

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

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a woman in a red dress and white headscarf, holding a book. Above her is a golden crown with a cross. To the left and right are golden lions. Below the central figure is a shield with a white background and a blue border, depicting a knight on a white horse. The shield is set against a green landscape with two golden pillars. The entire seal is surrounded by a grey border containing the Latin text "UNIVERSITAS CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CAETERA VIRIBUS CONSPICUA".

EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS DE SEIS PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA SOBRE CEPAS BACTERIANAS CAUSANTES DE PATOLOGÍAS RESPIRATORIAS EN CERDOS

KARLA MARITZA JOCABED YAQUIÁN GARCÍA

GUATEMALA, MARZO 2011

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

EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS DE SEIS PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA SOBRE CEPAS BACTERIANAS CAUSANTES DE PATOLOGÍAS RESPIRATORIAS EN CERDOS

TESIS

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

POR

KARLA MARITZA JOCABED YAQUIÀN GARCÌA

COMO REQUISITO PREVIO A CONFERÍRSELE EL TÍTULO ACADÈMICO DE

MÈDICA VETERINARIA

GUATEMALA, MARZO 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: Med. Vet. YERI EDGARDO VÉLIZ PORRAS
VOCAL II: MSc. Med. Vet. FREDY ROLANDO GONZÁLEZ GUERRERO
VOCAL III: Med. Vet y Zoot. MARIO ANTONIO MOTTA GONZÁLEZ
VOCAL IV: Br. SET LEVI SAMAYOA LÓPEZ
VOCAL V: Br. LUIS ALBERTO VILLEDA LANUZA

ASESORES:

Lic. ARMANDO CÁCERES
Med. Vet. YERI EDGARDO VÉLIZ PORRAS
Med. Vet. JACQUELINE ESCOBAR

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:

**EVALUACIÓN *in vitro* DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE EXTRACTOS DE
SEIS PLANTAS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA SOBRE CEPAS
BACTERIANAS CAUSANTES DE PATOLOGÍAS RESPIRATORIAS EN CERDOS**

QUE FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMO REQUISITO PREVIO A OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE

MÉDICA VETERINARIA

TESIS QUE DEDICO

- A DIOS:** Por ser el dador de la vida, la gracia y la salvación. Agradezco su voluntad, buena, agradable y perfecta que permitió que este logro naciera en su corazón y se hiciera realidad.
- A MIS PADRES:** Carlos Eduardo Yaquián, por apoyarme a lo largo de mi carrera y hacerse sentir siempre cerca, y Ana Cristina García por ser mi fuerza en momentos difíciles y el instrumento que Dios usa para mostrarme su amor.
- A MI HERMANA:** Por ser mi compañera de juegos, gran amiga, consejera y estar a mi lado en momentos especiales e inolvidables a lo largo de mi vida.
- A MI NOVIO:** Juan José Chávez, por ser amigo, maestro y el mejor compañero de vida que Dios pudo darme trayendo una razón para sonreír cada día.
- A MIS AMIGOS:** Por todas las vivencias, anécdotas y momentos de llanto o carcajadas que llevaré siempre en mi corazón. Los verdaderos amigos se dan por aludidos.
- A MIS PADRINOS:** Manuel Rodríguez Zea, Carlos Camey y Samuel Mérida; por ser profesionales que se ganaron mi cariño y admiración, compartiendo sus conocimientos con respeto, sinceridad y amistad; nunca con egoísmo.

AGRADECIMIENTOS

A mi patria Guatemala, por ser la cuna de mis metas y el escenario de mis logros alcanzados.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala por abrirme sus puertas para prepararme y forjarme como profesional.

A los catedráticos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por brindarme la instrucción necesaria para alcanzar este logro y en algunos casos, también su amistad.

A mis asesores Lic. Armando Cáceres, M.V. Yeri Veliz y M.V. Jacqueline Escobar, por poner a mi alcance sus conocimientos y experiencia, brindándome con dedicación el tiempo necesario para elaborar este trabajo de investigación.

Al Centro de Investigación de Etnoveterinaria y Terapias Alternativas (CIETA) y a Veterinarios Sin Fronteras, por facilitarme los recursos para la realización de este estudio.

Al personal del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por enseñarme pacientemente la metodología de los bioensayos realizados en este estudio.

Al personal del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por su colaboración y buena disposición durante el desarrollo de esta investigación.

Al Ing. Mario Véliz por su valiosa ayuda en el área botánica de esta investigación y a todos aquellos que colaboraron directa o indirectamente para que este trabajo de graduación se llevara a cabo.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	01
II.	HIPÓTESIS	02
III.	OBJETIVOS	03
	2.1 Objetivo general	03
	2.2 Objetivos específicos	03
IV.	REVISIÓN DE LITERATURA	04
	4.1. Pericón, <i>Tagetes lucida</i> Cav.	04
	4.2. Eucalipto, <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	06
	4.3. Orégano , <i>Lippia graveolens</i> HBK	08
	4.4. Ocote, <i>Pinus oocarpa</i> Schiede	09
	4.5. Nance , <i>Byrsonima crassifolia</i> HBK	10
	4.6. Miltomate, <i>Physalis philadelphica</i> Lam.	13
	4.7. Enfermedades respiratorias en el ganado porcino	14
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	16
	5.1 Área de Trabajo	16
	5.2 Recursos humanos	16
	5.3 Recursos biológicos	16
	5.4 Materiales y equipo	17
	5.5 Métodos	19
	5.5.1 Obtención y selección de las cepas	20
	5.5.2 Obtención de los extractos	21
	5.5.3 Tamizaje de la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> y Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)	21
	5.6 Análisis Estadístico	22

VI.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
6.1	Determinación de la relación dosis-efecto de antibióticos utilizados en el control positivo	23
6.2	Fase de tamizaje y determinación de Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)	25
VII.	CONCLUSIONES	30
VIII.	RECOMENDACIONES	31
IX.	RESUMEN	32
X.	BIBLIOGRAFÍA	33
XI.	ANEXOS	39

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades respiratorias de origen bacteriano, son una problemática creciente a nivel de explotaciones porcinas, provocando pérdidas económicas debido a disminución de la producción y gastos en tratamientos administrados. Convencionalmente, el tratamiento consiste en la antibioterapia empírica, lo que promueve resistencia bacteriana por subdosificación, tanto en los animales como en el ser humano al consumir residuos de estos medicamentos en los alimentos.

La fitoterapia es una alternativa prometedora, que tiene como beneficios el aprovechamiento de los recursos naturales, alta disponibilidad y bajo costo. Actualmente en Guatemala se cuenta con estudios que han demostrado la actividad de plantas de uso medicinal contra bacterias causantes de enfermedades respiratorias en humanos (Cáceres *et al.*, 1991a), mientras que no existen estudios que respalden la aplicación de la fitoterapia en cerdos. Por esta razón es necesario generar información científica preliminar que valide su uso como parte del tratamiento de estas patologías.

En esta investigación evalué el efecto antibacteriano *in vitro* de extractos etanólicos de seis especies de plantas de uso medicinal con actividad antimicrobiana comprobada en medicina humana, sobre cepas bacterianas aisladas a partir de casos clínicos de patologías respiratorias en cerdos, para determinar su actividad contra las bacterias en estudio y de ser efectivos, determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM), con el fin de brindar alternativas fitoterapéuticas eficaces para el tratamiento de éstas enfermedades en porcinos.

II. HIPÓTESIS

Ho: No existe actividad antibacteriana de las diferentes plantas de uso medicinal a evaluar, sobre las cepas bacterianas causantes de patologías respiratorias en porcinos.

III. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

- 3.1.1 Generar información científica, que respalde la fitoterapia como alternativa terapéutica de enfermedades respiratorias de origen bacteriano en porcinos.

3.2 Objetivos Específicos

- 3.2.1 Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de seis especies de plantas de uso medicinal en humanos (*Eucalyptus globulus*, *Lippia graveolens*, *Tagetes lucida*, *Pinus oocarpa*, *Byrsonima crassifolia* y *Physalis philadelphica*) contra bacterias aisladas a partir de cerdos con patologías respiratorias.
- 3.2.2 Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los extractos de las plantas que presenten actividad contra las bacterias estudiadas.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 *Tagetes lucida* Cav.

4.1.1 Familia: **Asteraceae/Compositae**

4.1.2 Nombres comunes:

Pericón, l'yá, Jolomocox, Uca (Cáceres, 1996)

4.1.3 Hábitat:

Esta planta es nativa de México a Honduras en bosques de encino y laderas de 1,000 a 2,000 msnm. Es abundante en la época de lluvia, desaparece en época seca. En Guatemala se ha descrito en Chimaltenango, Quiché, Jalapa, Guatemala, Huehuetenango, Petén, Quetzaltenango, Sacatepéquez y San Marcos (Nash y Dieterle, 1976).

4.1.4 Etnobotánica:

La infusión de flores y hojas se usa por vía oral para aliviar el parto, tratar anemia, inflamación de los ojos, afecciones nerviosas, gastrointestinales (cólico, disentería, flatulencia, indigestión, náusea, parasitismo intestinal, vómitos) y respiratorias, dolor menstrual, hepatitis, paludismo, reumatismo, retención urinaria, tumores y úlceras. El humo de las hojas y flores se utiliza para ahuyentar mosquitos (Cáceres, 2006).

Se le atribuye propiedad antiinflamatoria, antioxidante, antiséptica, aromática, carminativa, digestiva, diurética, emenagoga, espasmolítica y galactogoga (Cáceres, 2006).

4.1.5 Farmacología

Cáceres *et al.* (1990) evaluaron el uso de plantas para el tratamiento de enfermedades respiratorias provocadas por bacterias Gram positivo, y encontró

actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Hernández *et al.* (2006) evaluaron la actividad antimicrobiana del extracto etil acetato de *T. lucida*, mostrando actividad contra *Shigella boydii*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Sarcina lutea* y cuatro cepas de *Vibrio cholerae*.

La tintura de hojas y flores es activa contra *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *S. flexneri*, *Salmonella typhi*, *S. pyogenes*, *Candida albicans* y *Neisseria gonorrhoeae* (Cáceres, 1996). El extracto acuoso es activo contra las bacterias anteriores y contra *Salmonella enteritidis* y *Streptococcus pneumoniae*. El extracto alcohólico es activo contra el 60% de cepas de *P. aeruginosa* y 15% de cepas de *S. typhi*. La tintura es activa contra *S. aureus* (CIM 15 mg/mL), *Candida albicans* (35 mg/mL), *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. stellatoidea* (CIM 1-2 mg/mL), *S. flexneri* (50 mg/mL). El extracto n-hexánico inhibe *V. cholerae* (CIM 10 mg/mL). Las hojas tienen actividad nematocida (Cáceres, 2006).

Clínicamente, una pomada a base de la tintura redujo el tiempo que tarda en sanar la queratoconjuntivitis experimental en cobayo por *S. dysenteriae* (Valle, 1989). El extracto etanólico de las hojas es depresivo del sistema nervioso central e hipotensor, pero no es anorexígeno, teratogénico, diurético ni antiinflamatorio (Cáceres, 2006). Varios extractos son espasmolíticos en ileon de ratas; la infusión tiene una DE₅₀ en ratón de 500 mg/mL, y 20 g/kg *in vivo* (Salguero, 1989). Resultados similares se obtuvieron en un modelo en músculo liso de yeyuno de conejo (López *et al.*, 1990) y actividad anticolinérgica en músculo esquelético y cardíaco de rata (Cortés *et al.*, 1990). El extracto acuoso de hojas no tiene actividad antiinflamatoria (Jiu, 1966). Experimentalmente en conejos el extracto acuoso produce broncodilatación, disminuye levemente la presión transpulmonar, aumenta la adaptabilidad dinámica, produce leve taquicardia, caída de presión venosa central, leve taquipnea, incremento del flujo aéreo traqueal, pero no en forma dosis-dependiente (Cambar *et al.*, 1984). La decocción de hojas tiene cierta actividad

inmunomoduladora en ratones, medida por aumento en la población de linfocitos y en los títulos de anticuerpos séricos (Lara *et al.*, 1991).

4. 1.6 Fitoquímica

Las hojas y flores contienen: aceite esencial (β -cariofileno 28%, limoneno 16.5%, β -ocimeno 14%) mirceno, acetol, alilanol, esdragol, metieugenol, linalool (Guzmán, 1987), alcaloides cuaternarios, flavonoides, saponinas, taninos, leucoantocianinas, ácido gálico, poliacetilenos, glicósidos cianogénicos, cumarinas, derivados de tiofeno, alfatertienilo (Glasby, 1991), goma, dextrina, grasas, pectina, tres resinas acídicas y sales minerales (Morton, 1981).

4.1.7 Principios activos

La actividad antibacteriana se atribuye a α -tirtienilo y a la herniarina (Budavari, 1989).

4.2 *Eucalyptus globulus* Labill

4.2.1 Familia: **Myrtaceae**

4.2.2 Nombres comunes:

Eucalipto, Gomero azul de Tasmania (White, 1985).

4.2.3 Hábitat:

Nativo de Australia y Tasmania, en América se cultiva en climas tropicales, subtropicales y templados desde California hasta Argentina. Es uno de los árboles más comunes en el Ecuador, habiendo sido introducido hace unos 70 años debido al valor comercial de la madera. En Guatemala se cultiva en clima templado de 1,500 a 2,700 msnm (Stanley, 1961).

4.2.4 Etnobotánica:

El cocimiento, infusión e inhalación de hojas se usa para tratar enfermedades respiratorias (asma, amigdalitis, bronquitis, faringitis, gripe, influenza, laringitis,

resfrío, tos, tuberculosis) y digestivas (diarrea, dispepsia), artritis, cistitis, diabetes, fiebre, estomatitis, malaria y reumatismo. Tópicamente se aplica a heridas, lepra, leucorrea, llagas, pústulas, quemaduras, úlceras, vaginitis, fibromas, tumores (Cáceres, 1996), escarlatina, tifoidea y piorrea (White, 1985).

Se le atribuye propiedad aromática, anestésica, antiséptica, depurativa, digestiva, espasmolítica, estimulante, expectorante, febrífuga, hipoglicémica, insecticida, rubefaciente, vermífuga (Cáceres, 1996) y desodorante (White, 1985).

4.2.5 Farmacología:

La tintura de hojas es activa contra *C. albicans*, *E. coli*, *S. aureus* y *S. pyogenes* (Cáceres *et al.*, 1991 a). La cocción de hojas no tiene actividad antidermatofítica, el aceite esencial es activo contra *E. coli*, *S. aureus* y tiene actividad contra áfidos y mosquitos (Grainge y Ahmed, 1988).

Estudios *in vivo* demuestran que tiene actividad diurética en ratas (Cáceres, 1987), la esencia por vía oral a dosis de 1g / kg tiene efecto relajante muscular, actividad anticonvulsiva, hipolipémica e hipotensiva en animales (Rubineau, 1991).

4.2.6 Fitoquímica:

Las hojas contienen aceite volátil (1-3%), ácidos elágico y gálico, tanino, principio amargo, cera y resinas. El aceite tiene (cíneol 70-90%, α -pineno 24%, aromadendreno 1%), borneol, camfeno, cariofileno, citral, eudesmol, felandreno, fenchona, mirceno, sabineno, terpineol, timol, sesquiterpénicos, aldehidos (valeriánico, butílico, caprónico), alcoholes (etílico, amílico, isoamílico), α - y β -tujona, verbenona, fenoles y terpenos (Cáceres, 1996).

4.2.7 Principios activos:

La acción antibacteriana se atribuye a cíneol y citriodorol (Martínez, 1992).

4.3 *Lippia graveolens* HBK

4.3.1 Familia: **Verbenaceae**

4.3.2 Nombres comunes:

Orégano, Mejorana, Orégano de monte (Cáceres, 1996).

4.3.3 Hábitat:

Es nativa del sur de Texas a Nicaragua, se encuentra en bosques secos y montes espinosos subtropicales, en pendientes pedregosas muy secas, matorrales húmedos o secos hasta 350 msnm. En Guatemala se ha descrito en el Progreso, Petén y Zacapa (Ronquillo *et al.*, 1988).

4.3.4 Etnobotánica

La decocción o infusión de hojas se usa para tratar anemia, afecciones gastrointestinales (amebiasis, cólico, diarrea, disentería, dispepsia, estreñimiento, indigestión) y respiratorias (asma, bronquitis, catarro, influenza, laringitis, pleuresía, resfrío, tos, tosferina, tuberculosis), hidropesía, ictericia, amenorrea, dismenorrea y reumatismo. Tópicamente la decocción se aplica para la cicatrización de heridas, llagas e inflamaciones de la garganta; en baños se usa para fortalecer niños debilitados, combatir la gripe y aliviar el prurito y la sarna; en cataplasma para madurar abscesos, calmar neuralgias y aliviar induraciones, cáncer y tumores; en fricciones y baños se usa como calmante; la planta fresca macerada en aceite se aplica en dolores reumáticos y la maceración alcohólica se utiliza contra los ataques (Cáceres, 1996).

Se le atribuye propiedad antioxidante, antiséptica, aromática, calmante, carminativa, cicatrizante, desinflamante, diaforética, digestiva, diurética, amenagoga, espasmolítica, estimulante, estomáquica, expectorante, pectoral, sudorífica y tónica (Cáceres, 1996).

4.3.5 Farmacología

La infusión y la tintura de hojas son activas contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. typhi*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* pero inactiva contra *Haemophilus influenzae*. Los extractos con diclorometano y etanol son activos contra *C. albicans*, *Aspergillus flavus*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum* y *Trichophyton rubrum*, pero inactivos contra *Cryptococcus neoformans* (Mendoza, 1995).

4.3.6 Fitoquímica

Las hojas contienen aceite esencial (carvacrol 37.84%, α -terpinil acetato 22.35%, m-cimeno 20.42%, timol 6.72%, β -pineno 2.54%, isocariofileno 2.18%, humuleno 1.24%, α -tujeno 1.03% y linalool 0.26%) (Hernández *et al.*, 2009), celulosa, pigmento y elementos minerales; la corteza y raíz contienen glucósidos saponínicos, aceite esencial y taninos; hojas contienen flavononas y lapachenol (Domínguez *et al.*, 1989).

4.3.7 Principios activos

En la industria farmacéutica el carvacrol tiene uso como desinfectante, antiféccioso y antihelmíntico (Budavari, 1989).

4.4 *Pinus oocarpa* Schiede

4.4.1 Familia: **Pinaceae**

4.4.2 Nombres comunes:

Ocote, Pino. (Loarca *et al.*, 2004).

4.4.3 Hábitat:

Se encuentra desde la Sierra Madre, en el noroeste de México hasta las tierras altas del noroeste de Nicaragua. En Guatemala crece en altitudes de 1,600 hasta 2,400 msnm, con una capacidad notable de crecer en terrenos muy delgados

de zonas semiáridas, tales como los valles que corren de este a oeste en el sur del departamento de Huehuetenango (FAO, 1968)

4.4.4 Etnobotánica:

Por vía oral se le atribuye propiedad antiséptica, expectorante, balsámica y descongestionante de las vías respiratorias. Se administra tópicamente para tratar afecciones de la piel (eccema), reumatismo y dolores musculares, así como para promover la curación de fracturas. La resina se aplica tópicamente en la curación de fracturas y lesiones dérmicas, además de utilizarse para desinfectar el ambiente, aplicado al piso o por el humo que genera al ser quemado (Loarca *et al.*, 2004).

4.4.5 Farmacología:

No se cuenta con estudios experimentales que demuestren actividad farmacológica de esta planta. (Cáceres, A. 2008. (Entrevista personal). Guatemala, Universidad de San Carlos)

4.4.6 Fitoquímica:

Contiene resina (ácidos diterpénicos) y aceite esencial (monoterpenos) (Loarca *et al.*, 2004).

4.4.7 Principios activos

Aceites esenciales: pineno, canfeno, limoneno, felandreno y acetato de borneol (Loarca *et al.*, 2004).

4.5 *Byrsonima crassifolia* HBK

4.5.1 Familia: **Malpighiaceae**

4.5.2 Nombres comunes:

Nance, Nanchi, Nananche, Changungo, Nantzinxócotl, Nance agrio (Martínez, 1969), Chi, Crabóo, Nanche, Nanzin, Tapal, Zacpah (Cáceres, 1996).

4.5.3 Hábitat:

Nativo de México a Sur América y Caribe en bosques secos y tropicales hasta 1,800 msnm (Cáceres, 1996). Crece en lugares cálidos y templados, frecuentemente en terrenos pedregosos y arenosos, resiste bien la sequía (Martínez, 1969). En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chiquimula, El Progreso, Quiché, Escuintla, Huehuetenango, Izabal, Jalapa, Jutiapa, Petén, Quetzaltenango, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa (Cáceres, 1996).

4.5.4 Etnobotánica:

El cocimiento de corteza y flores se administra vía oral para tratar afecciones respiratorias (amigdalitis, asma, bronquitis, fiebre, tos), digestivas (cólico, diarrea, disentería, estreñimiento, indigestión), dolor de muelas, hemorragias, mordedura de serpiente, parásitos, favorece el parto y expulsión de placenta. El fruto se usa para tratar fiebres y las semillas para la disentería (Cáceres, 1996).

Por vía tópica, la corteza se usa para afecciones dermatomucosas como estomatitis, leucorrea, pioderma, tiña, úlcera y vaginitis, tumores y apretar los dientes. Se le atribuye propiedad acaricida, antifúngica, antineurálgica, antitusiva, astringente, cicatrizante, desinflamante, digestiva, emenágoga, febrífuga, galactogoga y tónica (Cáceres, 1996).

4.5.5 Farmacología:

El extracto acuoso de hojas, corteza y raíz es activo contra *E. coli* y *S. aureus* (PLANTER, 1989). La tintura de corteza es activa contra *S. flexneri*, *S. typhi*, *V. cholerae* (Cáceres et al., 1990), *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* (Cáceres et al., 1991a), *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. stellatoidea* (Cáceres et al., 1991b). La decocción de corteza tiene actividad fungistática contra *E. floccosum*, *M. canis*, *M. gypseum*, *T. mentagrophytes* y *T. rubrum* (Cáceres et al., 1991).

Las hojas y corteza tienen efecto espasmogénico dosis dependiente en fundus de rata y efecto bifásico en yeyuno e ileon de rata (Amarquaye *et al.*, 1994). Se demostró que la corteza es la más activa contra bacterias y el etanol el mejor disolvente por bioactividad y rendimiento (6.8%); las bacterias más sensibles fueron *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. flexneri* y *S. pyogenes*. En la confirmación antifúngica, tanto la corteza como los frutos fueron activos contra dermatofitos patógenos (López, 1992).

En un estudio clínico de tres grupos de personas con lesiones confirmadas de candidiasis oral, se demostró mejoría y negativización del examen microscópico en 70% de los tratados con extracto etanólico de corteza, 90% de los tratados con un enjuague a base de tintura de corteza y un 83% de tratados con clotrimazol (Geiß *et al.*, 1994).

4.5.6 Fitoquímica:

La corteza contiene taninos (20–30 %), ácido oxálico (2.7 %), glucósidos (Morton, 1981), flavonoides, saponinas, sesquiterpenlactonas y triptenos (Cáceres y Samayoa, 1989). El tamizaje fitoquímico de hojas indica saponinas, esteroides insaturados, cardenólidos, bufadienólicos, flavonoides, leucoantocianinas, taninos, polifenoles (Pinto, 1980), terpenos (ácido botulínico, lupeol, ácido oleanólico y ursenaldehído), esteroides, flavonoides, éster aromático, aminoácidos y un sulfonoglicolípido (Bejar, 1995). La raíz contiene flavonoides, glicósidos cardiotónicos, sesquiterpenlactonas, taninos y triptenos (PLANTER, 1989).

4.5.7 Principios activos:

Se demostró que los principios antifúngicos son taninos condensados del grupo de los polifenoles, proantocianidina B2 y su galato (Martínez, 1992). Las proantocianidinas de la corteza tienen actividad nematocida y antiinflamatoria (Geiß *et al.*, 1994).

4.6 *Physalis philadelphica* Lam.

4.6.1 Familia: **Solanaceae**

4.6.2 Nombres comunes:

Miltomate, Huevito, Tomatillo (Cáceres, 1996)

4.6.3 Hábitat:

Es nativa de Mesoamérica, se ha aclimatado en el Caribe, en campos cultivados y bosques de pino – encino arriba de los 1,830 msnm. En Guatemala se ha descrito en Alta Verapaz, Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Escuintla, Guatemala, Izabal, Huehuetenango, Jalapa, Jutiapa, Quiche, Sacatepéquez y Sololá (Gentry & Standley, 1974).

4.6.4 Etnobotánica:

La infusión de cáliz del fruto se usa por vía oral para el tratamiento de afecciones respiratorias (amigdalitis, bronquitis, gripe, pulmonía, resfrío, ronquera, tos, tos ferina) (IIN, 1978) y digestivas (dolor de estomago, cólera, diarrea, disentería) (Mendieta y del Amo, 1981), diabetes, dolor de muelas, hepatitis, paperas y tumores. (Morton, 1981); el gargarismo se usa para tratar amigdalitis, el jugo del fruto para tumores de los testículos, la infusión de flores para tratar disentería (IIN, 1978).

Tópicamente la decocción de hojas se aplica para tratar dolor de oídos, pústulas, inflamación de los testículos, enfermedades venéreas (Mendieta y del Amo, 1981) y para contener el sangrado del cordón umbilical (Arnason et al., 1980).

Se le atribuye propiedad antiemética, antiséptica, desinflamante, diurética, emoliente, espasmolítica, febrífuga, laxante y odontálgico (Morton, 1981).

4.6.5 Farmacología:

El extracto alcohólico de cinco órganos de la planta (cáliz, flor, fruto, hoja y raíz) es activo contra *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* y *H. influenzae* (Recinos, 1991). Se estudio la actividad vibriocida de la tintura del cáliz del fruto, encontrándose que no posee actividad inhibitoria *in vitro* sobre cepas de *V. cholerae* (Cáceres *et al.*, 1993).

Estudios farmacológicos demuestran que la infusión de hojas no tiene actividad diurética en ratas a dosis de 750 y 1,000 mg/Kg (Puac, 1993).

4.6.6 Fitotoquímica:

No se conoce su composición fitoquímica (Recinos, 1991).

4.7 Enfermedades Respiratorias en el Ganado Porcino:

Los procesos respiratorios porcinos raramente son causados por un solo agente o microorganismo, siendo el resultado de la acción conjunta de distintos patógenos tanto primarios como secundarios, que en conjunto, sumados a los factores ambientales y a las malas prácticas de manejo de la explotación, desencadenan la enfermedad (Martínez, 2007).

Actualmente se utiliza el término Complejo Respiratorio Porcino para describir la enfermedad multifactorial caracterizada por un retardo en el crecimiento y un cuadro clínico respiratorio con presentación de anorexia, fiebre, tos y neumonía (Martínez, 2007).

4.7.1 Agente etiológico:

Numerosos agentes patógenos, tanto bacterianos como víricos, han sido aislados de casos clínicos, entre los cuales destacan:

4.7.1.1 Agentes bacterianos primarios:

Mycoplasma hyopneumoniae (causante de la neumonía enzootica) y *Actinobacillus pleuropneumoniae* (causante de la pleuroneumonía contagiosa porcina) (Dannenberg *et al.*, 1968).

4.7.1.2 Agentes bacterianos secundarios:

Pasteurella multocida, *Bordetella bronchiseptica* (agentes causales de la rinitis atrófica), *A. pleuropneumoniae* (causante de la pleuroneumonía contagiosa porcina), *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis*, *S. aureus* y *Haemophilus parasuis* (agentes causales de la neumonía bacteriana) (Dannenberg *et al.*, 1968).

A diferencia de estos virus, los agentes bacterianos son oportunistas que crecen tras la infección o acción patógena de los estos agravando el cuadro clínico (Martínez, 2007).

4.7.2 Tratamiento convencional:

Se recomienda instaurar el tratamiento desde el inicio de la enfermedad, además de administrarlo de forma parenteral ya que los cerdos enfermos comen y beben muy poco o nada. Es importante identificar a los individuos tratados para observar si se recuperan o presentan resistencia bacteriana al producto utilizado (Gottschalk, 1993). Independientemente de la utilidad del antibiograma como ayuda para la elección del antibiótico a utilizar, a base de experiencia clínica y epidemiológico se utilizan con mayor frecuencia, la penicilina G, trimethoprim-sulfadoxina, sulfamerazina, oxitetraciclina, tiamulina y enrofloxacina (Dunne *et al.*, 1967).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de trabajo:

- Laboratorio de Bioensayos, Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas (FCCQQ) y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC).
- Laboratorio de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), USAC.

5.2 Recursos Humanos:

- Estudiante tesista
- Asesores
- Colaboradores: Licda. Isabel Gaitán de la Unidad de Bioensayos de la FCCQQ y Farmacia, USAC; Dres. Karen Calderón y Ernesto Mejicano Asesores del Centro de Investigación Etnoveterinaria y Terapias Alternativas (CIETA) y personal de los laboratorios donde se realizó la fase experimental.

5.3 Recursos Biológicos:

- Cepas aisladas a partir de hisopados nasales y lavados traqueo bronquiales de cerdos vivos con signos de patologías respiratorias: *B. bronchiseptica* aislada en el departamento de Jutiapa, *S. aureus* (cepa 1, resistente a cefalexina) aislada en Santo Domingo Xenacoj, Chimaltenango y *S. aureus* (cepa 2, sensible a cefalexina) aislada en San José Pinula, Guatemala.
- Cepas proporcionadas por el Laboratorio de Microbiología FMVZ, USAC: *P. multocida* y *Arcanobacterium pyogenes*.
- Cepa colectada en Central de Carnes S.A. (CECARSA) aislada de tejido pulmonar durante necropsias de cerdos con lesiones broncopulmonares: *Streptococcus* sp.
- Extractos etanólicos de las plantas seleccionadas (Tabla 1).

Tabla 1. Plantas utilizadas en el estudio

Nombre científico	Nombre común	Materia médica	No. De herbario	Procedencia
<i>Lippia graveolens</i> HBK	Orégano	Hojas	1083 FARMAYA	Samayac, Suchitepequez
<i>Pinus oocarpa</i> Schiede.	Ocote	Corteza	59100 BIGU	Ciudad de Guatemala, Guatemala
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Eucalipto	Hojas	265 FARMAYA	Livingston, Izabal
<i>Tagetes lucida</i> Cav.	Pericón	Hojas	1127 FARMAYA	San Cristóbal, Totonicapán.
<i>Byrsonima crassifolia</i> HBK	Nance	Corteza	1115 FARMAYA	Samayac, Suchitepequez
<i>Physalis philadelphica</i> Lam.	Miltomate	Hojas	59099 BIGU	Santo Domingo Xenacoj, Sacatepequez

5.4 Materiales y equipo:

5.4.1 Materiales

- Algodón
- Asa de nicromo
- Cajas de Petri simples y cuadrilate
- Guantes de látex
- Hisopos estériles para toma de muestra
- Mechero
- Papel filtro
- Papel parafilm
- Pipetas automáticas
- Plantilla para siembra
- Puntas amarillas de 200 µL

- Puntas azules 1000 μ L
- Tijeras y pinzas para toma de muestra

5.4.2 Reactivos

- Medios de cultivo: Agar y Caldo tripticasa soya, Agar Müller Hinton, Agar Sangre, Agar Mac Conckey.
- Disolventes: Agua desmineralizada, etanol al 50% y 70%
- Solución salina isotónica (0.85%)

5.4.3 Equipo

- Agitador
- Autoclave
- Balanza analítica
- Campanas bacteriológicas con flujo laminar
- Equipo de percolación de acero inoxidable
- Equipo de rotavapor
- Incubadoras a y 37°C.
- Refrigeradora a 5°C

5.4.5 Cristalería

- Balón de 1000 mL
- Vasos de precipitar
- Erlenmeyers
- Tubos con tapón de rosca de 15 mL
- Tubos de ensayo sin anticoagulante estériles para toma de muestra
- Viales

5.5 Métodos:

5.5.1 Obtención y selección de las cepas

Colecté muestras a partir de cerdos vivos por medio de lavados tranqueobronquiales e hisopados nasales en la Granja Experimental, FMVZ; Aldea El Tule, Jutiapa; Granja El Bosque, San José Pinula y Granja Pinares, Chimaltenango. Colecté muestras de tejido pulmonar a partir de necropsias en el rastro CECARSA y en el laboratorio de Patología, FMVZ. Los métodos de colecta fueron elegidos en base a la localización anatómica de los patógenos en sitios de lesión reportados en la literatura.

Realicé el aislamiento e identificación de las cepas en el Laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia durante el año 2008.

Seleccioné las cepas a utilizar en base a dos criterios:

- Incidencia: Seleccioné las cepas con mayor predominio en los diferentes aislamientos de patologías respiratorias, conservadas en el laboratorio de Microbiología FMVZ, USAC.
- Resistencia antimicrobiana: Para las bacterias *S. aureus* y *Streptococcus* sp., seleccioné las cepas más resistentes contra fármacos antibacterianos, entre varias cepas aisladas, en base a pruebas de sensibilidad antimicrobiana o el costo en que se incurre para un tratamiento (Tabla 2).

Tabla 2. Susceptibilidad a fármacos antimicrobianos

Cepas Bacterianas	Fármacos antimicrobianos utilizados					
	Penicilina	Amoxicilina	Amoxicilina/Ácido Clavulánico	Cefalexina	Enrofloxacina	Gentamicina
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	R	MS	S	S	S	S
<i>Pasteurella multocida</i>	R	MS	S	S	MS	R
<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 1)	R	R	MS	R	S	MS
<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 2)	R	R	S	S	S	S
<i>Streptococcus</i> sp.	R	R	R	S	R	S
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	S	S	S	S	MS	MS

R= resistente

S = sensible

MS= medianamente sensible

Fuente: Datos experimentales

5.5.2 Selección de las plantas

Utilicé los siguientes criterios de selección:

- Actividad antimicrobiana comprobada en géneros bacterianos similares aislados de material patógeno humano.
- Ausencia de estudios previos acerca de la utilización de extractos de las plantas a evaluar sobre cultivos de las bacterias incluidas en el estudio.
- Utilización en la fitoterapia tradicional de patologías respiratorias en humanos.

5.5.3 Obtención de los extractos

Los extractos etanólicos de *L. graveolens*, *T. lucida* y *B. crassifolia* me fueron proporcionados por el Departamento de Citohistología, FCCQQ y Farmacia, USAC.

Produje los extractos etanólicos de *E. globulus*, *P. philadelphica* y *P. oocarpa* en el Laboratorio de Bioensayos de dicho departamento. Obtuve el material vegetal a partir de crecimiento silvestre (*P. philadelphica* y *P. oocarpa*) y comercial en el Laboratorio FARMAYA S.A. (*E. globulus*).

Sequé el material vegetal, lo molí y lo coloqué en el percolador para realizar la extracción etanólica por percolación siguiendo los criterios descritos por Kuklinski (2000) y Sharapin (2000). Concentré el extracto en el rotavapor y luego en desecadora según el procedimiento descrito por Sharapin (2000).

5.5.4 Tamizaje de la actividad antibacteriana *in vitro* y Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

Determiné la actividad antibacteriana por el método de dilución de Mitscher *et al.* (1972) en el Departamento de Citohistología de la FCCQQ y Farmacia, USAC. Prepararé el Agar-Planta, agregando 1 mL de la solución del extracto disuelto a una concentración de 10 mg/mL, en tubos con 9 mL de agar Muller Hinton, previamente esterilizados y enfriados a 50°C, para obtener una concentración final de 1 mg/mL. Agité y vertí la dilución en cajas de Petri estériles, dejando solidificar e incubando durante 24 horas a 37°C para comprobar esterilidad.

Purifiqué los microorganismos a estudiar inoculándolos en placas con 20 mL de agar Tripticasa Soya incubando a 37°C durante 24 horas. Inoculé una asada del cultivo puro bacteriano en un tubo con 5 mL de caldo tripticasa soya e incubé a 37°C durante 48 horas. Diluí 0.05 ml de la suspensión anterior en 4.95 ml de solución salina estéril (dilución 1:100) para sembrar en caja de Petri.

Para la demostración de la actividad antibacteriana inoculé en las cajas con Agar-Planta una asada de la dilución de cada uno de los microorganismos en posiciones asignadas al azar en una disposición radial, realizando cinco repeticiones por microorganismo. Dejé reposar durante 5-10 minutos e incubé a 37°C durante 24 horas.

Determiné la relación dosis-efecto para validar el método y determinar la concentración eficaz de antimicrobiano a utilizar como control positivo. Utilicé como base a la concentración estándar utilizada para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, realizando diluciones a un Log_{10} mayor y a otro menor. Utilicé amoxicilina+clavulanato a una concentración base de 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y enrofloxacin a una concentración base de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ como control positivo. Utilicé como control negativo 9 mL de agar Muller Hinton mezclado con 1 mL de etanol al 50%.

Interpreté los resultados considerando como actividad negativa del extracto, cuando existió un crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo y como actividad positiva cuando no se presentó crecimiento homogéneo a lo largo del inóculo, o como contaminación cuando se presentó el crecimiento bacteriano fuera del área de inoculación.

Determiné la CIM de los extractos con actividad positiva. Para esto utilicé cajas cuadruplicate con agar planta en diluciones de 1 mg/mL, 0.5 mg/mL y 0.25 mg/mL. Inoculé tres estrías en cada uno de los cuadrantes de la caja, dejé reposar por 10 minutos e incubé a 37°C durante 24 horas para luego leer los resultados e interpretados de la forma anteriormente descrita. Para los extractos con actividad positiva a 0.25 mg/mL realicé diluciones a 0.125, 0.0625 y 0.03125 mg/mL.

5.6 Análisis estadístico

Realicé un estudio no probabilístico a conveniencia, utilizando estadística no paramétrica. Realicé el análisis estadístico por medio de la prueba de hipótesis de una variable binomial con un nivel alfa de 0.05.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Determinación de la relación dosis-efecto de antibióticos utilizados en el control positivo

Utilicé los antibióticos amoxicilina+clavulanato y enrofloxacinina preparándolos a tres concentraciones diferentes con un Log_{10} de diferencia con el propósito de determinar una relación dosis-efecto que definiera la concentración a la cual los antibióticos son efectivos *in vitro* contra las bacterias incluidas en el estudio y así validar el método además de determinar la concentración efectiva para su utilización como control positivo en el estudio.

Utilicé estos fármacos antibacterianos debido a su amplio uso clínico en el medio y por su espectro evaluado en antibiogramas realizados a cada una de las cepas estudiadas. Utilicé la amoxicilina+clavulanato a una concentración base de 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ la cual es la concentración utilizada comercialmente en los discos para pruebas de sensibilidad microbiana; preparé en concentraciones a un Log_{10} mayor (300 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y a uno menor (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (Tabla 3).

Tabla 3. Determinación de la relación dosis-efecto de amoxicilina/clavulanato 3, 30 y 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Antibiótico y concentración	Microorganismos					
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 2)	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>
Amoxicilina-clavulanato 3 μg	-	+	+	+	+	+
Amoxicilina-clavulanato 30 μg	-	+	+	+	+	+
Amoxicilina-clavulanato 300 μg	+	+	+	+	+	+

(+) = Actividad positiva, No hay crecimiento
 (-) = Actividad negativa, Si hay crecimiento

Fuente: Datos experimentales

La amoxicilina+clavulanato a las concentraciones de 3 y 30 $\mu\text{g/mL}$ es activo contra todas las cepas en estudio con excepción de la *B. bronchiseptica*, mientras que a la concentración de 300 $\mu\text{g/mL}$ mostró actividad positiva contra todas las cepas incluidas en el estudio.

Utilicé la enrofloxacin a una concentración base de 5 $\mu\text{g/mL}$ la cual es la concentración utilizada comercialmente en los discos para pruebas de sensibilidad microbiana; preparé en concentraciones a un Log10 mayor (50 $\mu\text{g/mL}$) y a uno menor (0.5 $\mu\text{g/mL}$) (Tabla 4).

Tabla 4. Determinación de la relación dosis-efecto de enrofloxacin 0.5, 5 y 50 $\mu\text{g/mL}$

Antibiótico y concentración	Microorganismos					
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 2)	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>
Enrofloxacin 0.5 μg	+	+	+	+	+	+
Enrofloxacin 5 μg	+	+	+	+	+	+
Enrofloxacin 50 μg	+	+	+	+	+	+

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva
 (-) = Si hay crecimiento o actividad negativa
 Fuente: Datos experimentales

La enrofloxacin mostró actividad en todas las concentraciones evaluadas contra todas las cepas en estudio.

Los controles positivos más adecuados fueron amoxicilina-clavulanato a la concentración de 300 $\mu\text{g/mL}$, y enrofloxacin a la concentración de 0.5 $\mu\text{g/mL}$ contra todas las bacterias en estudio. La importancia de estos resultados es su utilización como referencia, para implementarlos como controles positivos en estudios posteriores que involucren patógenos similares.

6.2 Fase de tamizaje y determinación de la CIM

Determiné la actividad de cada uno de los extractos obtenidos contra bacterias Gram positivo (*S. aureus*, *Streptococcus* sp., y *A. pyogenes*) y bacterias Gram negativo (*P. multocida* y *B. bronchiseptica*). Durante la fase de tamizaje, se mostró la actividad antibacteriana de todas las especies de plantas (Tabla 5). Realicé la determinación de la CIM de todos los extractos que presentaron actividad en la fase de tamizaje (Tabla 6).

Tabla 5. Actividad antibacteriana de las plantas en estudio en la fase de tamizaje (1 mg/mL)

Planta	Microorganismos					
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 2)	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>
<i>Eucalyptus globulus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Physalis philadelphica</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Tagetes lucida</i>	+	+	+	+	-	+
<i>Pinus oocarpa</i>	-	+	-	+	+	-
<i>Lippia graveolens</i>	+	+	+	+	-	-
<i>Brysonimia crassifolia</i>	+	+	+	+	-	+

(+) = Actividad positiva, no hay crecimiento

(-) = Actividad negativa, si hay crecimiento

Fuente: Datos experimentales

Tabla 6. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima de la actividad antibacteriana de las plantas en estudio ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

Planta	Microorganismos					
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 2)	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>
<i>Eucalyptus globulus</i>	500	62.5	1,000	31.25	62.5	125
<i>Physalis philadelphica</i>	-	1,000	-	-	-	-
<i>Tagetes lucida</i>	500	125	500	1,000	-	250
<i>Pinus oocarpa</i>	-	250	-	1,000	250	-
<i>Lippia graveolens</i>	500	125	500	500	-	-
<i>Brysonimia crassifolia</i>	500	31.25	125	500	-	1,000

Fuente: Datos experimentales

El extracto etanólico de *E. globulus* presentó actividad contra todas las cepas a las que fue enfrentado, tanto bacterias Gram positivo como Gram negativo, teniendo el menor valor de CIM contra *Streptococcus* sp. (CIM 62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y *S. aureus* cepa 2 (CIM 31.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Además fue activo contra *S. aureus* cepa 1 (CIM 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$), *B. bronchiseptica* (CIM 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$), *A. pyogenes* (CIM 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y *P. multocida* (CIM 62.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Esta actividad, según Martínez (1992), se atribuye al cíneol y citriodorol, que alteran la permeabilidad de la membrana plasmática, produciendo escape de iones y muerte bacteriana (Khan *et al.*, 2009). Los resultados obtenidos respaldan lo reportado por Cáceres *et al.* (1991a) respecto a la actividad del extracto etanólico de hojas contra *S. aureus* y *S. pyogenes*, así como lo reportado por Bachir y Benali (2008) respecto a la actividad contra bacterias Gram positivo y Gram negativo. Obrazhei *et al.* (2008) evaluó la actividad antibacteriana de cuatro aceites esenciales

incluyendo eucalipto, contra bacterias causantes de patologías respiratorias de cerdos; reportando eficacia *in vitro* e *in vivo*, al reducir la morbilidad porcina en 2.8 veces mediante la aspersión en aerosol. Dicho estudio respalda el uso de *E. globulus* como una alternativa natural en el tratamiento y profilaxis de infecciones respiratorias en cerdos.

Debido al amplio espectro de actividad, y a los valores de CIM obtenidos contra *Streptococcus* sp. (62.5µg/mL), la bacteria más aislada y resistente a las plantas del estudio; su actividad expectorante (Cáceres, 1996) y su aplicación clínica comprobada (Obrazhei *et al.*, 2008); *E. globulus* es la opción fitoterapéutica incluida en este estudio, más recomendable para el tratamiento de patologías respiratorias bacterianas en cerdos.

El extracto etanólico de *T. lucida* posee actividad contra la cepa 2 de *S. aureus* (CIM 1,000 µg/mL), *B. bronchiseptica* y cepa 1 de *S. aureus* (CIM 500 µg/mL), *A. pyogenes* (CIM 250µg/ mL) y *P. multocida* (CIM 125 µg/mL). No mostró actividad contra *Streptococcus* sp.

Los datos obtenidos difieren de lo reportado por Cáceres (1996) con respecto a la actividad de la tintura de hojas contra *S. pyogenes* y el extracto acuoso contra *S. pneumoniae* y concuerda con lo comprobado por Hernández *et al.* (2006) respecto a la actividad positiva contra *S. aureus*. El compuesto responsable de esta actividad es la 5,7,40-Trimethoxyflavona la cual inhibe la síntesis del material genético de la bacteria (Hernández *et al.*, 2006). Aquino *et al.* (2002) demostró la actividad antioxidante *in vitro* del extracto metanólico de las hojas de *T. lucida*, siendo significativa en comparación con los controles (α -tocoferol y flavonoles conocidos). El uso de antioxidantes en porcinos ha demostrado un incremento en la respuesta de células fagocíticas a las infecciones bacterianas (Oldfield, 2003) así como en la producción de inmunoglobulinas (IgA, IgM e IgG) (Hayek *et al.*, 1989); todo esto contribuye con la resolución de la patología de origen bacteriano, incluyendo el estrés oxidativo de los tejidos, debido a procesos inflamatorios (Helmunt, 1985).

Además de la actividad antibacteriana y antioxidante demostrada, *T. lucida* puede ser considerada como una buena alternativa fitoterapéutica, debido al efecto broncodilatador reportado por Cambar (1984) y la actividad inmuno moduladora demostrada por Lara *et al.* (1991), útiles en la terapia sintomática de las patologías respiratorias de origen infeccioso.

El extracto etanólico de *B. crassifolia* presentó la mejor actividad contra *P. multocida* (CIM 31.5 µg/mL) y *S. aureus* cepa 1 (CIM 125 µg/mL). Además fue activo contra *A. pyogenes* (CIM 1,000 µg/mL), *B. bronchiseptica* y cepa 2 de *S. aureus* (CIM 500 µg/mL). No mostró actividad contra *Streptococcus* sp.

Esta actividad se debe, según Menghini *et al.* (2008) y Fukai *et al.* (2002), a la presencia de flavonoides, taninos, terpenos, aldehídos aromáticos y catequinas. La actividad demostrada en este estudio difiere del realizado por López (1992), quien reporta a la bacteria *S. pyogenes* como una de las mas sensibles a la bioactividad del extracto etanólico de corteza de *B. crassifolia*. Martínez *et al.* (1999), ha reportado la actividad del extracto etilacetato de raíz contra bacterias Gram negativo y Gram positivo, incluyendo a *S. pneumoniae*, lo cual concuerda con los resultados obtenidos a excepción de la actividad contra la cepa de *Streptococcus*, que puede deberse tanto al disolvente como a la parte de la planta utilizada en dicho estudio.

El extracto etanólico de *L. graveolens* posee actividad contra *B. bronchiseptica*, (CIM 500 µg/ mL), *S. aureus* cepas 1 y 2 (CIM 500 µg/ mL) y contra *P. multocida* (CIM 125 µg/ mL). No mostró actividad contra *Streptococcus* sp. y *A. pyogenes*.

Esta actividad se debe al carvacrol (Budavari 1989). Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por Mendoza (1995), a excepción de la actividad contra *Streptococcus* sp. La actividad expectorante reportada por Cáceres (1996) provee una ventaja adicional para su empleo en la fitoterapia de patologías respiratorias.

El extracto etanólico de *P. oocarpa* posee actividad contra *S. aureus* cepa 2 (CIM 1,000 µg/mL), *P. multocida* y *Streptococcus* sp. (CIM 250 µg/mL). No presentó actividad contra *S. aureus* cepa 1, *A. pyogenes* y *B. bronchiseptica*.

Esta actividad se le atribuye a los compuestos terpénicos presentes en la resina y aceite esencial (Loarca et al., 2004). Las propiedades expectorante, balsámica y descongestiva de vías respiratorias reportadas por Loarca et al. (2004) son de utilidad adicional para el tratamiento inespecífico de patologías respiratorias.

El extracto etanólico de *P. philadelphica* mostró actividad solamente contra *P. multocida* a una concentración de 1,000 µg/mL. No presentó actividad contra *B. bronchiseptica*, *S. aureus* (cepas 1 y 2), *Streptococcus* sp y *A. pyogenes*. La actividad observada únicamente contra *P. multocida*, difiere de lo reportado por Recinos (1991), quien demostró la actividad del extracto etanólico de cinco órganos de la planta, incluida la hoja, contra *S. aureus*, *S. pneumoniae* y *S. pyogenes*.

El presente estudio confirma la actividad antibacteriana de las plantas evaluadas, respaldando la utilización de la fitoterapia en medicina veterinaria como parte del tratamiento de enfermedades respiratorias en cerdos, causadas por las bacterias incluidas en esta investigación.

VII. CONCLUSIONES

1. Se confirmó la actividad antibacteriana de todos los extractos etanólicos de las plantas en estudio, presentando la menor CIM antibacteriana (31.25 $\mu\text{g/mL}$) los extractos *E. globulus* y *B. crassifolia*.
2. El extracto etanólico de *E. globulus* demostró ser activo contra todas las cepas bacterianas incluidas en el estudio además de presentar la CIM de menor valor contra *S. aureus* cepa 2 (31.25 $\mu\text{g/mL}$) y *Streptococcus* sp. (62.5 $\mu\text{g/mL}$).
3. Los extractos etanólicos de *B. crassifolia* y *T. lucida* poseen actividad contra todas las cepas bacterianas incluidas en el estudio, a excepción de *Streptococcus* sp.
4. El extracto etanólico de *B. crassifolia* posee la menor CIM contra *P. multocida* (31.25 $\mu\text{g/mL}$).
5. El extracto etanólico de *P. oocarpa* posee actividad contra *P. multocida*, *S. aureus* cepa 2, y es una de las dos plantas activas frente a *Streptococcus* sp.
6. El extracto de *P. philadelphica* posee actividad únicamente contra *P. multocida* (CIM 1,000 $\mu\text{g/mL}$).
7. El género bacteriano aislado con mayor frecuencia y más resistente fue *Streptococcus* sp., siendo sensible únicamente a *E. globulus* y *P. oocarpa*.
8. La cepa bacteriana de *P. multocida* fue la única susceptible a todos los extractos etanólicos de las plantas en estudio.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Evaluar la actividad antimicrobiana de las plantas utilizadas, contra cepas de bacterias y hongos no incluidas en el estudio, causantes de enfermedades respiratorias y de otros sistemas (digestivo, urinario, piel) en cerdos.
2. Investigar la actividad antimicrobiana de otras plantas que hayan demostrado eficacia contra patógenos respiratorios en humanos, mediante estudios de etnofarmacología.
3. Utilizar los resultados obtenidos como referencia en la formulación de productos farmacéuticos a utilizar en la aplicación de la fitoterapia *in vivo* en estudios posteriores.
4. Realizar ensayos clínicos a partir de los resultados obtenidos para evaluar la actividad *in vivo* de las plantas estudiadas y establecer la forma de administración de los mismos al momento de la terapia.
5. Ampliar y conservar la colección microbiológica existente en el Departamento de Microbiología de la FMVZ, con cepas bacterianas y micóticas que afectan la salud animal en sus diferentes sistemas (respiratorio, digestivo, urinario, piel), para ser utilizados en bioensayos posteriores.

IX. RESUMEN

El objeto del estudio fue generar información científica que respalde la fitoterapia como alternativa terapéutica en las enfermedades respiratorias de cerdos. Evalué la actividad antibacteriana *in vitro* de extractos etanólicos de las plantas *Eucalyptus globulus*, *Lippia graveolens*, *Tagetes lucida*, *Pinus oocarpa*, *Byrsonima crassifolia* y *Physalis philadelphica* contra las cepas bacterianas *Bordetella bronchiseptica*, *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus* sp. y *Arcanobacterium pyogenes* aisladas a partir de cerdos con patologías respiratorias.

La actividad antibacteriana se evaluó por el método de dilución (Mitscher *et al.* 1972). Los resultados demostraron actividad de todos los extractos contra todas las cepas bacterianas incluidas en el estudio.

Los valores de CIM más bajos contra *P. multocida* y *S. aureus* cepa 1 se obtuvieron con el extracto etanólico de *B. crassifolia* (CIM 31.5 µg/mL y 125 µg/mL respectivamente), contra *S. aureus* cepa 2, *Streptococcus* sp. y *A. pyogenes* con el extracto etanólico de *E. globulus* (CIM 31.25 µg/mL, 62.5 µg/mL y 125 µg/mL respectivamente). *B. bronchiseptica* fue resistente a los extractos etanólicos de *L. graveolens* y *P. philadelphica*, y fue sensible a los demás extractos (CIM 500 µg/mL).

La cepa bacteriana de *P. multocida* fue la única susceptible a todos los extractos evaluados, mientras que *Streptococcus* sp. fue la bacteria más aislada y resistente a los extractos de las plantas en estudio.

El presente estudio validó la actividad antibacteriana de las plantas evaluadas, respaldando la utilización de la fitoterapia en medicina veterinaria como parte del tratamiento de enfermedades respiratorias en cerdos, causadas por las bacterias incluidas en esta investigación.

X. BIBLIOGRAFÍA

Amarquaye, A; Che, CT; Bejar, E; Malone, MH; Fong, HS. 1994. A new glycolipid from *Byrsonima crassifolia*. *Plan Med* 60: 85-85.

Arnason, T; Uck, F; Lambert, J; Hebda, R. 1980. Maya medicinal plants of San José Succotz, J *Ethnopharmacol* 2:345-364.

Bachir, R; Benali, M. 2008. Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. *Afric J Pharm Pharmacol*. 2:211-215.

Béjar, E; Amarquaye, A; Che, CT; Malonbe, MH; Fong, HHS. 1995. Constituents of *Byrsonima crassifolia* an their spasmogenic activity. *Int J Pharmacog* 33:25-32.

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

Cáceres, A. 1996, *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Guatemala, GT, Editorial Universitaria. 402 p.

_____; Álvarez, AV; Ovando, AE; Samayoa, B. 1991a. Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 1. Screening of 68 plants against Gram positive bacteria. *J Ethnopharmacol* 31:193-208.

_____; Cano, O; Samayoa, B; Aguilar, L. 1990. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. 1. Screening of 84 plants against enterobacteria. *J Ethnopharmacol* 30:55-73.

_____; Girón, LM; Martínez, AM. 1987. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. *J Ethnopharmacol* 19:233-245.



_____; Jauregui, E; Herrera, D; Logemann, H. 1991b. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatomucosal infections. 1. Screening of 38 plants extracts for anticandidal activity. J Ethnopharmacol 33:277-283.

_____; López BR; Giron, MA; Logemann, H. 1991c. Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. J Ethnopharmacol 31:263-276.

_____; Samayoa, B. 1989. Tamizaje de la actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de afecciones gastrointestinales. Cuad Invest. DIGI 6-89. 138 p.

Cambar, PJ; Alvarado, C; Alger, J; Rivera, O. 1984. Efectos broncopulmonares de algunas plantas medicinales de Honduras. Tegucigalpa, UNAH, 8 p.

Cortes, AR; Pastelin, G; Aoki, K. 1990. *Tagetes lucida* Cav. II: Anticholinergic effect on skeletal muscle and heart of rat. Phytol 51:77-82.

Dannenberg, HD; Richter, W; Wesche, WD. 1982. Enfermedades del cerdo. Zaragoza, ES. Acribia. p. 206-226.

Domínguez, XA; Sánchez, H; Suárez, M; Baldas, JH; González, MR. 1989. Chemical constituents of *Lippia graveolens*. Planta Med 55:208-209.

Dunne, HW. 1967. Enfermedades del cerdo. México. UTEHA. p. 489-505.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT) 1968. Plantaciones forestales en América Latina: desarrollo y perspectivas. Forest Venezol 11:5-48.



Fukai, T; Marumo, A; Kaitou, K; Kanda, T; Tereda, S; Nomura, T. 2002. Anti-*Helicobacter pylori* flavonoids from licorice extract. Life Sci 71:1449-1463.

Geiß, F; Heinruch, M; Hunkler, D; Ripler, H. 1994. Procianidin from *Byrsonima crassifolia* Bark . Internat Res Cong Nat Prod. Halifax. p. 8.

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

Glasby, JS. 1991. Dictionary of plants containing secondary metabolites. London, Taylor & Francis, 488 p.

Gottschalk, M. 1993. Pleuroneumonía porcina: más que combatirla, hay que eliminarla. Porcicult Colomb 29:14-16.

Grainge, M; Ahmed, S. 1988. Handbook of plant with pest control properties. New York, John Wiley & Son. 470 p.

Guzmán, N. 1987. Determinación de los componentes mayoritarios del extracto de hojas y flores de *Tagetes lucida* Cav. (Pericón) soluble en éter de petróleo mediante el uso de cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas. Tesis. Guatemala, Facultad de CCQQ y Farmacia/USAC. 47 p.

Hayek, MG; Mitchell, GE; Harmon, RJ; Stahly, TS; Cromwell, GL; Barrer, KB. 1989. Porcine immunoglobulin transfer after prepartum treatment with selenium or vitamin E. J Anim Sci 67:1299-1306.

Helmunt, S. 1985. Oxidative Stress. Academic Press. Londres, RU. 477 p.

Hernández, T; Canales, M; Ávila, JG; García, AM; Flores, C; Duran, A. 2006. Antimicrobial activity of *Tagetes lucida*. Pharmaceut Biol 44:9-22.



Hernández, T; Canales, M; Ávila, JG; García, AM; Meraz, S; Caballero, J; Lira, R. 2009. Composition and antibacterial activity of essential oil of *Lippia graveolens* H.B.K. (Verbenaceae). Bol Latinoamer Carib Plant Medicin Aromát 8:295-300.

IIN. 1978. Aspectos de la medicina popular en el área rural de Guatemala. Guat Indíg 13:1-616.

Jiu, J. 1966. A survey of some medicinal plants of Mexico for selected biological activities. J Lloyd 29:250-259.

Khan, R; Islam, B; Akram, M; Shakil, S; Ahmad, A; Ali, SM; Siddiqui M; Khan, U. 2009. Antimicrobial activity of five herbal extracts against multi drug resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. J Molec 14:586-597.

Lara, R; Sandoval, H; Jiménez, M; De La Roca, D; Guzmán, A; et al. 1991. Determinación de la actividad inmunomoduladora de los extractos de zarzaparrilla, quilete y pericón. Memorias VI Cong Nac Microbiol, Guatemala, 88 p.

Loarca, A; Cáceres, A; Burgos, M. 2004. Manual de Etnoveterinaria en Guatemala. p. 38.

López, MB. 1992, Demostración de la actividad antimicrobiana de *Byrsonima crassifolia* y *Malpighia glabra*. Tesis. Guatemala, Fac CCQQ y Farmacia/USAC. 66 p.

López, FJ; Jiménez, B; Cortéz AR; Aoki, K. 1990. *Tagetes lucida* Cav. 1: Inhibitory effect on smooth muscle contractility. Phytón 51: 71-76.

Martínez, M. 1969. Las plantas medicinales de México. México, Botas. p. 226-227.

_____. 1992. Las plantas medicinales de México. México. Botas. 656 p.



_____; González, A; Cazares, L; Moreno, M; García, A. 1999. Antimicrobial activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K. J Ethnopharmacol 66:79-82.

Martínez, FJ; Suarez, CP. 2007. Complejo respiratorio porcino: aspectos más importantes. Rev Prod Anim 237:4-17.

Menghini, L; Epifano, F; Leporini, L; Pagiotti, R; Tirillini, B. 2008. Phytochemical investigation on leaf extract of *Cordia salicifolia* Cham J Med Food, 11:193-194.

Mendieta, RM; del Amo, S. 1981. Plantas Medicinales del estado de Yucatán, Xalapa. INIREB. p. 198.

Mendoza, JC. 1995. Confirmación de la actividad antimicrobiana de tres especies del género *Lippia*. Tesis. Guatemala, Fac CCQQ Farmacia/USAC. 46 p.

Morton, JF. 1981. Atlas of medicinal plants of Middle America. Springfield. En: Charles C. Thomas, Springfield MA. 1420 p.

Nash, DL; Dieterle, JVA. 1976. Flora of Guatemala. Fieldiana Botany, 24 (11), 431 p.

Obrazhei, A; Kvachov, V; Ayshpur, O; Sapeiko, V. 2008. Essential oils as an alternative to antibiotics in respiratory infections treatment and prophylaxis in pigs. Proceed Internat Pig Vet Soc Cong 8:52.

Oldfield, JE. 2003. Some recollections of early swine research with selenium and vitamin E. J Anim Sci 81:145-148.

Pinto, EE. 1980. Recopilación de datos botánicos y análisis químico cualitativo de algunas especies de plantas consideradas medicinales en Guatemala. Tesis. Guatemala. Fac CCQQ Farmacia/USAC. 57 p.



PLANTER. 1989. Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la flora salvadoreña. San Salvador. Universidad de El Salvador p. 345.

Puac, MI. 1993. Determinación de la actividad diurética de las hojas de *Physalis philadelphica* Lam. (miltomate), pulpa de *Punica granatum* L. (granada) y raíces de *Cajanus cajan* Millsp. (gandul). Tesis. Guatemala. Fac CCQQ Farmacia/USAC. 39 p.

Recinos, MM. 1991. Confirmación de la actividad antibacteriana de *Physalis philadelphica* contra bacterias causales de infección respiratoria. Tesis. Guatemala. Fac CCQQ Farmacia/USAC. 59 p.

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. Cuad DIGI 5-88. p. 84.

Rubineau, L; Gómez, H; Díaz, F; Gaitán, R. 2005. Farmacopea vegetal caribeña. Managua & Santo Domingo, Enda-Caribe (TRAMIL). 487 p.

Salguero, IE. 1989. Estudio farmacológico de *Tagetes lucida* (Pericón). Tesis. Guatemala, Fac CCQQ y Farmacia/USAC. 86 p.

Standley, PC; Williams, LO. 1961. Flora of Guatemala Fieldiana: Botany 24(7), 281 p.

Valle, AL. 1989. Inhibición de la infección por *Shigella dysenteriae* 1 en cornea de cobayo, por extractos de hojas de *Psidium guajava*, *Spondias purpurea* y *Tagetes lucida* Tesis. Guatemala, Fac. Ciencias Médicas/USAC. 87 p.

White, A. 1985. Hierbas del Ecuador. Plantas Medicinales. Quito. Libri. p. 134.



XI. ANEXOS

ANEXO 1

HOJA DE REGISTRO PARA EVALUACION DE CONTROLES POSITIVOS PARA LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Tabla 1. Determinación de la relación dosis-efecto de amoxicilina/clavulanato 3, 30 y 300 µg/mL

Antibiótico y concentración	Microorganismos					
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 2)	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>
Amoxicilina-clavulanato 3 µg	-	+	+	+	+	+
Amoxicilina-clavulanato 30 µg	-	+	+	+	+	+
Amoxicilina-clavulanato 300 µg	+	+	+	+	+	+

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Tabla 2. Determinación de la relación dosis-efecto de enrofloxacin 0.5, 5 y 50 µg/mL

Antibiótico y concentración	Microorganismos					
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 2)	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>
Enrofloxacin 0.5 µg	+	+	+	+	+	+
Enrofloxacin 5 µg	+	+	+	+	+	+
Enrofloxacin 50 µg	+	+	+	+	+	+

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

ANEXO 2

HOJA DE REGISTRO PARA EVALUACION DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y
CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CIM)Tabla 5. Actividad antibacteriana de las plantas en estudio en la fase de
tamizaje
(1 mg/mL)

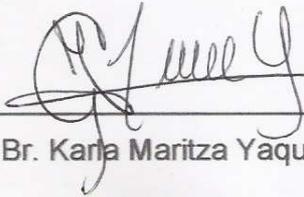
Planta	Microorganismos					
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 2)	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>
<i>Eucalyptus globulus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Physalis philadelphica</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Tagetes lucida</i>	+	+	+	+	-	+
<i>Pinus oocarpa</i>	-	+	-	+	+	-
<i>Lippia graveolens</i>	+	+	+	+	-	-
<i>Brysonimia crassifolia</i>	+	+	+	+	-	+

(+) = Actividad positiva, no hay crecimiento

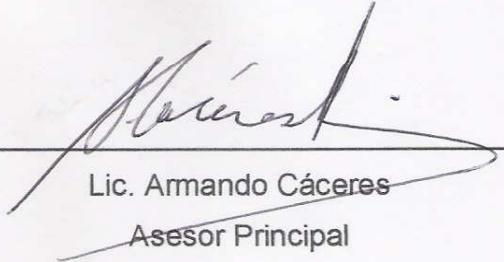
(-) = Actividad negativa, si hay crecimiento

Tabla 2. Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima de la actividad antibacteriana de las plantas en estudio ($\mu\text{g} / \text{mL}$)

Planta	Microorganismos					
	<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (cepa 2)	<i>Streptococcus</i> sp.	<i>Arcanobacterium pyogenes</i>
<i>Eucalyptus globulus</i>	500	62.5	1,000	31.25	62.5	125
<i>Physalis philadelphica</i>	-	1,000	-	-	-	-
<i>Tagetes lucida</i>	500	125	500	1,000	-	250
<i>Pinus oocarpa</i>	-	250	-	1,000	250	-
<i>Lippia graveolens</i>	500	125	500	500	-	-
<i>Brysonimia crassifolia</i>	500	31.25	125	500	-	1,000



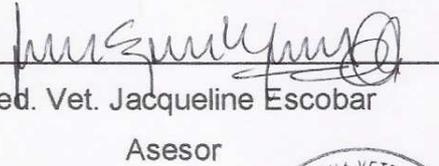
Br. Karla Maritza Yaquián García



Lic. Armando Cáceres
Asesor Principal



Med. Vet. Yeri Véliz
Asesor



Med. Vet. Jacqueline Escobar
Asesor



IMPRÍMASE:

Med. Vet. Leonidas Ávila Palma
Decano Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia