

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



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE DOS EXTRACTOS DE PLANTAS DE USO MEDICINAL ORÉGANO (*Lippia graveolens* HBK) Y GUAYABA (*Psidium guajava*), SOBRE *Escherichia coli*; CAUSANTE DE COLIBACILOSIS EN AVES DOMÉSTICAS (*Gallus gallus*)

BRENDA ARISSY BARAHONA GUERRA

Médica Veterinaria

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2016

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



**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE
DOS EXTRACTOS DE PLANTAS DE USO MEDICINAL ORÉGANO
(*Lippia graveolens* HBK) Y GUAYABA (*Psidium guajava*), SOBRE
Escherichia coli; CAUSANTE DE COLIBACILOSIS EN AVES
DOMÉSTICAS (*Gallus gallus*)**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

BRENDA ARISSY BARAHONA GUERRA

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2016

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

DECANO:	M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
SECRETARIA:	M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
Vocal I:	M.Sc. Juan José Prem González
Vocal II:	Lic. Zoot. Edgar Amílcar García Pimentel
Vocal III:	Lic. Zoot. Alex Rafael Salasar Melgar
Vocal V:	Br. Javier Augusto Castro Vásquez

ASESORES

M.Sc. BEATRIZ SANTIZO CIFUENTES
Dra. JACQUELINE ESCOBAR MUÑOZ
M.A. JAIME ROLANDO MÉNDEZ SOSA

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE DOS EXTRACTOS DE PLANTAS DE USO MEDICINAL ORÉGANO (*Lippia graveolens* HBK) Y GUAYABA (*Psidium guajava*), SOBRE *Escherichia coli*; CAUSANTE DE COLIBACILOSIS EN AVES DOMÉSTICAS (*Gallus gallus*)

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO A:

- A mí amado Dios:** Por brindarme la vida, la fortaleza, iluminarme y sobre todo guiarme en cada momento de mi vida; gracias Dios por darme la sabiduría, tu amor infinito y la enorme bendición de permitirme hoy alcanzar uno de los sueños más grandes de toda mi vida.
- A mis padres:** Josefina Guerra de Barahona y Néstor Aroldo Barahona, por su esfuerzo, sus enseñanzas que me permitieron formarme como persona y que me ayudaron a llegar hasta este momento de mi vida. Por su amor incondicional. Por ser ejemplo a seguir, y por motivarme cada día de mi vida para seguir siempre adelante. Les dedico este logro con mucho amor.
- A mi novio:** Javier Rosales Q.E.P.D. por haber sido mi fortaleza y una bendición en mi vida en los años que Dios me permitió tenerlo a mi lado; por su amor infinito por haberme enseñado que nada es imposible cuando se quiere alcanzar un sueño. Por haber estado a mi lado en cada momento difícil de mi vida y sin duda hoy no está físicamente a mi lado pero su corazón me acompañará día con día. Gracias amor mío por ser mi luz en todo momento.
- Mis hermanos:** Silvia, Rafa y Alicia Barahona, porque siempre han creído en mí, me han brindado su amor y

apoyo incondicional en todo momento, por ser mis compañeros de toda la vida. Gracias Rafa por ser un excelente ejemplo de perseverancia y fuerza y que todo se tiene que realizar con moral.

A mi familia:

Porque de una u otra manera me brindaron su apoyo incondicional en los momentos más difíciles de mi vida dándome sus consejos y fortaleza para continuar cada día de mi vida, en especial a mi tía Linda, Jorge y Rony por su amor y paciencia en los momentos donde sentía caer.

A mis amigos:

Personas especiales que conocí con las cuales compartí momentos únicos a lo largo de la carrera, gracias por su amistad y cariño en especial a Olinda Laynez, Carol García, Emilse Hernández, Conrado Marroquín, Leonardo Montufar, Wagner Morales, Raíza Reyes y Anna Palala.

A mis mascotas:

Por ser esos seres que me inspiran y me brindan su amor incondicional en especial a mi Buga hermosa, polka, chispa, bugui y viviana seres extraordinarios que me motivan a seguir siendo mejor en tan noble profesión.

AGRADECIMIENTOS

- A Dios:** Por haber sido mi guía y mi fuerza para alcanzar este logro más en mi vida.
- A mis padres y hermanos:** Por ser mi motor y mi fortaleza les agradezco su amor, paciencia. Por haber creído en mí en todo momento.
- A la Universidad:** De San Carlos de Guatemala, en especial a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme brindado la oportunidad de formarme y darme las herramientas necesarias para enfrentar cada reto en mi vida profesional.
- A mis amigos:** Por haber sido un apoyo en cada experiencia vivida a lo largo de la carrera, por el trabajo en equipo, por su amistad y cariño.
- A mi familia:** En especial a la Familia Guevara por su apoyo y consejos en los momentos difíciles de mi vida.
- A mis asesores de tesis y evaluador:** Dra. Jacqueline Escobar, M.Sc. Beatriz Santizo y el M.A Jaime Méndez por sus enseñanzas, consejos, paciencia y ayuda para la realización de este trabajo. Y por su amistad y cariño.
- A mis catedráticos:** Por todos los conocimientos compartidos y por cada experiencia vivida.
- A Frisa:** En especial a Granja Blanquita por haber marcado la culminación de mi carrera profesional, en donde encontré personas que me brindaron su confianza y cariño, especialmente Luis Rodríguez y José Gómez

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	HIPÓTESIS	3
III.	OBJETIVOS	
	3.1 Objetivo General	4
	3.2 Objetivos Específicos	4
IV.	REVISION DE LITERATURA	
	4.1 Orégano <i>Lippia graveolens</i> HBCK.....	5
	4.1.1 Nombre comunes	5
	4.1.2 Hábitat	5
	4.1.3 Historia	5
	4.1.4 Taxonomía	5
	4.1.5 Taxonomía del orégano	5
	4.1.6 Características generales del orégano.....	6
	4.1.7 Compuestos fenólicos en el orégano	6
	4.1.8 Características Farmacéuticas.....	7
	4.1.9 Potencial antibacteriano.....	7
	4.1.10 Usos del orégano	8
	4.1.11 Industria Alimenticia	8
	4.2 Guayaba <i>Psidium guajava</i>	9
	4.2.1 Nombres comunes	9
	4.2.2 Hábitat.....	9
	4.2.3 Aspectos ecológicos y económicos.....	9
	4.2.4 Etnobotánica.....	10
	4.2.5 Etnofarmacología.....	10
	4.2.6 Fitoquímica.....	11
	4.2.7 Principios activos.....	11
	4.3 Colibacilosis Aviar.....	11

4.3.1 Definición de la Enfermedad.....	11
4.3.2 Sinónimos.....	12
4.3.3 Importancia económica.....	12
4.3.4 Incidencia y Distribución.....	13
4.3.5 Etiología de la enfermedad.....	13
4.3.5.1 Propiedades bioquímicas.....	14
4.3.5.2 Estructura antigénica.....	14
4.3.5.2.1 Antígeno O.....	14
4.3.5.2.2 Antígeno K.....	14
4.3.5.2.3 Antígeno H.....	14
4.3.6 Periodo Incubación.....	15
4.3.7 Transmisión.....	15
4.3.7.1 Transmisión Horizontal.....	15
4.3.7.2 Transmisión Vertical.....	15
4.3.7.3 Transmisión Aerógena.....	14
4.3.7.4 Vectores mecánicos.....	15
4.3.8 Síntomas.....	15
4.3.8.1 Colisepticemia.....	15
4.3.8.2 Hallazgos a la necropsia.....	16
4.3.8.3 Patogénesis.....	16
4.3.8.4 Peritonitis del huevo.....	17
4.3.8.5 Infección del saco vitelino.....	17
4.3.8.6 Coligranuloma o Enfermedad de Hjarre.....	17
4.4 Diagnóstico.....	18
4.4.1 Cultivo Bacteriológico.....	18
4.4.2 Diagnóstico diferencial.....	18
4.5 Control Preventivo.....	19
4.6 Tratamiento.....	20
4.6.1 Mecanismo de resistencia de <i>E. coli</i> a los antimicrobianos....	20

V. MATERIALES Y MÉTODOS	
5.1 Área de trabajo.....	22
5.2 Recursos humanos.....	22
5.3 Recursos biológicos.....	22
5.4 Materiales y equipo.....	22
5.4.1 Materiales para necropsias.....	22
5.4.2 Materiales para siembra.....	23
5.4.3 Materiales para extractos.....	23
5.4.4 Cristalería.....	24
5.4.5 Reactivos.....	24
5.5 Metodología.....	24
5.5.1 Obtención y selección de la cepa.....	24
5.5.2 Selección de las plantas.....	25
5.5.3 Obtención de los extractos.....	25
5.5.4 Obtención del material vegetal.....	25
5.5.5 Selección del antibiótico.....	26
5.5.6 Preparación de los extractos.....	26
5.5.7 Determinación de la actividad antibacteriana.....	26
5.5.8 Siembra en agar planta.....	27
5.5.9 Preparación del control positivo (a la inhibición).....	27
5.5.10 Preparación del control negativo (a la inhibición).....	28
5.5.11 Determinación de la CIM.....	28
5.5.11.1 Técnica de macrodilución.....	28
5.6 Análisis de datos.....	29
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
6.1 Determinación de la actividad antibacteriana.....	31
6.1.1 Determinación de la relación dosis-efecto del antibiótico utilizado en el control positivo.....	31
6.1.2 Fase de tamizaje y/o actividad antibacteriana.....	33
6.1.3 Determinación de la CIM.....	33

VII. CONCLUSIONES.....	38
VIII. RECOMENDACIONES.....	39
IX. RESUMEN.....	40
SUMMARY.....	41
X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
XI. ANEXOS.....	47

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.

Factores predisponentes para el desarrollo de una infección por *E. coli*.....12

Cuadro 2.

Frecuencia de las principales resistencias bacterianas a los antibióticos.....21

Cuadro 3.

Nombre científico, nombre común, número de herbario y procedencia de las plantas.....25

Cuadro 4.

Determinación de la relación dosis- efecto de gentamicina (10,100 y 1000µg/mL).....32

Cuadro 5.

Actividad antibacteriana de las plantas en estudio en la fase de tamizaje y/o actividad antibacteriana.....35

Cuadro 6.

Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima de la actividad antibacteriana de las plantas en estudio (µg/mL).....36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1

Preparación de los extractos.....51

Figura No. 2

Preparación de placas con agar planta.....52

Figura No. 3

Agar Planta.....52

Figura No. 4

Plantilla utilizada como guía para la inoculación en la placa de agar planta para la técnica de macrodilución.....53

Figura No. 5

Inoculación en placas de agar planta para determinación de la actividad antibacteriana.....53

Figura No. 6

Placas de agar planta sembradas con *Escherichia coli* para determinación de actividad antibacteriana. Comparación con controles positivos y negativos.....54

Figura No. 7

Placas de agar Müller Hinton sembradas con las diferentes concentraciones del antibiótico gentamicina (1%), (10%) y (100%).....54

Figura No. 8

Esquema para la inoculación de las cepas para determinación de la CIM.....55

Figura No. 9

Placa cuadrilate para determinación de CIM *Lippia graveolens* (Orégano) y *Psidium guajava* (Guayaba).....55

Figura No. 10

Resultado de CIM Orégano y Guayaba de *Escherichia coli* habiendo crecimiento en concentraciones únicamente en 0.25% y control (negativo a inhibición).....56

Figura No. 11

Placa con agar *planta Lippia graveolens* (Orégano) cepa 8 presentando crecimiento o actividad antimicrobiana negativa.....56

Figura No. 12

Resultado de CIM de *Lippia graveolens* (Orégano) cepa 9 y 10 de *E. coli* habiendo crecimiento en concentraciones 0.5%, 0.25% y control con actividad antimicrobiana negativa.....5

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades en las aves de origen bacteriano son una problemática creciente a nivel de explotaciones avícolas, provocando pérdidas económicas debido a la disminución en la producción y gastos en tratamientos administrados. Actualmente los tratamientos consisten en la antibioterapia, lo cual puede generar o promover resistencia bacteriana por la sobredosificación que pueda existir.

La fitoterapia al pasar los años está siendo más aceptada, debido a que la industria desarrolla productos químicos que producen daño a la salud al paso del tiempo, por lo que las personas se inclinan nuevamente al uso de materia de origen vegetal por la virtud curativa que posee, además de fomentar y estimular el sistema inmune para poder defenderse de cualquier posible enfermedad (27, 31).

En Guatemala a partir de 1927 se dio inicio a la recopilación y documentación sobre plantas nativas medicinales. Existen instituciones encargadas de realizar estudios *in vitro*, en donde se determinan efectos tóxicos, propiedades antibacterianas, antifúngicas y antiparasitarias. Dentro de estas instituciones de encuentra la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Universidad del Valle de Guatemala, Centro de Estudios Mesoamericanos sobre Tecnología apropiada –CEMAT- y el Laboratorio de Productos Fito-farmacéuticos –FARMAYA- (8-9).

En el presente estudio, evalué el efecto antibacteriano *in vitro* de extractos etanólicos de dos plantas de uso medicinal sobre 10 cepas de bacterias de *Escherichia coli* aislada a partir de necropsias de aves domésticas (*Gallus gallus*) causantes de colibacilosis con el fin de determinar la actividad de cada extracto sobre las cepas aisladas, y la concentración inhibitoria mínima (CIM); con el fin de brindar una alternativa fitoterapéutica eficaz para el tratamiento de ésta

enfermedad que será de utilidad sobre todo para pequeños y medianos productores avícolas, así como a nivel rural.

II. HIPÓTESIS:

No existe actividad antibacteriana de los dos extractos de plantas de uso medicinal a evaluar, Orégano (*Lippia graveolens HBK*) y Guayaba (*Psidium guajava*) sobre la bacteria *E. coli* causante de Colibacilosis en aves domésticas (*Gallus gallus*).

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL:

- Generar información científica, que respalde el uso de los extractos de las plantas medicinales Orégano (***Lippia graveolens HBK***) y Guayaba (***Psidium guajava***) como alternativa medicinal frente a ***Escherichia coli*** causante de la enfermedad Colibacilosis, en aves domésticas (***Gallus gallus***).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar la actividad antibacteriana ***in vitro*** de los extractos de plantas de uso medicinal. Orégano (***Lippia graveolens HBK***) y Guayaba (***Psidium guajava***)
- Determinar la concentración Inhibitoria Mínima (C.M.I) de los extractos activos de las plantas de uso medicinal Orégano y Guayaba, contra la bacteria *E. coli*

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Orégano

Lippia graveolens HBK

Familia Verbenaceae

4.1.1 Nombres comunes

Orégano, Mejorana, Orégano de monte (2).

4.1.2 Hábitat

Es nativa de bosques secos y montes espinosos subtropicales, en pendientes secas, matorrales húmedos o secos y planicies hasta 350 msnm. En Guatemala se ha descrito en El Progreso, Petén y Zacapa (2, 3,4)

4.1.3 Historia

Con el nombre de Orégano se conocen más de 53 plantas de diferentes especies e incluso familias, que por sus aceites esenciales de aromas parecidos han sido usados indistintamente. Es usado con fines culinarios y medicinales desde los tiempos de griegos y romanos. (2)

4.1.4 Taxonomía.

Con el nombre de orégano se conocen a dos grandes grupos: el orégano mediterráneo o europeo que proviene de diversas especies del género *Origanum vulgare* subs. *hirtum* (orégano griego) y *O. vulgare* subs. *gracite* (oregano turco). Y el orégano mexicano que proviene de dos especies de la Familia Verbenaceae: *Lippia palmeri* y principalmente de *L. graveolens* (2, 7,10).

4.1.5 La taxonomía del orégano es:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsidae

Orden: Lamiales

Familia: Verbenaceae

Género: *Origanum*

Especie: *L. graveolens*, *Lippia berlandieri*.

Esta planta es un arbusto caducifolio, muy ramificado, que generalmente llega a alcanzar hasta 2.50 m, de altura y 1.20 m, de diámetro de cobertura foliar; aunque en la generalidad de los casos, las poblaciones silvestres bajo aprovechamiento miden de 0.70 a 1.20 m, de altura y de 0.30 a 0.80 m, de diámetro de cobertura, esto dependiendo de las condiciones específicas de desarrollo y de la edad de la planta (2, 26, 31).

4.1.6 Características generales del orégano (*Lippia graveolens*).

El Orégano habita en climas secos y semisecos sobre colinas rocosas, valles, arroyos, en chaparrales, en matorrales desérticos y se distribuye desde Texas a Nuevo México en los Estados Unidos, así como en México y Centro América (2, 10,26).

4.1.7 Compuestos fenólicos en el orégano

Existen diversos estudios sobre la composición química del orégano, de extractos acuosos y aceites esenciales. Se ha identificado flavonoides como la apigenina y la luteolina, agliconas, alcoholes alifáticos, compuestos terpénicos y derivados del fenilpropano.

En extractos metanólicos de hojas de *L. graveolens* se han encontrado siete iridoides minoritarios conocidos como loganina, secologanina, secoxiloganina. También contiene flavonoides como naringenina y pinocembrina, lapachenol e icterogenina.

Los aceites esenciales de orégano, pueden ser usados como sustitutos de fungicidas químicos, ya que son inocuos y biodegradables. Existe una relación entre el incremento de la concentración del aceite esencial y la inhibición en la producción de aflatoxinas, por lo que se deben aumentar las dosis de los aceites esenciales probados, asegurando niveles de aflatoxinas permitidos para el consumo humano (10,12).

4.1.8 Características Farmacéuticas.

El orégano de las especies (*Lippia berlandieri* Schauer y *Lippia palmeri* Watson) se utilizan las hojas frescas y secas en una infusión acuosa al 0.5%. Aplicaciones: Antiásmático control del asma, antihelmíntico contra parásitos redondos, anti infeccioso contra *Staphylococcus aureus*, emenagogo regulador de la menstruación y fungicida acción contra *Candida albicans*. (2, 3,5)

4.1.9 Potencial Antibacteriano.

Existen múltiples estudios sobre la actividad antibacteriana de los extractos de diferentes tipos de orégano. Se ha encontrado que los aceites esenciales de las especies *L. graveolens*, presentan actividad contra bacterias gram negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* y *Enterobacter cloaca*. Así mismo se reconoce su uso en la decocción o infusión de hojas para tratar la anemia, afecciones gastrointestinales como: amebiasis, cólico, diarrea, disentería, dispepsia, estreñimiento e indigestión) (2)

Se ha evaluado la actividad antimicrobiana de los componentes aislados, así como el del aceite esencial. Los fenoles carvacrol y timol poseen los niveles más altos de actividad contra microorganismos gram negativos, excepto para *P. aeruginosa*, siendo el timol más activo. Otros compuestos, como el g-terpineno y r-cimeno no mostraron actividad contra las bacterias estudiadas. Los valores de la

concentración mínima inhibitoria (CMI) para los aceites esenciales se han establecido entre 0.28-1.27 mg/ml para bacterias, y de 0.65-1.27 mg/ml para hongos 2, 4,10)

4.1.10 Usos del orégano.

La mayoría de las especies de orégano poseen notables propiedades medicinales, que se explican por la extraordinaria y compleja composición química que tienen estas plantas. (3,6)

Las hojas y los tallos del orégano contienen aceite esencial, sustancias tónicas, un principio amargo, goma-resina, entre otras; la esencia tiene como componente principal el carvacrol así como timol, alfafineno, cimeno, levógiro y terpenos principalmente. Estos elementos le dan propiedades tónicas: amargo-excitante, antisépticas, expectorantes, diuréticas y sudoríficas; también se le considera un producto duradero de consumo final, ya que una vez deshidratado conserva sus propiedades y no sufre descomposición. En base a sus propiedades se usa además de condimentador de alimentos, como medicina popular en forma de infusiones para tos, cólicos, padecimientos de los riñones, fiebre y enfermedades de las vías respiratorias (4, 5).

4.1.11 Industria alimenticia.

El orégano se utiliza en la preparación de alimentos frescos como: guisados (adobo, pepián), sopas, estofados de carnes, así como en comidas internacionales: italiana, española, comida típica de México (pozole, menudo, callos, barbacoa, etc.). A la mezcla del orégano con el laurel y el tomillo se le conoce popularmente como "hierbas de olor", y se incorpora a infinidad de platillos. En alimentos enlatados se utiliza el orégano en productos como el salmón, atún, sardinas, abulón, etc. También se añade industrialmente a salsa,

aderezos, aceitunas, encurtidos, chiles en escabeche, polvos y pastas para sazonar, quesos, sopas precocidas, frijoles envasados, moles para rehidratar. (10)

4.2 Guayaba

Psidium guajava L.

Familia Myrtaceae

4.2.1 Nombres comunes

Guayaba, Cak, Ch'amxuy, Coloc, Eanandí, Ikiec, Guava, Patá, Pataj, Pichi, Posh (2,3, 4,5).

4.2.2 Hábitat

Crece en bosques húmedos y secos, pastos y bosques puros del árbol; hasta 1800 msnm. En Guatemala se ha descrito en todo el país, particularmente en Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa y Suchitepéquez. (4,5)

4.2.3 Aspectos ecológicos y económicos

Común a la orilla de los caminos y cerca de casas. La especie habita en climas cálido, semicálido, semisecho, seco y templado. Las plantaciones comerciales se encuentran en climas tropicales secos, con temperaturas promedio de 18°C, precipitación anual de 600 mm y altitud entre 150 a 600 mts. La temperatura adecuada para su desarrollo está entre los 15 y 30°C, aunque puede tolerar hasta 45°C. Los requerimientos pluviales se encuentran entre 1,000 y 2,000 mm. Se han encontrado plantas donde las precipitaciones alcanzan 5,000 mm anuales. La especie tolera diversas condiciones de suelo, pero produce mejor en suelos bien drenados, con abundante materia orgánica y un pH de 4.5 a 7.5. Es tolerante a suelos ácidos y alcalinos (pH de 4.5 a 9.4). Su origen es incierto pero se le ubica en Mesoamérica. Fue propagada por los españoles y portugueses a todos los trópicos del mundo donde se ha naturalizado con ayuda de los pájaros.

Actualmente se extiende desde México y Centroamérica, hasta Sudamérica, en específico Brasil y Perú, en Las Antillas y el sur de Florida. Su área ecológica se encuentra en la franja paralela al ecuador, con límites que no van más allá de los 30° C de cada hemisferio. Siglos atrás fue llevada a África, Asia y la India y actualmente se le encuentra en más de 50 países con clima tropical. (7, 10,12)

4.2.4 Etnobotánica

La decocción de hojas y corteza vía oral se utiliza para tratar afecciones digestivas, anemia, artritis, diabetes, hemorragia, hinchazón, uretritis, asma y resfrío.

La decocción de raíz se usa para tratar hidropesía. La decocción por vía tópica se usa para tratar enfermedades dermatomucosas (fístulas, leucorrea, pioderma, raspones, úlcera), glositis y fiebre palúdica (2, 3,4).

Se le atribuye propiedad antibacteriana, antiemética, antiinflamatoria, antihelmíntica, antiséptica, antitusiva, astringente, carminativa, febrífuga, espasmolítica y tónica (3,4).

4.2.5 Etnofarmacología

La tintura de hojas es activa contra *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*. La materia médica son las hojas y corteza secas, las características macroscópicas y microscópicas indican que la corteza es no fibrosa, contiene una variedad de oxalatos de calcio, taninos y almidones. Por su contenido de taninos y su actividad astringente es efectiva en el tratamiento de diarrea, indigestión y espasmo abdominal. La actividad antidiarreica se atribuye a las quercetinas presentes en las hojas y corteza, que tienen una definitiva acción antisecretoria en la liberación de acetilcolina e inhibidora del peristaltismo intestinal. La actividad

antibacteriana se atribuye a los flavonoides: avicularina, guayaverina y quercetina (2, 5,18).

4.2.6 Fitoquímica

El fruto contiene polifenoles, taninos, terpenos, glicósidos esteroidales (cardenolidos, bufadienólicos, saponinas) y antraquinonas. La raíz contiene leucoantocianinas, esteroides y ácido gálico. La corteza contiene elagitaninos. El extracto etanólico de flores contiene ácido oleanólico, ácido elágico, quercetina y glicósidos flavonoides (guayaverina) (2,17).

4.2.7 Principios activos

La actividad antibacteriana se atribuye a los flavonoides avicularina, guayaverina y quercetina (3).

4.3 Colibacilosis Aviar

4.3.1 Definición de la enfermedad

La colibacilosis en aves es un padecimiento de los pollos y gallinas, de curso crónico, que se manifiesta principalmente entre las 4 y 12 semanas de edad, la bacteria *Escherichia coli* es habitante normal del aparato digestivo en las aves y la mayoría de las cepas no son patógenas. Sin embargo, ciertos serotipos se identifican como un frecuente causal de diarrea en animales neonatos y adultos. Las diferentes cepas aisladas de estos procesos se clasifican en patotipos como: entero-patogénicas (EPEC), entero-invasivas (ETEC), entero-agregativas (EAEC) y vero-toxigénicas (VTEC) dependiendo de los factores de virulencia que poseen. Pueden causar enfermedades en las aves como: la infección del saco vitelino, el coligranuloma (enfermedad de Hjarre), la peritonitis del huevo, caracterizándose por provocar una enteritis, seguida de lesiones fibrinopurulentas en sacos aéreos, superficie de la cápsula de Glisson del hígado (peri-hepatitis), pericardio

(pericarditis) y la colisepticemia. Estos trastornos pueden agruparse bajo el título de colibacilosis. (18)

4.3.2 Sinónimos

El complejo colibacilosis hace referencia a cualquier infección localizada o sistémica, causada total o parcialmente por la bacteria *Escherichia coli*. Estas infecciones incluyen condiciones tales como: Enfermedad Respiratoria Crónica Complicada, Colisepticemia, Onfalitis Coliforme o Infección del Saco Vitelino, Síndrome de la Cabeza Hinchada, Salpingitis Coliforme, Panoftalmatitis Coliforme, Celulitis Coliforme, Coligranuloma o enfermedad de Hjarre, Meningitis Coliforme, Osteomielitis. (18)

Cuadro 1. Factores predisponentes para el desarrollo de una infección por <i>E. coli</i>
Factores Predisponentes
<p>PARASITOS <i>Ascaridia dissimilis, Ascaridia galli, Eimeria brunetti, Eimeria tenella, Cryptosporidium baileyi, Histomonas meleagridis, D. gallinae.</i></p>
<p>AMBIENTALES Agua contaminada, exceso de partículas de polvo, restricciones de agua y/o comida, ventilación inadecuada, gases, temperaturas extremas, exceso de ruido, superpoblación, etc.</p>
<p>FISIOLOGICOS Edad, periodo de pico de puesta, estrés, picaje, nerviosismo.</p>

Fuente: (Barnes et al., 2003) Colibacilosis Diseases of Poultry.

4.3.3 Importancia Económica

En conjunto, las infecciones provocadas por la *E. coli*, son responsables de grandes pérdidas económicas para la industria avícola. La colibacilosis es la enfermedad más frecuentemente reportada en las encuestas de enfermedades aviares y la causa más común de decomisos en los mataderos. Por ejemplo, el

43% de las canales de pollo desechadas en las plantas de procesamiento son provocadas por colisepticemias. (18,22)

4.3.4 Incidencia y Distribución

La colibacilosis se encuentra ampliamente distribuida en la industria avícola de todo el mundo, su relevancia económica de mayor importancia en pollo de engorde, radica en las graves pérdidas provocadas por:

- Retraso en el desarrollo
- Aumento de la conversión alimenticia
- Aumento de la mortalidad
- Aumento de las aves de desecho
- Incremento de los decomisos en matadero

En el caso de las aves de postura y reproductoras las pérdidas consisten en:

- Descenso en la producción de huevo
- Disminución de la incubabilidad
- Aumento de los porcentajes de mortalidad y aves de desecho (18,22)

4.3.5 Etiología de la Enfermedad

Escherichia coli es una bacteria Gram negativa en forma de bacilo, que normalmente se encuentra en los intestinos de las aves. Entre los elementos constitutivos de su estructura, además de la pared bacteriana, se destacan los pili o fimbrias, la cápsula, los flagelos peritricos y la membrana externa. La cápsula está constituida por polisacáridos que, de acuerdo con variaciones cuali y

cuantitativas en los monosacáridos que los componen, originan una amplia gama de antígenos “K”.

4.3.5.1 Propiedades bioquímicas: Produce ácido y gas en glucosa, lactosa, maltosa, manitol, xilosa, glicerol, sorbitol y arabinosa, pero no en dextrina, almidón o inositol. Es variable la fermentación de adonitol, sacarosa, salicina, rafinosa y dulcitol. *E. coli* ocasiona reacciones positivas al rojo de metilo y negativa a Voges-Proskauer. (19)

4.3.5.2 Estructura antigénica: Se encuentran varios serotipos de *E. coli* según su estructura antigénica y su relación antigénica con otras especies. Su clasificación incluye más de 154 serotipos a antígeno O, 89 a antígeno K y 49 a antígeno H.

4.3.5.2.1 Antígeno O

El antígeno O somático es la endotoxina liberada en la autólisis de células lisas. Se compone de un complejo de polisacáridos fosfolípidos con una fracción proteínica resistente al calentamiento.

4.3.5.2.2 Antígeno K

Los antígenos K capsulares son ácidos poliméricos que contienen 2% de carbohidratos reductores. Están relacionados con la virulencia se encuentran en la superficie de la célula, interfieren con la aglutinación o pueden removerse mediante calentamiento.

4.3.5.2.3 Antígeno H

Los antígenos H flagelares no se emplean a menudo en la identificación antigénica de *E. coli* aislada y no se correlacionan con patogenicidad. (19)

4.3.6 Periodo de Incubación

El periodo de incubación varía de 12 horas a 5 días, siendo lo habitual un periodo de 12 a 72 horas. La vía de transmisión es mediante ruta fecal-oral, es decir por ingestión de alimentos o bebida contaminadas por excrementos. (18)

4.3.7 Transmisión

4.3.7.1 Transmisión horizontal:

Directa: por contacto con materia fecal

Indirecta: a través de aguas, materiales o ambientes contaminados.

4.3.7.2 Transmisión vertical: A través de la yema. (18,22)

4.3.7.3 Transmisión Aerógena: Las cepas patógenas pueden diseminarse ampliamente por la formación de aerosoles a partir de las heces contaminadas y adherirse a las células de los epitelios y provocar daños. (18)

4.3.7.4 Vectores mecánicos: Con el ambiente contaminado, es muy fácil que la bacteria se disemine hacia sitios cercanos mediante vectores mecánicos tales como aves migratorias de vida libre, personas, perros, gatos, roedores, moscas y otros insectos (18,22)

4.3.8 Síntomas de la Enfermedad

Los síntomas van a depender en donde se localice el agente etiológico.

4.3.8.1 Colisepticemia: Por lo general las más afectadas son las aves entre 4 y 12 semanas de edad, y el primer signo parece ser una disminución en el consumo de alimento, lo cual va seguido por la depresión evidente de las aves, plumas erizadas. Las aves afectadas presentan respiración rápida laboriosa, con ocasional jadeo y un típico estornudo. La morbilidad y

mortalidad son variables; las pérdidas, por lo general son menos de 5% del grupo, aunque la morbilidad puede ser más de la mitad. Después de que los signos clínicos han disminuido, las características del grupo afectado ya no son regulares lo que se traduce es una comercialización insatisfactoria y da origen a una alta proporción de canales con bajas calificaciones para la venta. (18,22)

4.3.8.2 Hallazgos en la necropsia: Las lesiones macroscópicas son muy evidentes y típicas como saculitis respiratoria, peritonitis, peri-hepatitis y pericarditis. El dato principal es un cadáver septicémico con hígado, bazo, pulmones y riñones oscuros y congestionados. Los sacos aéreos están engrosados, con depósitos caseosos blancos y opacos adheridos. Se observa una pericarditis fibrinosa con el saco pericárdico engrosado y blanco adherido a la superficie del corazón. La superficie del hígado casi siempre está cubierta por una piel de material fibrinoso. La colisepticemia puede diagnosticarse de manera confiable después de una necropsia general. Sin embargo, el diagnóstico se puede confirmar mediante el aislamiento de un crecimiento de *E. coli* de cultivos directos de corazón, hígado, pulmones y sacos aéreos. (18)

4.3.8.3 Patogénesis: *E. coli* siempre se encuentra en el aparato digestivo de las aves, de modo especial en grandes cantidades en la parte inferior del intestino y en los ciegos. Los serotipos que causan con más frecuencia colisepticemia también parecen encontrarse en garganta y tráquea superior. Estas *E. coli* patógenas invaden el cuerpo del ave a partir del aparato respiratorio, para dar lugar al trastorno típico de la enfermedad. (18)

4.3.8.4 Peritonitis del huevo: Se acostumbra describir como peritonitis del huevo a varios trastornos reproductivos en las aves, las cuales incluyen peritonitis, salpingitis e impactación del oviducto. La necropsia puede revelar restos de yema, yema condensada, material caseoso o líquido lechoso en la cavidad abdominal, junto con inflamación y distorsión de los ovarios y salpingitis. Estas enfermedades pueden localizarse alrededor del ovario o del oviducto, o presentarse como un abdomen distendido con una masa de material caseoso de olor desagradable. De manera alterna, el oviducto puede estar obstruido por material de restos inflamatorios condensados, el cual algunas veces puede producir la rotura de la pared del oviducto. Casi siempre, en tales casos se puede aislar *E. coli* de un crecimiento profuso del oviducto y del material caseoso. (18,22)

4.3.8.5 Infección del saco vitelino

Enfermedad del pollo gelatinoso, onfalitis: Este trastorno se considera como la principal mortalidad en pollitos durante la primera semana después de la incubación. Se considera que la bacteria *E. coli* puede estar implicada, ya sea como agente causal primario, único o como oportunista secundario. La infección del saco vitelino puede relacionarse con un cordón inflamado, engrosado, donde la vía de infección es un cordón umbilical sin sanar, o las bacterias pueden multiplicarse en el huevo incubado después de la contaminación fecal del cascarón. La infección del saco vitelino puede causar 100% de mortalidad en aves durante la primera semana de edad, pero las muertes por lo general son de 5 y 10%. (18)

4.3.8.6 Coligranuloma o Enfermedad de Hjarre: Por lo general, este trastorno se presenta como causa de muerte esporádica en aves adultas. Los

signos clínicos no son específicos y las aves afectadas por lo común se encuentran muertas, o mueren después de depresión y pérdida de condición.

En la necropsia se muestran granulomas nodulares amarillos y duros en el mesenterio y la pared del intestino y de manera particular en los ciegos. Algunas veces el hígado se afecta de modo similar y se encuentra duro, nudoso, descolorido e hinchado. (18)

4.4 Diagnóstico

4.4.1 Cultivo Bacteriológico

Generalmente se puede diagnosticar colibacilosis mediante un crecimiento profuso de *E. Coli* de cultivos directos de corazón, hígado, pulmones, sacos aéreos, intestinos, oviducto y material caseoso. Debe sembrarse el material en medios como azul de metileno eosina (AME), MacConkey, o tergitol 7 agar, así como en medios no inhibitorios. Deben tomarse las precauciones necesarias para evitar la contaminación fecal de las muestras a cultivar. Puede hacerse un diagnóstico supuesto de infección por *E. coli*, si gran parte de las colonias son de modo característico oscuras y con brillo metálico en agar AME, rosa brillante con precipitación en el medio de agar MacConkey y amarillas en tergitol 7 agar. (18,22)

4.4.2 Diagnóstico Diferencial.

- Newcastle
- Bronquitis Infecciosa
- Laringotraqueítis Infecciosa Aviar
- Coriza Infeccioso

- Cólera Aviar.

4.5 Control preventivo.

Para el control de la colibacilosis aviar es a partir de las buenas prácticas de bioseguridad de los galpones desde el punto de higiene sanitario, limpieza y ventilación del galpón, y de no entrar a otros galpones. (18)

En general, mejorar la higiene el manejo, medicación después de realizar test de sensibilidad y vacunación con vacunas inactivadas efectivas contra los serotipos 02:k1 y 078:k80, una vacuna inactivada 078 protege a los patos (18).

Las vacunas multivalentes a partir de fimbrias que tienen bajas cantidades (180 µg) de proteína por dosis, reducen la severidad de la infección. El suero absorbido indica que las fimbrias de los serotipos 01, 02 y 078 son antigénicamente diferentes. La inmunización pasiva resulta en una depuración aumentada de bacterias de la sangre y resistencia elevada al desafío de los aerosoles. La infección por *E. coli* en las vías respiratorias de las aves, puede ser menor si aumentan las aves libres de *Mycoplasma* y se reduce su exposición a los virus que ocasionan enfermedades respiratorias. Una adecuada ventilación reducirá el daño y exposición de las vías respiratorias. (18)

Las cepas patógenas de *E.coli* pueden excluirse por completo de los intestinos de pollitos al agregarles microbiota nativa proveniente de pollitos resistentes. La infección con *Mycoplasma gallisepticum* o virus de Bronquitis Infecciosa induce a los pollos protegidos a diseminar *E. coli*. (18)

La fuente más importante para la transmisión de *E.coli* patógena entre parvadas, es la contaminación fecal de los huevos incubables. Puede disminuirse la transmisión al fumigar o desinfectar los huevos dentro de las dos primeras horas

después de haber sido puestos y descartando los huevos quebrados o aquellos con obvia contaminación fecal. Los pollitos contaminados sobreviven mejor si se les conserva calientes y con alimento. De manera aparente las dietas altas en proteína y elevadas cantidades de vitamina E favorecen la supervivencia. (18)

4.6 Tratamiento:

E. coli puede ser sensible a muchos fármacos como ampicilina, clortetraciclina, neomicina, nitrofuranos, gentamicina, ormetriprimi-sulfadimetoxina, ácido nalidíxico, oxitetraciclina, polimixina B, espectomicina, estreptomicina y sulfas. Muchas veces los aislamientos de *E. coli* de aves son resistentes a uno o más fármacos. Es importante determinar la sensibilidad de *E. coli* implicadas en un brote de enfermedad, de tal manera que se puedan evitar los fármacos no eficaces, aún los muy eficaces, tal vez no resulten en mejoría de la parvada, si se utilizan de manera inadecuada no pueden llegar al sitio de infección. (18)

4.6.1 Mecanismo de resistencia de *E. coli* a los antimicrobianos

La resistencia a antimicrobianos es un problema de salud pública. Los mecanismos pueden ser intrínsecos o adaptativos. Los primeros pueden capacitar a la bacteria para que produzca enzimas que destruyan al fármaco antibacteriano, expresar sistemas de excreción que eviten que el fármaco alcance su blanco intracelular, modificar el sitio blanco del antimicrobiano o generar una vía metabólica alterna que evite la acción del fármaco. Entre algunos mecanismos encontramos las adaptaciones fenotípicas, sea por el estado metabólico de la bacteria, o por ser secundaria a su capacidad de producir biopelículas. Las resistencias presentes en ciertos microorganismos a antibióticos utilizados en sanidad animal y la salud humana, están adquiriendo cada vez más relevancia, hasta tal punto de preocupar seriamente a la comunidad científica y poner en tela de juicio un futuro cercano donde los tratamientos antibióticos sean ineficientes,

como consecuencia de una mala prescripción y uso de estos fármacos. Estas resistencias microbiológicas tienden a hacer más difícil el tratamiento de ciertas enfermedades cuya cura necesita cada vez más, el uso de nuevos y más caros antibióticos. Dado que los antibióticos utilizados en veterinaria como en medicina humana son los mismos, las resistencias cada vez más frecuentes, afectan en ambos sentidos, tanto a humanos como a animales. Si bien se piensa que el mal uso de estos antibióticos en el tratamiento humano de enfermedades, es uno de los factores más importante a la hora de la aparición de estas resistencias, también se considera relevante el incorrecto tratamiento antibiótico en salud animal.

La resistencia en *E. coli* es un indicador de niveles de resistencia en la microbiota intestinal. Esta bacteria comensal resistente puede contribuir al intercambio de genes entre bacterias comensales y patógenas. Las cepas comensales no producen enfermedad intestinal y sólo causan infección cuando existen factores favorecedores, como inmunosupresión en los animales. (13)

Cuadro 2. Frecuencia de las principales resistencias bacterianas a los antibióticos

<i>E.</i>	Resistencia a	Datos importantes	Tasas de resistencia encontradas
<i>c</i>	Ampicilina	Tasas altas de resistencia en <i>Gallus gallus</i> .	20-64%
	Tetraciclinas		
	Sulfonamida		
<i>l</i>	Ciprofloxacina	Tasas altas en <i>Gallus gallus</i>	47%
<i>i</i>	Ac. nalidíxico	Moderado en <i>Gallus gallus</i>	

Fuente:

- EARSS (European antimicrobial resistance surveillance system) Informe anual 2008, Resistencia Antimicrobiana

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Área de trabajo:

- Laboratorio de Referencia Regional de Sanidad animal (LARRSA), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), USAC.
- 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:

- 01 Estudiante tesista
- 3 Asesores
- Personal de los laboratorios en donde se realizó la fase experimental.

5.3 Recursos Biológicos:

- Cepas de *E. coli* aisladas a partir de necropsias de aves con sintomatología y/o lesiones gastrointestinales de colisepticemia.
- Extractos etanólicos de las plantas seleccionadas para el estudio: Orégano, *Lippia graveolens HBK* (hojas) y Guayaba, *Psidium guajava* (hojas).

5.4 Materiales y equipo

5.4.1 Materiales para necropsias

- Aves (*gallus gallus*), gallinas.
- Equipo mínimo de cirugía
- Bata

- Guantes de látex
- Hojas de bisturí
- Papel periódico
- Cámara fotográfica
- Algodón
- Asa de nicromo

5.4.2 Materiales para siembra:

- Medios de cultivo: Agar MacConkey y Agar sangre.
- Pruebas bioquímicas: IMVic (SIM, Caldo MRVP y Simmons Citrato)

5.4.3 Materiales para extractos:

- Campanillas de Durham
- Cajas de Petri simples y cuadriplate
- Cámara de Neubauer
- Equipo de percolación de acero inoxidable
- Mechero
- Papel filtro
- Papel parafilm
- Pipetas automáticas
- Plantilla para siembra
- Puntas de 200 y 100 μL
- Puntas de 10, 100 y 1000 μL
- Regla graduada en mm
- Balanza analítica
- Campanas bacteriológicas con flujo laminar
- Equipo de rotavapor

5.4.4 Cristalería:

- Balones aforados
- Beakers
- Erlenmeyers
- Tubos con tapón de rosca
- Viales
- Agitador
- Incubadora a 37 °C.
- Refrigeradora

5.4.5 Reactivos

- Solventes: Agua desmineralizada, etanol al 50%
- Solución salina isotónica
- Medios de cultivo: Caldo tripticasa soya, agar Muller Hinton, agar-planta.
- Caldo BHI

5.5 Metodología

5.5.1 Obtención y selección de las cepas

Se utilizaron aislamientos de la bacteria *Escherichia coli*, proveniente de necropsias de aves domésticas (*Gallus gallus*) sospechosas y/o enfermas de Colibacilosis, que fueron llevadas al Laboratorio de Referencia Regional de Sanidad Animal (LARRSA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Se realizaron cultivos directos de corazón, hígado, pulmones y sacos aéreos; la siembra de las muestras se realizó directo en agar Macconkey y agar sangre, luego se llevaron a incubación a 37° C por 24hrs y por último se procedió a

realizar pruebas Bioquímicas: IMViC (SiM, Caldo MRVP y Simmons Citrato) en el laboratorio de Microbiología (FMVZ), USAC.

5.5.2 Selección de las plantas

- En el estudio fueron incluidas dos plantas nativas guatemaltecas, seleccionadas por su uso etno-médico.
- Su amplia distribución en el país.
- La actividad antimicrobiana comprobada en estudios realizados en cultivos bacterianos de enfermedades entéricas en medicina humana.

5.5.3 Obtención de los extractos

- Los extractos fueron elaborados en el departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.

5.5.4 Obtención del material vegetal

- Se obtuvo comercialmente el material vegetal para la elaboración de los extractos en el Laboratorio de Productos Naturales, FARMAYA S.A. en donde se encuentra la procedencia y número de herbario del material vegetal utilizado. (Tabla 1).

Cuadro No. 3 Nombre científico, nombre común, número de herbario y procedencia de las plantas.

Nombre de la planta	Nombre común	No. de herbario	Procedencia
<i>Lippia graveolens</i> HBK	Orégano	604	San José Calderas, Chimaltenango
<i>Psidium guajava</i>	guayaba	210	San José Pinula, Guatemala

Fuente: (Chávez, 2010)

5.5.5 Selección del Antibiótico

Se determinó la relación dosis efecto de antibióticos, para lo cual se realizaron antibiogramas de cada una de las cepas de *E. coli* aisladas para determinar qué antibiótico se iba a utilizar como control positivo, debido a mayor sensibilidad antimicrobiana, su amplio uso clínico y el espectro sobre bacterias Gram negativas se eligió gentamicina al 10% y preparé concentraciones al 10µg/mL, 100µg/mL y 1000µg/mL. (Tabla 2)

5.5.6 Preparación de los extractos

Se produjeron los extractos etanólicos de *Lippia graveolens* HBK y *Psidium guajava* en el Laboratorio de Bioensayos de dicho departamento. Se obtuvo el material vegetal a partir de crecimiento comercial en el Laboratorio FARMAYA S.A.

Se secó el material vegetal, se molió y se colocó en el percolador para realizar la extracción etanólica por percolación siguiendo los criterios descritos por Kuklinski (2000) y Sharapin (2000). Se concentró el extracto en el rotavapor y luego en desecadora según el procedimiento, en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Se llevó a cabo la evaluación de las actividades antibacterianas en el Laboratorio de Microbiología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ), USAC.

5.5.7 Determinación de la actividad antibacteriana (Fase de tamizaje)

Se determinó la actividad antibacteriana por el método de dilución (Mitscher *et al.* 1972). Para la preparación del inóculo se purificaron las cepas bacterianas, se sembraron en agar sangre y se incubaron por 24 horas. Luego se

tomó una asada de cada cultivo y se inóculo en caldo BHI incubándolos a 37°C por 24 horas. De estas soluciones se tomaron 0.05 ml y se diluyeron cada una en 4.95 ml de solución salina estéril (1:100) y se homogenizaron para sembrar en cajas de petrí.

Se preparó el agar-planta, agregando 1 mL de la solución del extracto disuelto a una concentración de 10 mg/mL, en cajas de petrí estériles con 9 mL de agar Mueller Hinton, para obtener una concentración final de 1 mg/mL dejando solidificar e incubando durante 24 horas a 37°C para comprobar esterilidad.

5.5.8 Siembra en agar planta

Se sembró en agar-planta una asada de cada uno de los inóculos diluidos en el caldo BHI de forma radial (Figura4) haciendo cuatro radios por microorganismo (Figura 5 y 6) se dejó reposar de 5-10 minutos y se incubaron a 37°C por 24 horas para evaluar la propiedad antibacteriana. Los resultados fueron interpretados de acuerdo al crecimiento obtenido (Figura 8) (Chávez, 2010).

5.5.9 Preparación del control positivo (a la inhibición).

Los controles positivos se prepararon mezclando 9 mL de agar Müller Hinton, con las diferentes concentraciones del antibiótico seleccionado, en base al historial de sensibilidad antimicrobiana, su amplio uso clínico y el espectro sobre bacterias Gram negativas el antibiótico que se utilizó fue gentamicina. Las concentraciones utilizadas fueron 10 µg/mL (1%) lo que equivale a 0.01mL del antibiótico, 100 µg/mL (10%) lo que equivale a 0.1 mL y 1,000 µg/mL (100%) lo que equivale a 1 mL del antibiótico; en las cajas de Petri, se homogenizaron y dejaron enfriar a temperatura ambiente, para posteriormente incubarlos por 24 horas a 37°C. En el control positivo no debe haber crecimiento bacteriano. (Figura 7)

5.5.10 Preparación del control negativo (a la inhibición).

Los controles negativos se prepararon mezclando 9 mL de agar Mueller Hinton y 1mL de agua desmineralizada estéril en las cajas de petrí, se homogenizaron y dejaron enfriar a temperatura ambiente para posteriormente incubarlos por 24 horas a 37°C. En el control negativo debe haber crecimiento bacteriano. (Figura 6 y 8)

5.5.11 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

Se determinó la concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de los extractos con actividad positiva, utilizando cajas cuadrilate con 1, 0.5 y 0.25 mg/mL. Se inocularon las cajas con tres estrías en cada uno de los cuadrantes se incubó a 37°C durante 24 horas. La actividad antimicrobiana de extractos de plantas se determina mediante la evaluación de la menor concentración del extracto. (Los extractos de orégano y guayaba). Para inhibir el crecimiento bacteriano; este valor es conocido como Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) y se realiza mediante la técnica de macrodilución. (Hernández et al; 2009).

5.5.11.1 Técnica de Macrodilución: Se utilizan cajas cuadrilate, haciendo diluciones seriadas hasta encontrar la concentración mínima a la que las bacterias son inhibidas. El procedimiento se describe a continuación.

Se prepararon tubos de ensayo con 4, 3.9, 3.8 y 3.6 mL de agar Muller Hinton, posteriormente fueron esterilizados y enfriados en baño María a 37°C. Luego se procedió a agregar los 4 mL de agar en el cuadrante superior izquierdo de la caja cuadrilate el cual se tomó como control negativo (crecimiento); en el cuadrante superior derecho se agregaron 3.6 mL de agar Mueller Hinton más 400 µl (0.4mL) de la solución de cada extracto, lo que corresponde a 1.0 mg/mL (1%). En el cuadrante inferior derecho se agregaron 3.8 mL de agar Mueller Hinton más 200 µl (0.2mL) de la solución de cada extracto, lo que corresponde a 0.5 mg/mL (0.5%) y en el

cuadrante inferior izquierdo se agregaron 3.9 mL de agar Mueller Hinton más 100 μ l (0.1mL) de la solución de cada extracto, lo que corresponde a 0.25 mg/mL (0.25%). (Figuras 9 y 10).

5.6 Análisis de datos

Para determinar la existencia de actividad antibacteriana (antibiótica) de cada uno de los extractos de plantas en estudio Orégano y Guayaba (*Lippia graveolens*, HBK y *Psidium guajaba*). Se utilizó estadística descriptiva y la presentación de resultados se realizó por medio de cuadros.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La importancia de la presente investigación radica en comprobar la eficacia antimicrobiana de dos extractos de plantas Orégano (*Lippia graveolens*) y Guayaba (*Psidium guajava*) como alternativas naturales, eficaces, económicas y disponibles sobre *Escherichia coli* como principal causa de colibacilosis en aves domésticas (*gallus gallus*); por medio de la técnica de macrodilución tomando como base el método de dilución descrito por Mitscher *et al.*, 1972.

Las plantas utilizadas se seleccionaron en base a estudios de etnofarmacología en humanos, ausencia de información sobre la actividad de las plantas contra patógenos en animales de producción y por ser nativas del país.

Para evaluar la actividad antibacteriana se utilizó el método de dilución (Mitscher *et al.*, 1972), este método es viable y reproducible para poder evaluar la actividad antibacteriana, por lo que es importante saber que si es aplicable para la realización de bioensayos contra patógenos en Medicina Veterinaria.

La técnica de dilución se compone de dos fases; la primera fase se denomina fase de pretamizaje y la segunda fase de diluciones seriadas para así poder determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM).

El pretamizaje es una serie de ensayos biológicos generalmente *in vitro* que dan una idea preliminar de la posible bioactividad de un extracto crudo, fracción purificada o principio activo, las técnicas de pretamizaje pretenden orientar al investigador con técnicas relativamente sencillas, que no involucren animales y que puedan realizarse un número grande de muestras en forma rápida, sencilla, reproducible y de bajo costo. (Cáceres, 1996)

Se determinó la relación dosis-efecto utilizando un fármaco antimicrobiano de uso clínico más común contra bacterias gram negativas, para validar el método y así poder determinar la concentración ideal a utilizar como control positivo en el estudio. Los resultados demostraron que los controles positivos más adecuados fueron gentamicina a la concentración de 10µg/mL (1%) contra todas las cepas de *E. coli* en estudio. 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 antibacteriana.

En la fase de tamizaje del ensayo se mostró susceptibilidad de las cepas contra los extractos de plantas en estudio Orégano (*Lippia graveolens* HBK) y Guayaba (*Psidium guajava*).

Se determinó que la eficacia de los extractos en estudio; Orégano (*Lippia graveolens* HBK) inhibió el 90% del crecimiento de *Escherichia coli* y Guayaba (*Psidium guajava*) inhibió el 100% del crecimiento. Por lo que de ambos extractos *Psidium guajava* es completamente efectivo como antimicrobiano debido a que de las 10 siembras realizadas en el estudio hubo inhibición del 100% de las muestras.

6.1 Determinación de la actividad antibacteriana

6.1.1 Determinación de la relación dosis-efecto del antibiótico utilizado en el control positivo

Se prepararon tres concentraciones del antibiótico gentamicina, para determinar la relación dosis-efecto, así determinar la concentración a la cual es efectivo contra los microorganismos en estudio y así validar el método. Las concentraciones utilizadas de gentamicina fueron 10, 100 y 1000µg/mL (Tabla 4).

**Cuadro No. 4 Determinación de la relación dosis-efecto de gentamicina
(10,100 y 1000µg/mL).**

Antibiótico y concentración	Microorganismo									
	<i>Escherichia coli</i> (cepa 1)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 2)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 3)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 4)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 5)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 6)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 7)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 8)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 9)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 10)
Gentamicina 10µg/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gentamicina 100µg/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gentamicina 1000µg/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) = No hay crecimiento o actividad antimicrobiana positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad antimicrobiana negativa

Fuente: datos experimentales

La gentamicina a la concentración de 10, 100 y 1000µg/mL tuvo actividad positiva sobre todas las cepas de *Escherichia coli* en estudio.

Se determinó la relación dosis-efecto del fármaco antimicrobiano de uso clínico más común contra bacterias Gram negativas, para validar el método y así poder determinar la concentración ideal a utilizar como control positivo en el estudio.

Los resultados demostraron que los controles positivos adecuados fueron de gentamicina a las concentración de 10µg/mL contra todas las cepas de *Escherichia coli* en estudio. 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 antimicrobiana.

6.1.2 Fase de tamizaje y/o actividad antibacteriana

Se determinó la actividad de cada uno de los extractos obtenidos contra las bacterias Gram negativas de *Escherichia coli* aisladas a partir de necropsias realizadas en el Laboratorio de Referencia Regional de Sanidad Avícola (LARRSA) (Tabla 5)

En la fase de tamizaje del estudio se mostró susceptibilidad de todas las cepas contra los dos extractos, con excepción de la cepa 8 la cual mostró crecimiento o actividad negativa.

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* presentó actividad contra todas las cepas de *Escherichia coli* en estudio a excepción de la cepa 8 la cual presentó crecimiento o actividad antimicrobiana negativa.

El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad contra todas las cepas de *Escherichia coli* en estudio.

6.1.3 Determinación de la CIM

Se realizó la CIM de los extractos que presentaron actividad en la fase de tamizaje, a excepción de la cepa 8 la cual no se le realizó CIM del extracto de *L. graveolens* porque no presentó actividad en la fase de tamizaje. (Tabla 6)

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* fue activo contra todas las cepas de *Escherichia coli* en estudio a la concentración de 400µg/mL, a la

concentración de 200µg/mL únicamente las cepas 5, 6 y 7 fueron activas. La cepa 8 no se le realizó CIM porque presentó actividad negativa en la fase de tamizaje. Esta actividad se atribuye según Budavari (1989) al carvacrol, compuesto que según Ultee *et al.* (1999), actúa en parte alterando la permeabilidad de la membrana celular de los microorganismos susceptibles. Según lo reportado por el estudio y en base a que una de las cepas no presentó actividad se puede deber a factores como el origen de la cepa, mecanismos de resistencia adquiridos por la bacteria, posiblemente a nivel de membrana celular, impidiendo el ingreso de compuestos presentes en el extracto y de esta manera bloquear el mecanismo de acción del carvacrol.

El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad contra todas las cepas bacterianas de *Escherichia coli* en estudio, teniendo el menor valor de CIM de 200µg/mL. Esta actividad se atribuye según Bérdy *et al.* (1982) y Hui (1955), a flavonoides como la avicularina, guayaverina y quercetina, de los cuales Cushnie y Lamb (1995) sugieren que actúan en parte inhibiendo a la enzima ADN girasa.

Debido a la actividad obtenida con este extracto, se puede considerar una alternativa fitoterapéutica para el tratamiento de colibacilosis en aves domésticas (*Gallus gallus*).

Al incluir más de una cepa del microorganismo en estudio fue posible identificar el espectro de acción de los extractos de las plantas evaluadas, y de esta manera conocer la efectividad del extracto que podría utilizarse clínicamente a nivel de campo.

La información que se generó con el estudio valida la actividad biológica de las plantas estudiadas en medicina veterinaria. Por lo tanto este estudio es punto de partida para otras investigaciones, ya que es necesario validar otras

actividades biológicas en las plantas estudiadas y otras opciones fitoterapéuticas, para patologías tanto en animales de producción como en animales de compañía.

Cuadro No. 5 Actividad antibacteriana de las plantas en estudio en la fase de tamizaje y/o actividad antibacteriana

Planta	Disolvente	Microorganismo									
		<i>Escherichia coli</i> (cepa 1)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 2)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 3)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 4)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 5)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 6)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 7)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 8)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 9)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 10)
<i>L. graveolens</i>	Etanol (EtOH)	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
<i>P. guajava</i>	Etanol (EtOH)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) = No hay crecimiento o actividad antimicrobiana positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad antimicrobiana negativa

Fuente: datos experimentales

Cuadro No. 6 Determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de la actividad antibacteriana de las plantas en estudio ($\mu\text{g/mL}$)

Planta	Disolvente	Microorganismo									
		<i>Escherichia coli</i> (cepa 1)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 2)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 3)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 4)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 5)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 6)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 7)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 8)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 9)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 10)
<i>L. graveolens</i>	Etanol (EtOH)										
400 $\mu\text{g/mL}$ (1%)	Concentraciones	+	+	+	+	+	+	+		+	+
200 $\mu\text{g/mL}$ (0.5%)		-	-	-	-	+	+	+		-	-
100 $\mu\text{g/mL}$ (0.25%)		-	-	-	-	-	-	-		-	-
Control		-	-	-	-	-	-	-		-	-
<i>P. guajava</i>	Etanol (EtOH)										
400 $\mu\text{g/mL}$ (1%)	Concentraciones	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
200 $\mu\text{g/mL}$ (0.5%)		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
100 $\mu\text{g/mL}$ (0.25%)		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) = No hay crecimiento o actividad positiva

(-) = Si hay crecimiento o actividad negativa

Fuente: datos experimentales

VII. CONCLUSIONES

- Se confirmó la actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos de plantas de orégano (*Lippia graveolens*) y guayaba (*Psidium guajava*) sobre 9 de las 10 cepas bacterianas de *Escherichia coli*.
- En la fase de tamizaje y/o actividad antibacteriana del estudio se mostró susceptibilidad de todas las cepas contra los dos extractos, con excepción de la cepa 8 la cual mostró crecimiento o actividad bacteriana negativa.
- El extracto etanólico de orégano (*Lippia graveolens*) no presentó crecimiento o actividad positiva contra todas las cepas de *Escherichia coli* en estudio a la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de 400µg/mL
- El extracto etanólico de orégano (*Lippia graveolens*) presentó la CIM antimicrobiana (CIM 200µg/mL) de menor valor únicamente para las cepas 5, 6 y 7 de *Escherichia coli* en estudio.
- El extracto etanólico de guayaba (*Psidium guajava*) presentó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de menor valor (CIM 200 µg/mL) contra todas las cepas de *Escherichia coli* en estudio.

VIII. RECOMENDACIONES

- Evaluar la actividad antibacteriana de las plantas contra microorganismos responsables de otras patologías (respiratorias, digestivas, urinarias) en otros animales de producción y/o animales de compañía.
- Incorporar un mayor número de especies bacterianas importantes en medicina veterinaria como control de otros agentes patógenos causantes de afecciones digestivas en aves domésticas (*Gallus gallus*).
- Llevar a cabo bioensayos con extractos de otras plantas medicinales que sugieran ser eficaces según estudios de etnobotánica y etnofarmacología en humanos para determinar su uso clínico en medicina veterinaria.
- Realizar estudios *in vivo* para poder determinar la eficacia antibacteriana de los extractos de plantas de *Lippia graveolens* y *Psidium guajava* administrados en el agua de bebida, para el control de Colibacilosis en aves domésticas (*Gallus gallus*).

IX. RESUMEN

El objeto del estudio fue generar información científica que respalde la fitoterapia como alternativa terapéutica en la clínica de animales de producción. Evalué la actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de las plantas *Lippia graveolens* y *Psidium guajava* contra la bacteria *Escherichia coli* aislada a partir de necropsias de aves domésticas (*Gallus gallus*).

Utilicé el método de dilución (Mitscher et al. 1972) para evaluar la actividad antibacteriana. Se demostró actividad de los dos extractos en la fase de tamizaje y/o actividad antibacteriana.

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* presento actividad contra todas las cepas de *Escherichia coli* en estudio a excepción de la cepa 8 la cual presento crecimiento o actividad antimicrobiana negativa. El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad contra todas las cepas de *Escherichia coli* en estudio.

El extracto etanólico de *Lippia graveolens* fue activo contra todas las cepas de *Escherichia coli* en estudio a la concentración de 400µg/mL, a la concentración de 200µg/mL únicamente las cepas 5, 6 y 7 fueron activas.

El extracto etanólico de *Psidium guajava* presentó actividad contra todas las cepas bacterianas de *Escherichia coli* en estudio, teniendo el menor valor de CIM de 200µg/mL.

La información generada en este estudio validó la actividad biológica de las plantas estudiadas. Además de la aplicación clínica de estos resultados, el cual es punto de partida para otras investigaciones que validen el uso de las plantas medicinales como parte del tratamiento de patologías en medicina veterinaria.

SUMMARY

The object of the study was to generate scientific information to support herbal medicine as a therapeutic alternative in the production animal clinic. I evaluated the in vitro antibacterial activity of plant extracts and *Psidium guajava* *Lippia graveolens* against *Escherichia coli* bacteria isolated from autopsies of domestic poultry (*Gallus gallus*).

I used the dilution method (Mitscher et al. 1972) to evaluate the antibacterial activity. Activity of the two extracts was demonstrated in the screening phase and / or antibacterial activity.

The ethanolic extract of *Lippia graveolens* present activity against all strains of *Escherichia coli* in the study except for strain 8 which present growth or negative antimicrobial activity. The ethanolic extract of *Psidium guajava* showed activity against all strains of *Escherichia coli* in study.

The ethanolic extract of *Lippia graveolens* was active against all strains of *Escherichia coli* in study concentration 400µg / mL, the concentration of 200µg / mL strains only 5, 6 and 7 were active.

The ethanol extract of *Psidium guajava* showed activity against all bacterial strains of *Escherichia coli* under study, having the lowest MIC value of 200µg / mL.

The information generated in this study validated the biological activity of the plants studied. In addition to the clinical application of these results, which is the starting point for further research to validate the use of medicinal plants as part of treatment of diseases in veterinary medicine.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barnes, H., Vaillancourt, J., y Gross, W. (2003). *Collibacillosis: Diseases of Poultry*. Barcelona, España: Blackwell publishing.
2. Cáceres, A. (1991). *Actividad antimicrobiana de plantas de uso medicinal en Guatemala*. Recuperado de <http://www.archivos.ujat.mx/dip/divulgacion%20y%20video%20cientifico%202008/DACA/JEspinosaM.pdf>
3. Cáceres, A. (1992). *Fichas populares sobre plantas medicinales*. Guatemala: CEMAT.
4. Cáceres, A., y Saravia, A. (1993). *Actividad Antifúngica de plantas de uso medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.
5. Cáceres, A., y Saravia, A. (1996). *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.
6. Cano, O., Samayoa, B., y Aguilar, L. (1990). *Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders*. Guatemala: Editorial Universitaria.
7. Chávez López, J.J. (2010). *Actividad antimicrobiana in vitro de seis plantas de uso medicinal sobre las principales cepas de bacterias y hongos que afectan piel y oído en perros*. Tesis de Licenciatura, Med. Vet. FMVZ/USAC: Guatemala.
8. Calnek, B.W. (1995). *Enfermedades de las aves*. México: D.F: El manual Moderno.

- 9 Cid Aldana, N.E. (2005). *Actividad de Diecisiete Extractos de Doce plantas Nativas Guatemaltecas contra Fonsecaea pedrosoi*. Tesis de licenciatura, Q. B.: FCQF/USAC: Guatemala.
- 10 Dante, B. (2009). *Mecanismo de Resistencia a Antimicrobianos en bacterias* Recuperado de <http://www.amimc.org.mx/revista/2009/2/mecanismo.pdf>
- 11 Domínguez, X.A., Sánchez, H., Suárez, M., Baldas, J.H., y González, M.R. (1989). *Chemical constituents of Lippia graveolens*. *Plan Med*. Canadá: Ernest Small.
- 12 European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2008). Resistencia bacteriana a los antibióticos. Recuperado de http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARSNet/Documents/2008_EARSS_Annual_Report.Pdf.
- 13 Figueroa, L., Taracena, A.M., y Samayoa, B. (1993). *Plants used in Guatemala for the treatment of respiratory diseases. 2: evaluation of 16 plants against Gram positive bacteria*. *J Ethnopharmacol*; 39:77-82. Recuperado de http://bvs.sld.cu/revistas/pla/vol2_1_97/pla03197.htm
- 14 Flores, R. (1997). *Atlas de las Plantas medicinales y Curativas: La salud a través de las plantas*. Barcelona; España: Cultural.
- 15 Guevara, C.I. (2001). *Plantas Medicinales Utilizadas por los Itzaes*. San José Petén, Guatemala: Asociación Bioitza.

- 16 Girón, L.M., Aguilar, G.A., Cáceres, A., & Arroyo, G.L. (1988). *Anticandidal activity of plants used for the treatment of vaginitis in Guatemala and clinical trial of a Solanum nigrescens*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- 17 House, P.R., Lagos-Witte, S., Ochoa, L., Torres, C., Mejía, T., y Rivas, M. (1995). *Plantas Medicinales comunes de Honduras*. Tegucigalpa, Honduras: UNAH/CIMN.
- 18 Jordan, F.T.W., y Pattison, M. (1998). *Enfermedades de las aves*. México: D.F: Manual moderno.
- 19 Ku Ucan, J.G. (2008). *Actividad Antimicrobiana de Extractos de plantas de Orégano (Lippia graveolens) contra microorganismos Fitopatógenos*. Recuperado de <http://ri.uaq.mx/bitstream/123456789/2285/1/RI001787.pdf>
- 20 Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Barcelona: Omega.
- 21 Márquez, A.M. (2009) *Enfermedades que afectan al aparato gastrointestinal de las aves*. Recuperado de <http://74.220.215.75 /avicultu//articulos/vprint.php?tema=san027>
- 22 Mitscher, L.A., Leu, R.P., Bathala, M.S., Wu, W.N., y Beal, J.L. (1972). *Antimicrobial agents from higher plants. Introduction, rationale and methodology*. Barcelona: Medline.
- 23 Naranjo, P. (1978). *Medicina Indígena y Popular de America Latina y Medicina Contemporánea*. Guatemala: Instituto Indigenista Nacional.

- 24 Pequeño Diccionario on Line de las Plantas Medicinales. Recuperado de <http://plantas.Metropoliglobal.com>
- 25 Ramírez, U.R., Mostacero, L.J., García, A.E., Mejía, C.F., Pelaez, P.F., Medina, C.D., y Miranda, C.H. (1988). *Vegetales empleados en medicina tradicional Norperuana*. Trujillo, Perú: Nacl Univ.
- 26 Samayoa, B., y Fletes, L. (1990). *Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones*. Guatemala: DIGI-USAC.
- 27 Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos*. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello y CYTED.
- 28 Standley, P.C., & Williams, L.O. (1950). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (5) 109-112.
- 29 Standley, P.C., & Williams, L.O (1961). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (7) 51-53.
- 30 Standley, P.C., & Williams, L.O (1970). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (9) 211–214.
- 31 Standley, P.C., & Williams, L.O (1973). Flora of Guatemala. *Fieldiana Botany*, 24 (9) 196 – 198, 289 – 291.
- 32 Smith, C.M., & Reynard, A.M. (1995). *Farmacología*. Buenos Aires, Argentina: Panamericano.
- 33 Treben, M. (1989). *Plantas Medicinales: Consejos para prevenir y curar enfermedades*. Barcelona, España: Blume.

34 Yaquián García, K.M.J. (2011). *Evaluación in vitro del efecto Antibacteriano de Extractos de seis plantas con Actividad Antimicrobiana sobre cepas bacterianas causantes de patologías respiratorias en cerdos*. Tesis de licenciatura, Med. Vet. FMVZ/USAC: Guatemala.

XI. ANEXOS

ANEXO 1

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

**Tabla 1. Determinación de la relación dosis-efecto de gentamicina 10, 100
100µg/mL**

Antibiótico y concentración	Microorganismo									
	<i>Escherichia coli</i> (cepa 1)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 2)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 3)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 4)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 5)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 6)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 7)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 8)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 9)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 10)
Gentamicina 10µg/mL										
Gentamicina 100µg/mL										
Gentamicina 1000µg/mL										

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

ANEXO 2

HOJA DE REGISTRO PARA EVALUACIÓN DE CONTROLES POSITIVOS PARA LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MINIMA (CIM)

Tabla 1. Actividad antibacteriana de las plantas en estudio en la fase de tamizaje

Planta	Disolvente	Microorganismo									
		<i>Escherichia coli</i> (cepa 1)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 2)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 3)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 4)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 5)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 6)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 7)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 8)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 9)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 10)
<i>L. graveolens</i>	Etanol (EtOH)										
<i>P. guajava</i>	Etanol (EtOH)										

(+) = 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 (µg/mL)

Planta	Disolvente	Microorganismo												
		<i>Escherichia coli</i> (cepa 1)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 2)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 3)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 4)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 5)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 6)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 7)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 8)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 9)	<i>Escherichia coli</i> (cepa 10)			
<i>L. graveolens</i>	Etanol (EtOH)													
400µg/mL (1%)	Concentraciones													
200µg/mL (0.5%)														
100µg/mL (0.25%)														
Control														

<i>P. guajava</i>	Etanol (EtOH)												
400µg/mL (1%)	Concentraciones												
200µg/mL (0.5%)													
100µg/mL (0.25%)													
Control													

(+) = Actividad positiva, no hay crecimiento

(-) = Actividad negativa, si hay crecimiento

Figura 1. Preparación de los extractos



Fuente: Elaboración propia

Figura 2. Preparación de placas con agar planta



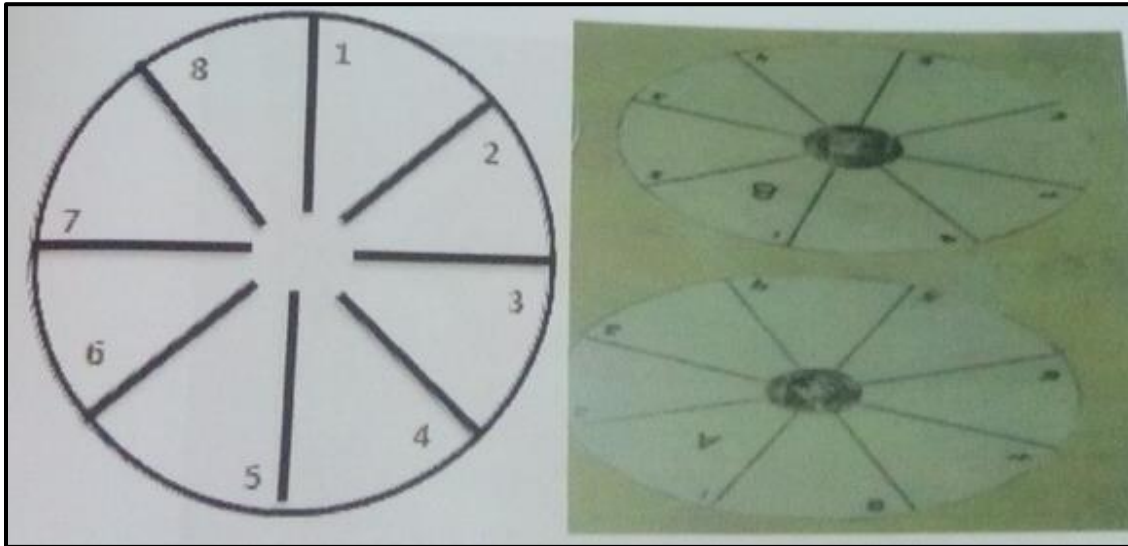
Fuente: Elaboración propia

Figura 3. Agar Planta



Fuente: Elaboración propia

Figura 4. Plantilla utilizada como guía para la inoculación en la placa de agar planta para la técnica de macrodilución



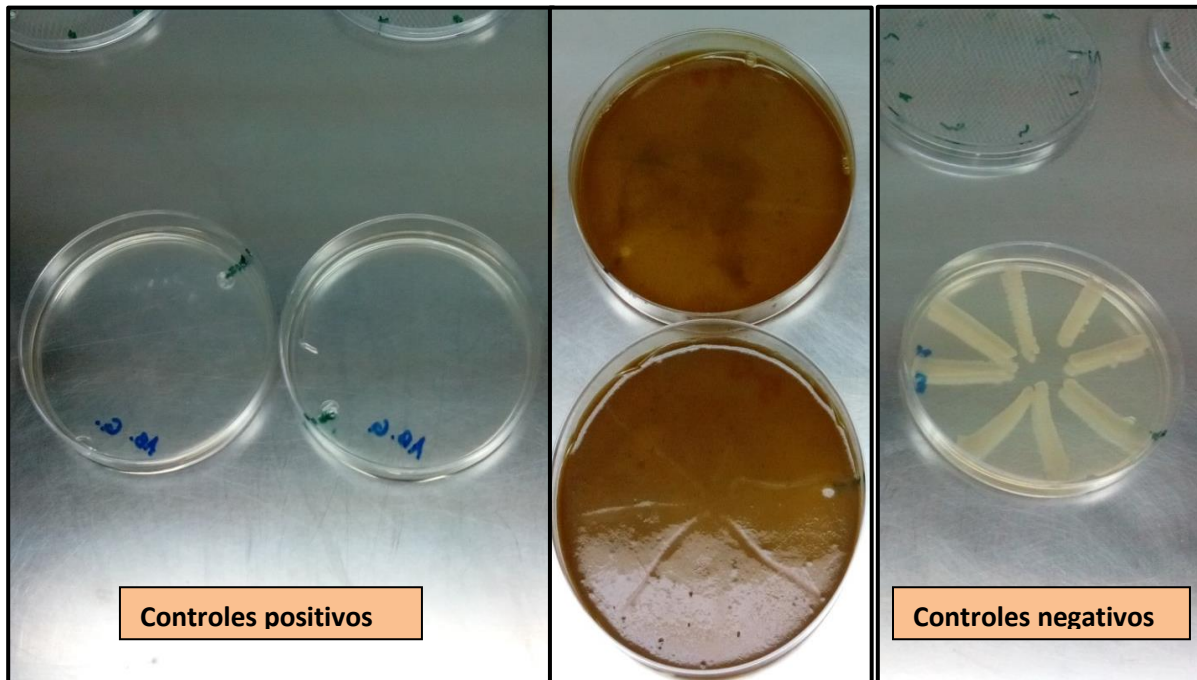
Fuente: Elaboración propia

Figura 5. Inoculación en placas de agar planta para determinación de la actividad antibacteriana



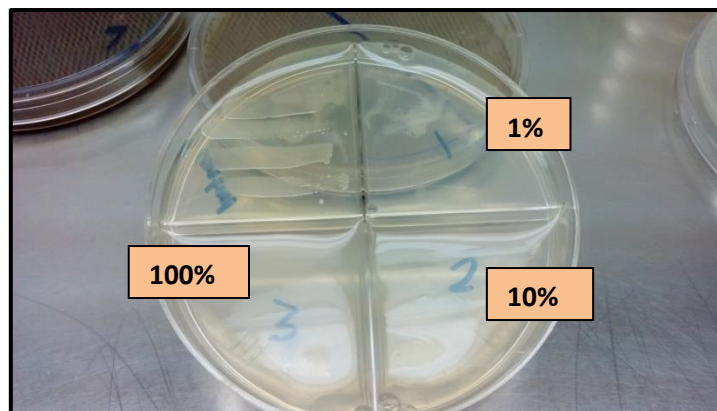
Fuente: Elaboración propia

Figura 6. Placas de agar planta sembradas con *Escherichia coli* para determinación de actividad antibacteriana. Comparación con controles positivos y negativos



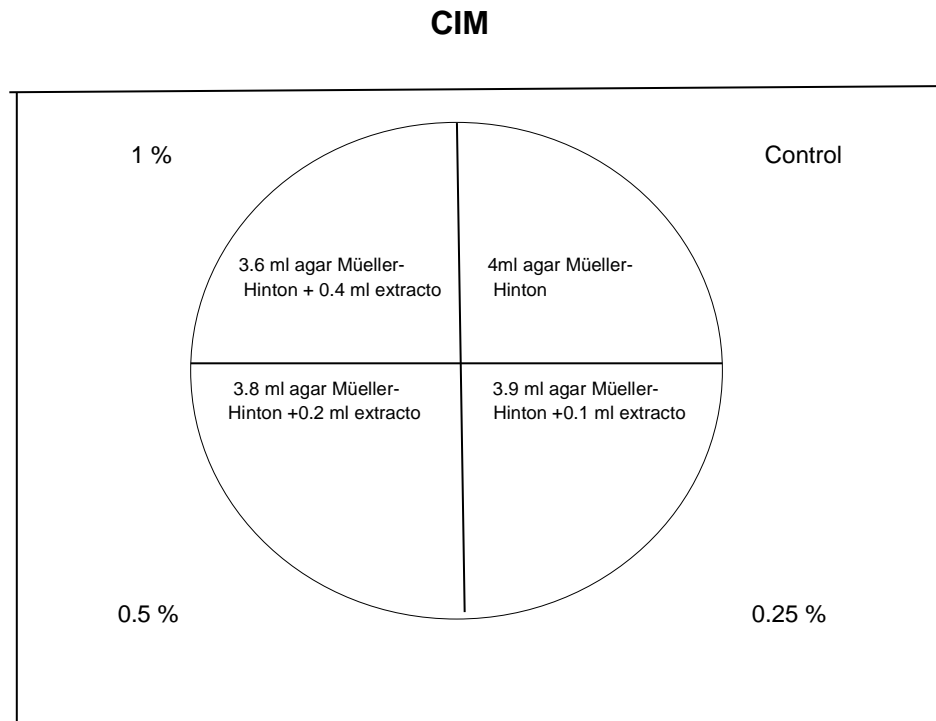
Fuente: Elaboración propia

Figura 7. Placa de agar Müeller Hinton sembrada con las diferentes concentraciones del antibiótico gentamicina (1%), (10%) y (100%)



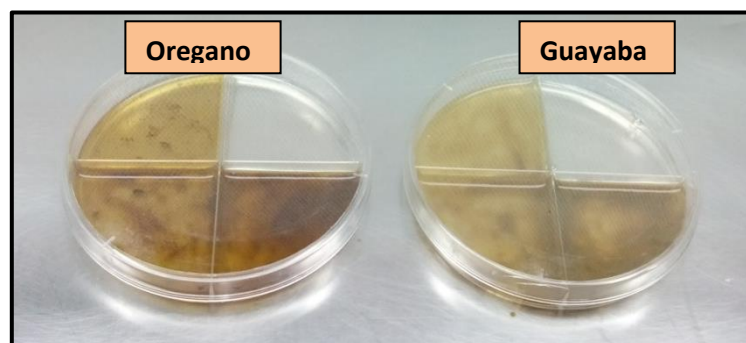
Fuente: Elaboración propia

Figura 8. Esquema para la inoculación de las cepas para determinación de la



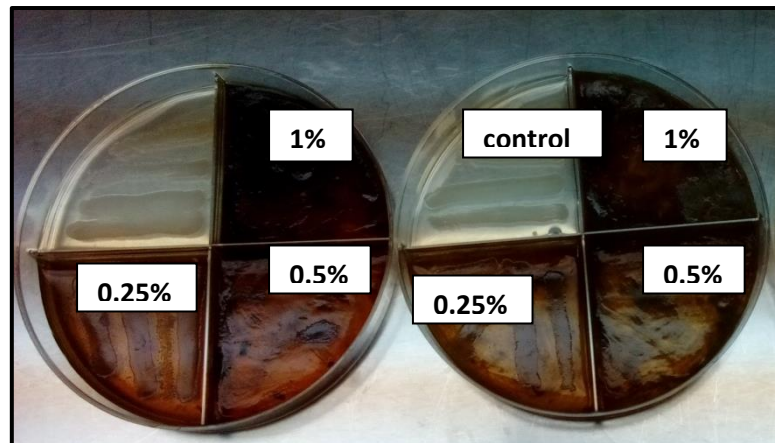
Fuente: Elaboración propia

Figura 9. Placa cuadriplate para determinación de CIM *Lippia graveolens* (Orégano) y *Psidium guajava* (Guayaba)



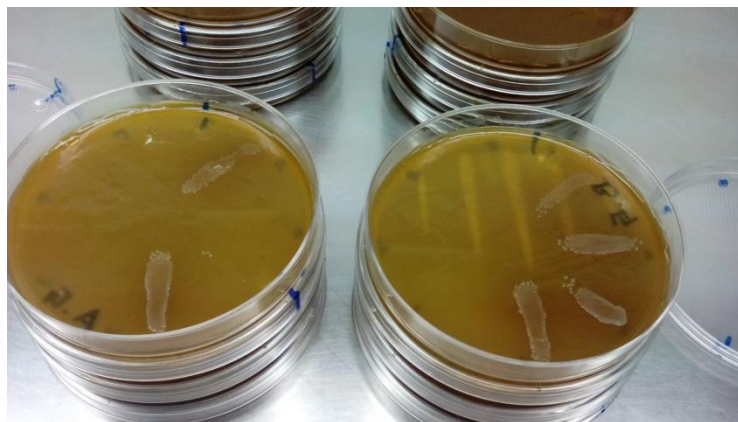
Fuente: Elaboración propia

Figura 10. Resultado de CIM de Orégano (izquierda) y guayaba (derecha) de *E. coli* habiendo crecimiento en concentración únicamente en 0.25% y control (negativo a inhibición).



Fuente: Elaboración propia

Figura 11. Placa con agar planta *Lippia graveolens* (Orégano) cepa 8 presentando crecimiento o actividad antimicrobiana negativa



Fuente: Elaboración propia

Figura 12. Resultado de CIM de *Lippia graveolens* (Orégano) cepa 9 y 10 de *E. coli* habiendo crecimiento en concentraciones 0.5%, 0.25% y control con actividad antimicrobiana negativa



Fuente: Elaboración propia

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

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DE
DOS EXTRACTOS DE PLANTAS DE USO MEDICINAL ORÉGANO
(*Lippia graveolens* HBK) Y GUAYABA (*Psidium guajava*), SOBRE
Escherichia coli; CAUSANTE DE COLIBACILOSIS EN AVES
DOMÉSTICAS (*Gallus gallus*)**

f. _____
Br. Brenda Arissy Barahona Guerra

f. _____
M.Sc. Beatriz Santizo Cifuentes
ASESOR PRINCIPAL

f. _____
Dra. Jacqueline Escobar Muñoz
ASESOR

f. _____
M.A. Jaime Rolando Méndez Sosa
ASESOR

f. _____
M.V. Blanca Josefina Zelaya de Romillo
EVALUADOR

IMPRÍMASE

f. _____
M.Sc. Carlos Enrique Saavedra Vélez
DECANO