia pachydermatis* en la fase de tamizaje; y contra *Candida albicans* solamente los extractos de *Lippia graveolens* y *Psidium guajava* *in vitro*.
2. El extracto etanólico de *Lippia graveolens* fue el que tuvo mejores resultados antimicóticos y antilevadura contra *candida albicans* y *Microsporun canis*.
3. El extracto etanólico de *Psidium guajava*, fue el segundo que tuvo mejores resultados contra *Malassezia pachydermatis* y *Microsporun canis*.
4. El extracto etanólico de *Lippia graveolens* fue el que obtuvo los menores valores de CIM (concentración inhibitoria mínima), en las pruebas realizadas contra los diferentes microorganismos utilizados en el estudio siendo estos: contra *Candida albicans* (62.5 µg/ml), *Malassezia pachydermatis* (125 µg/ml), *Microsporun canis* (30 µg/ml), *Tricophyton mentagrophytes* (60 µg/ml) y *Microsporun gypseum* (125 µg/ml).
5. Los extractos etanólicos que obtuvieron menor valor de CIM contra *Malassezia pachydermatis* fueron: *Psidium guajava* (250 µg/ml.), *Gliricidia sepium* (500 µg/ml.), *Byrsonima crassifolia* (500 µg/ml.) y *Cassia reticulata* (1000 µg/ml.).
6. Se demostró que los extractos etanólicos de *Byrsonima crassifolia*, *Cassia reticulata*, *Gliricidia sepium* y *Litsea glaucescens* no presentaron actividad antimicótica contra *Microsporun canis*, *Microsporun gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes*.
7. El extracto etanólico de *Litsea glaucescens* no posee actividad contra los hongos y levaduras estudiados.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Realizar nuevas investigaciones, para identificar otro tipo de propiedades que pudieran poseer estas plantas nativas medicinales contra otras patologías en medicina veterinaria.
2. Realizar estudios de costo-beneficio para la utilización de los extractos de este tipo de plantas, en formulaciones farmacéuticas para la administración ótica y dérmica, con el fin de conocer su estabilidad y utilizarlos en ensayos clínicos que validen su uso *in vivo*.
3. Estudiar por fraccionamiento bioguiado los extractos con propiedades antimicótica y antilevadura que se desconoce su principio activo con el fin de identificar la(s) molécula(s) responsable(s) de la actividad.
4. Investigar otro tipo de plantas nativas que posean propiedades medicinales, para que de esta forma puedan contribuir con terapias alternativas, contra las diferentes patologías de medicina veterinaria.

IX. RESUMEN

El objeto del estudio fue generar información científica que respalde la fitoterapia como alternativa terapéutica en la clínica de especies menores. Evalué la actividad antimicótica *in vitro* de extractos de las plantas *Byrsonima crassifolia*, *Cassia reticulata*, *Gliricidia sepium*, *Lippia graveolens*, *Litsea glaucescens* y *Psidium guajava* contra los hongos dermatofitos *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* y *Tricophyton mentagrophytes*; y la actividad antilevadura *in vitro* contra las levaduras *Candida albicans* y *Malassezia pachydermatis*; estos microorganismos se obtuvieron del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria, dichos microorganismos fueron aislados de casos clínicos de perros provenientes del hospital veterinario de la misma casa de estudios.

Para evaluar la actividad antilevadura utilicé el método de dilución (Mitscher *et al* 1972), y el método de Brancato & Golding (1983) modificado por MacRae *et al* (1988) para evaluar la actividad antimicótica; y se demostró actividad de todos los extractos a excepción de *Litsea glaucescens* que no presento actividad contra los hongos y levaduras estudiadas.

Los valores CIM mas bajos contra *Malassezia pachydermatis* se obtuvieron con el extracto etanolico de *Lippia graveolens* (CIM 125 µg/ml), y contra *Candida albicans* (CIM 62.5 µg/ml) y *Psidium guajava* (CIM 250 µg/ml), siendo estos dos extractos los que tuvieron mejor actividad antimicótica y antilevadura. Contra *Microsporum canis* el extracto de *Lippia graveolens* obtuvo (CIM 30 µg/ml) y *Psidium guajava* (CIM 500 µg/ml) respectivamente.

La información generada en este estudio validó la actividad biológica de las plantas estudiadas en medicina veterinaria. Además de la aplicación clínica de estos resultados, es punto de partida para diversas investigaciones que validen el uso de

las plantas medicinales como parte del tratamiento de patologías en medicina veterinaria.

X. BIBLIOGRAFÍA:

1. Adedayo, O; Anderson, WA; Moo-Young, M; Kolawole, DO.1999. Antifungal properties of some components of *Senna alata* flower pharmaceut. Biol.
2. Argueta, A; Cano, L; Rodarte, M;1994. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Instituto Indigenista tomos I.II.III. 1786p.
3. Béjar, E; Malone, MH.1993. Pharmacological and chemical screening of *Byrsonima crassifolia*, a medicinal tree from Mexico. Part I.J Ethnopharmacol. s.p.
4. Budavari, S. 1989. New Jersey,US. The Merck Index. Rahway, Merck & Co. 1606 p.
5. Cáceres, A. 2006. Vademécum nacional de plantas medicinales. Guatemala, GT. Editorial Universitaria. 262p.
6. Duke, JA. 1985. CRC Handbook of Medicinal Herbs. Boca Raton, CR, Press, 246p.
7. Gaitán, I. 2005. PEO. Extractos y tinturas. Laboratorio de Bioensayos. Departamento de Citohistología, Facultad de Farmacia, USAC. s.p.
8. Germosén- Robineau, L. 1996. Farmacopea Vegetal Caribeña. Santo Domingo, TRAMIL, 360p.
9. Girón, LM; Freire, AV; Alonzo, A; Cáceres, A.1991. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. J. Ethnopharmacol.
10. Goncalves, JLS; Lopes, RC; Oliveira, DB, Costa, SS; Miranda, MMFS; Romanos, MTV; Santos, NSO; Wigg, MD. 2005. In vitro antirotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. J. Ethnopharmacol.
11. Grainge, M; Ahmed, S. 1988. Handbook of Plants with Pesto- Control Properties. New York, John Wiley & Son, 470p.
12. Guaguere, E; Besignor, E. 2004. Terapéutica dermatológica del perro.4ed. Barcelona, ES. Editorial Masson, 251p.

13. Helton, RK. 2006. La consulta veterinaria en 5 minutos: Dermatología de animales pequeños. Buenos Aires, AR. Inter-Medica, 776p.
14. House, PR; Lagos-Witte, S; Ochoa, L; Torres, C; Mejia, T; Rivas, M. 1995. Plantas Medicinales Comunes de Honduras. Tegucigalpa, UNAH/CIMNH/CID/CIIR/GTZ. 555p.
15. Ibrahim, D; Osman, H. 1995. Antimicrobial activity of *Cassia alata* from Malaysia. J. Ethnopharmacol. s.p.
16. Linares E, Bye R, Flores B. 1990. Test Curativos de México. México, UNAM, 140p.
17. Lozoya, X; Becerril, G; Martínez, M. 1990. Modelo de perfusión intraluminal de ileón de cobayo *in vitro* en el estudio de las propiedades antidiarreicas de la guayaba (*Psidium guajava*). Arch. Invest. Méd. s.p.
18. Mac Rae, WD, *et al.* 1988. Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceae. J. Ethnopharmacol. 22:143-172.
19. Martínez, M, CS; Bosque, VM. 2004. Microsporun canis características y diagnóstico. Valencia, ES, s.e. (s.p.)
20. Martínez-Vásquez, M; González-Esquinca, AR; Cazares, L; Moreno, Gutiérrez, MN; García-Argáez, AN. 1999. Antimicrobial activity of *Byrsonima crassifolia* (L). HBK. J. Ethnopharmacol. s.p.
21. Mitscher, LA *et al.* 1972. Antimicrobial agents from higher plants. Introduction, rationale and methodology. *Lloydia* 35: 157-166.
22. Nelson, CH. 1986. Plantas comunes de Tegucigalpa, HN, Editorial Universitaria, 922p.
23. Ocampo, RA; Maffioli, A. 1987. El Uso de Algunas Plantas Medicinales en Costa Rica. San José, Trejos Hnos., 200p.
24. Rahalison, L; Hamburger, M; Hostettmann, K; Monod, M; Frenk, E; Gupta, MP; Santana, AI; Correa, MD, González, AG. 1993. Screening for antifungal activity of Panamenian plants. Int. J. Pharmacog. s.p.
25. Rejas, L, J. 2005. Dermatología clínica veterinaria (en línea). Consultado 10 sep. 2009. Disponible en <http://www3.unileon.es/personal/wwdmjrl/dermatopatias/dermatofitos.htm>

26. Ronquillo, FA; Melgar, MF; Carrillo, JE; Martínez, AB. 1988. Especies vegetales de uso actual y potencial en alimentación y medicina de las zonas semiáridas del nororiente de Guatemala. Cuadernos DIGI, 249p.
27. Salgueiro, LR; Cavaleiro, C; Goncalves, MJ; Proenca da Cunha, A. 2003. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Med.* s.p.
28. Schaer, M. 2002. Medicina clínica del perro y el gato. 3ed. Barcelona, ES, Editorial Masson, 571 pag.
29. Standley, PC; Williams, LO. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana; Botany. s.p.
30. Voravuthikunchai, S; Lortheeranuwat, A; Jeeju, W; Sirirak, T; Phongpaichit, S; Supawita, T. 2004. Effective medicinal plants against enterohae-morrhagic *Escherichia coli*0157:H7 J. *Ethonopharmacol.* s.p.

XI. ANEXOS

HOJA DE REGISTRO PARA LA EVALUACIÓN DE LOS CONTROLES POSITIVOS PARA LA ACTIVIDAD ANTILEVADURA.

Tabla No.1 Determinación de la relación dosis-efecto de Ketoconazole (1,10 y 100 µg/ml).

Antimicótico y concentración	Microorganismos	
	<i>C. albicans</i>	<i>M. pachydermatis</i>
Ketoconazole 1 µg		
Ketoconazole 10 µg		
Ketoconazole 100 µg		

(+)= No hay crecimiento o actividad positiva

(-)= Si hay crecimiento o actividad negativa

Tabla No.2 Determinación de la relación dosis-efecto de fluconazole (10,100 y 1000 µg/ml).

Antimicótico y concentración	Microorganismos
	<i>C. albicans</i>
Fluconazole 10 µg	
Fluconazole 100 µg	
Fluconazole 1000 µg	

(+)= No hay crecimiento o actividad positiva

(-)= Si hay crecimiento o actividad negativa

HOJA DE REGISTRO PARA LA EVALUACIÓN ANTILEVADURA FASE DE TAMIZAJE.

Tabla No. 3 Actividad antilevadura de los extractos etanólicos de las plantas en estudio en el procedimiento de tamizaje (1 mg/ml).

Planta	Microorganismo	
	<i>M. pachydermatis</i>	<i>C. albicans</i>
<i>B. crassifolia</i>		
<i>C. reticulata</i>		
<i>G. sepium</i>		
<i>L. glaucescens</i>		
<i>L. graveolens</i>		
<i>P. guajava</i>		

(+)= No hay crecimiento o actividad positiva

(-)= Si hay crecimiento o actividad negativa

HOJA DE REGISTRO PARA LA EVALUACIÓN ACTIVIDAD ANTILEVADURA Y CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA.

Tabla No.4 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la actividad antilevaduriforme de los extractos etanólicos de las plantas en estudio (µg/ml).

Planta	Microorganismo	
	<i>M. pachydermatis</i>	<i>C. albicans</i>
<i>B. crassifolia</i>		
<i>C. reticulata</i>		
<i>G. sepium</i>		
<i>L. graveolens</i>		
<i>P. guajava</i>		

**HOJA DE REGISTRO PARA LA EVALUACIÓN DE LOS CONTROLES
POSITIVOS PARA LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA.**

**Tabla No.5 Determinación de la relación dosis-efecto de Ketoconazole (1,10 y
100 µg/ml).**

Antimicótico y concentración	Microorganismos		
	<i>Microsporun canis</i>	<i>Microsporun gypseum</i>	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>
Ketoconazole 1 µg			
Ketoconazole 10 µg			
Ketoconazole 100 µg			

(+)= No hay crecimiento o actividad positiva

(-)= Si hay crecimiento o actividad negativa

**HOJA DE REGISTRO PARA LA EVALUACIÓN ANTIMICÓTICA FASE DE
TAMIZAJE.**

**Tabla No.6 Actividad antimicótica de los extractos etanólicos de las
plantas en estudio en el procedimiento de tamizaje (1mg/ml).**

Planta	Microorganismo		
	<i>Microsporun canis</i>	<i>Microsporun gypseum</i>	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>
<i>B. crassifolia</i>			
<i>C. reticulata</i>			
<i>G. sepium</i>			
<i>L. glaucescens</i>			
<i>L. graveolens</i>			
<i>P. guajava</i>			

(+)= No hay crecimiento o actividad positiva

(-)= Si hay crecimiento o actividad negativa

**HOJA DE REGISTRO PARA LA EVALUACIÓN ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA Y
CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA.**

Tabla No.7 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la actividad de los extractos etanólicos de las plantas en estudio (µg/ml).

Planta	Microorganismo		
	<i>Microsporum canis</i>	<i>Microsporum gypseum</i>	<i>Tricophyton mentagrophytes</i>
<i>L. graveolens</i>			
<i>P. guajava</i>			

**Tabla No.8 HOJA DE IDENTIFICACIÓN DE PLANTAS MEDICINALES NATIVAS
POR NOMBRE CIENTIFICO-COMÚN.**

Nombre Científico	Nombre Común
<i>Byrsonima crassifolia</i>	Nance
<i>Cassia reticulata</i>	Barajo
<i>Gliricidia sepium</i>	Madrecacao
<i>Litsea glaucescens</i>	Laurel
<i>Lippia graveolens</i>	Orégano Mexicano
<i>Psidium guajava</i>	Guayaba